

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ И ПЕРСОНАЛИЗАЦИИ ТЕРАПИИ РАКА ЛЕГКОГО

ЛЯСНИКОВ К.А., ШЛЯХТУНОВ Е.А.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №2. – С. 7-18.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF MOLECULAR-GENETIC MARKERS IN THE DIAGNOSIS AND PERSONALIZATION OF LUNG CANCER THERAPY

LIASNIKAU K.A., SHLIAKHTUNOU Y.A.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2020;19(2):7-18.

Резюме.

В статье представлен обзор современной литературы по вопросам молекулярно-генетической диагностики рака легкого. Представлена характеристика мутаций в онкогенах семейств рецептора эпидермального фактора роста EGFR, сурвивина (BIRC5), KRAS (EML4-ALK), Herceptin 2 (HER2), P53, v-raf murine sarcoma (BRAF) и др. Определено их клиническое значение, прогностическая и предиктивная значимость при раке легкого. С помощью современных методов диагностики возможно определение экспрессии указанных генов как непосредственно в опухолевой ткани, полученной при биопсии, так и в циркулирующих опухолевых клетках периферической крови. Молекулярный подход к диагностике рака легких путем анализа биомаркеров, полученных неинвазивным способом, является перспективным и актуальным в целях индивидуализации лечебной (хирургической, нео- и адъювантной лекарственной) тактики в отношении пациентов, страдающих раком легкого.

Ключевые слова: рак, мутация, опухолевый маркер, генетическая диагностика.

Abstract.

The article presents a review of the modern literature concerning the molecular-genetic diagnosis of lung cancer. The characteristics of mutations in the family oncogenes, such as epidermal growth factor receptor EGFR, survivin (BIRC5), KRAS (EML4-ALK), Herceptin 2 (HER2), P53, v-raf murine sarcoma (BRAF), etc. are presented. Their clinical significance, prognostic and predictive value in lung cancer have been established. With the help of modern diagnostic methods, it is possible to determine the expression of the indicated genes both directly in the tumor tissue obtained by biopsy and in circulating tumor cells of the peripheral blood. The molecular approach to the diagnosis of lung cancer by analyzing biomarkers obtained with the help of a non-invasive way is promising and relevant in order to individualize the treatment (surgical, neo- and adjuvant drug) tactics for patients suffering from lung cancer.

Key words: cancer, mutation, tumor marker, genetic diagnosis.

Рак легких является основной причиной смертности, связанной с онкологическими заболеваниями как у мужчин, так и у женщин во всем мире. Тенденция увеличения смертности от рака легких объясняется, с одной стороны, широким

распространением курения среди населения и загрязнением атмосферы, а также действием других экзогенных и эндогенных факторов, с другой стороны, отсутствием надёжных маркеров для раннего выявления и лечения заболевания. Еже-

годно выявляется около 1,2 млн. новых случаев и регистрируется около 1 млн смертей от этого заболевания.

В структуре онкологической заболеваемости на рак легких приходится 12,8%. Показатели выживаемости даже в странах с высокими стандартами здравоохранения составляют не более 15%. В общей структуре смертности от злокачественных заболеваний в Беларуси рак легкого занимает наибольший по частоте удельный вес – 18,3% [1].

Низкая 5-летняя выживаемость объясняется, главным образом, тем, что рак легкого выявляется при значительном местном или метастатическом распространении. Достижения в области молекулярной биологии увеличили возможности выявления молекулярных маркеров рака легких, имеющих важное предиктивное и прогностическое значение.

Установлено, что к моменту, когда опухоль легкого становится клинически определяемой, происходят около 10-20 генетических событий, включая изменения в онкогенах и генах супрессорах [2]. Эти изменения, систематизированные и изученные с использованием современных передовых методов молекулярного анализа, могут быть использованы в качестве потенциальных прогностических и предиктивных маркеров. Кроме того, понимание молекулярных механизмов заболевания позволит применять стратегии молекулярно-направленного лечения. До сих пор, несмотря на многочисленные попытки ученых со всего мира, определить универсальный биомаркер для рака легких не удалось.

Жидкостная биопсия

Не вызывает сомнения тот факт, что обнаружение молекулярных биомаркеров в различных средах, полученных неинвазивным способом, может значительно улучшить результаты диагностики и лечения в нынешнюю эру персонализированной медицины.

В данном контексте перспективным направлением является так называемая жидкостная биопсия (liquid biopsy), которая представляет собой процесс обнаружения в образцах крови различных молекулярных маркеров, происходящих из опухоли. Информацию об опухоли можно получить из циркулирующей опухолевой ДНК (цодНК), циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК), экзосом, тромбоцитов и микроРНК. ЦОК

и цодНК являются наиболее широко изученными маркерами в жидких биоптатах больных раком, что позволяет считать их перспективными для определения статуса конкретного пациента [3]. Однако чувствительность жидкостных биопсий является серьезной проблемой, поскольку ДНК опухоли может представлять собой менее 1% ДНК, присутствующей в образце плазмы крови пациента [3].

В исследованиях продемонстрировано, что цодНК вскоре после радикальной операции практически полностью исчезает. Среднее время между обнаружением рецидивов и метастазов по достоверному количеству вновь появляющейся цодНК и визуализацией их на компьютерной томографии составляет около 70 дней [4].

Учитывая тот факт, что ЦОК являются основным субстратом отдаленных метастазов, определение их как одного из компонентов жидкостной биопсии позволит получить информацию о более полной гетерогенности опухоли, улучшить результаты лечения рака, обеспечить лучший контроль терапии, изменить тактику лечения в зависимости от данных молекулярного анализа. Высокий интерес к ЦОК может означать, что в будущем они будут играть большую роль в выявлении рака легких, принятии решения о лечении и последующем наблюдении, чем в настоящее время. Это может привести к созданию сверхчувствительного метода обнаружения и культивирования циркулирующих опухолевых клеток в крови или в клеточных блоках, который в дальнейшем может быть использован для иммуногистохимического анализа биомаркеров рака легких, таких как p40, TTF1, ALK, ROS1 и PD-L1.

Таким образом, развитие данного направления может привести к тому, что жидкостная биопсия может стать полноценной альтернативой гистологическому исследованию.

Молекулярные маркеры рака легкого

Молекулярный маркер рака может быть определен как молекулярная субстанция (ДНК, РНК или белок), которая может быть выделена из биологических материалов и способна отразить количественные изменения гомеостаза, специфичные для опухолевой клетки.

В настоящий момент идентифицировано большое количество клеточных мишеней, на которые направлено воздействие синтезированных противоопухолевых препаратов. Эти мише-

ни называются биомаркерами и используются в клинической практике для выбора оптимального таргетного препарата для конкретного пациента. Биомаркеры можно идентифицировать различными методами (ИГХ, ПЦР, FISH, секвенирование нового поколения (NGS) и др.) и оценить их роль в нормальных биологических и патологических процессах в клетке. Выявление и идентификация биомаркеров очень важны для предсказания эффективности последующей таргетной терапии, которая коррелирует с противоопухолевым ответом, временем до прогрессирования заболевания и общей выживаемостью.

А.В. Снеговой разделяет биомаркеры на 2 большие группы: 1) диагностические (прогностические) – позволяют предсказывать характер течения болезни, выживаемость, но никак не связаны с проводимым противоопухолевым лечением; 2) «клинические» (предиктивные), которые позволяют предсказывать клинический эффект, безрецидивный период, выживаемость, а также токсичность различных видов планируемого лекарственного лечения. Предиктивные маркеры напрямую связаны с молекулярной мишенью для таргетного препарата, каскадом внутриклеточных сигналов [5].

Определение этих маркеров является основной целью трансляционных исследований и составляет основу персонализированной медицины, поскольку эти маркеры говорят о том, насколько эффективным будет лечение у конкретного пациента.

Генетическая нестабильность занимает лидирующее место в канцерогенезе. Однако, кроме структурных изменений генов, могут происходить обратимые изменения в экспрессии генов, не связанные с изменением первичной последовательности ДНК. Эти так называемые эпигенетические изменения включают три основных механизма: метилирование ДНК, модификацию гистонов и аномальную экспрессию некодирующих РНК, включая микроРНК. Генетические и эпигенетические изменения взаимодействуют на всех стадиях развития рака, приводя, в конечном итоге, к прогрессированию заболевания [6].

Молекулярные изменения, которые происходят во время канцерогенеза легких или любого другого рака, приводят к дисрегуляции сигнальных путей, имеющих критическое значение для роста клеток и их гибели.

Все чаще при секвенировании генов опухолевых клеток человека выявляются мутации в

генах, кодирующих белки, регулирующие эпигенетический процесс.

Традиционно и до настоящего времени лечение рака легких проводилось на основе определения гистологического подтипа, в частности немелкоклеточного (НМРЛ) и мелкоклеточного рака легкого (МРЛ). В связи с быстрым развитием методов молекулярной биологии появилась возможность углубиться в молекулярную природу заболевания. Выявляются клинически значимые молекулярные подтипы, являющиеся следствием мутаций в генах, имеющих решающее значение для пролиферации и выживания клеток.

Исходя из вышеизложенного, НМРЛ может быть разделён на различные молекулярно-биологические подтипы. Данное деление основано на обнаружении у пациентов мутаций в онкогенах, таких как семейство рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), киназы анапластической лимфомы (EML4-ALK), эпидермального фактора роста (HER2), вирусного онкогена мышиной саркомы (BRAF), онкогена мышиной саркомы Kirsten (KRAS), мезенхимального эпителиального транскрипционного фактора (Met) и др. [7].

Расширение представлений о данных молекулярных подтипах будет способствовать дальнейшему развитию персонализированной медицины, которая фокусируется на предоставлении «правильного лекарства для правильного пациента в нужное время».

EGFR

Мутации тирозинкиназы рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) наблюдаются примерно в 15% аденокарцином НМРЛ в США и чаще встречаются у некурящих пациентов [8]. В азиатских популяциях частота мутаций EGFR существенно выше, составляя до 62% [9]. При распространенном НМРЛ обнаружение данной мутации ассоциируется с более благоприятным прогнозом заболевания и коррелирует с чувствительностью опухолевых клеток к ингибиторам тирозинкиназы EGFR (ИТК), таким как эрлотиниб, gefitinib и осимертиниб, что позволяет применять таргетную терапию перед традиционной химиотерапией [10]. Лечение данными препаратами назначается после обнаружения указанной мутации либо в биоптатах опухоли, либо посредством жидкостной биопсии [11].

Soria et al. [12] на основе имеющихся данных предлагают жидкостную биопсию для опре-

деления категории пациентов EGFR+ НМРЛ, опухоли которых прогрессировали при приёме эрлотиниба, гефитиниба или афатиниба, чтобы обнаружить мутацию T790M, отвечающую за резистентность к ИТК 1-го поколения. При положительном результате такие пациенты могут получать осимертиниб. Однако применение данного препарата в первой линии терапии может в значительной степени предотвратить развитие резистентности к ИТК 1-го поколения [12].

Yi-Long Wu et al. [13] в своём исследовании продемонстрировали частоту выявления мутаций EGFR в циркулирующей опухолевой ДНК – 28,6% (сыворотка) и 60,5% (плазма). Обнаружение мутаций в крови было связано с более поздней стадией заболевания, большим количеством регионарных и отдаленных метастазов и, в целом, с плохим прогнозом.

Циркулирующая опухолевая ДНК плазмы является перспективной альтернативой биопсии для тестирования опухоли на наличие в её клетках мутации в EGFR, особенно у той категории пациентов, состояние которых не позволяет выполнить биопсию опухоли [13].

KRAS

Гены RAS (KRAS, NRAS, и HRAS) кодируют семейство мембранных протеинов 21 KD GTP, которые регулируют рост клетки, дифференцировку и апоптоз путем взаимодействия с сигнальными путями MAPK, STAT, и PI3K. Активирующие мутации KRAS наблюдаются примерно в 20-25% случаев аденокарциномы легких и обычно ассоциируются с курением [14].

Многочисленные предыдущие попытки выявить специфические ингибиторы KRAS, которые клинически эффективны против KRAS+ рака легких, не увенчались успехом. Имеется связь курения и наличия мутаций KRAS, и частота определения их увеличивается вместе с увеличением стажа курения [15]. Несмотря на связь данной мутации с курением сигарет, отмечается, что она имеет место и у некурящих. KRAS-мутации являются прогностическим маркером для низкой общей выживаемости у пациентов с немелкоклеточным раком легкого [15].

P53

Белок P53 является продуктом гена TP53. Он участвует в регуляции основных функций

клетки, таких как движение клетки по клеточному циклу, гибель клетки, дифференцировка, репарация ДНК, а также образование кровеносных сосудов. За свои многочисленные важные функции он был назван «стражем генома».

P53 активирует ген P21 TS, препятствующий переходу от фазы G1 к фазе S клеточного цикла. Имеется множество сообщений о мутациях TP53 при раке легких. Примерно в 50% случаев на ранней стадии развития опухоли легких из-за точковых мутаций, которые вызывают изменения в ДНК-связывающем домене белка, происходит потеря функции гена TP53 [16]. Вследствие нарушения механизмов апоптоза, который контролируется белком P53, создаются условия для злокачественной трансформации клетки.

Генетическая нестабильность из-за нарушения P53-опосредованной репарации ДНК способствует возникновению генетических аномалий, ведущих к злокачественной прогрессии. Профили мутаций TP53 имеют отличия в зависимости от гистологического типа рака легких и стажа курения. Мутации TP53 у никогда не куривших пациентов отличаются от таковых у курильщиков [17].

Мутации TP53 были выявлены в 47,2% образцов опухолевых клеток, причем наиболее часто (65%) они встречались среди плоскоклеточных карцином. Среди тех пациентов, кто никогда не курил, 36% имели данную мутацию, что позволило идентифицировать мутацию TP53 как значимый независимый негативный прогностический фактор в этой подгруппе [17]. Cherneva et al. [18] сообщили о высокой распространенности гиперэкспрессии P53 в опухолевых тканях и пораженных регионарных лимфатических узлах пациентов с НМРЛ.

Сурвивин

Сурвивин впервые был идентифицирован в 1997 году как член семейства антиапоптотических белков (IAP), который содержит специфичный бакуловирусный IAP-повтор (BIR). Сурвивин экспрессируется в ядре и цитоплазме различных злокачественных опухолевых клеток, а также в фетальных и некоторых пролиферирующих тканях взрослого организма, хотя не определяется в дифференцированных клетках [19]. В цитоплазме сурвивин действует как ингибитор апоптоза, в то время как в ядре он регулирует пролиферацию клетки.

Различные виды клеток злокачественных опухолей экспрессируют сурвивин. Так как он играет двойную роль в качестве ингибитора апоптоза и митотического эффектора, экспрессия его в опухолевых клетках может защитить их от лекарственно-индуцированного апоптоза и стимулировать их пролиферацию. При многочисленных видах рака исследована связь между агрессивностью раковых клеток и экспрессией сурвивина [20]. Имеются сообщения, что при раке легких экспрессия сурвивина в ядре клетки является позитивным прогностическим фактором для пациентов с распространенным немелкоклеточным раком (III и IV стадии), и, в то же время, негативным прогностическим фактором для пациентов с немелкоклеточным раком на более ранних стадиях (I и II стадии) [20]. Hiroshi et al. [19] в своем исследовании продемонстрировали, что при аденокарциномах на стадии I у курильщиков экспрессия сурвивина в ядре клетки была достоверно выше, чем при аденокарциномах у некурящих.

Примечательно, что экспрессия ядерного сурвивина при аденокарциномах на II и III стадиях у некурящих и курильщиков была аналогична таковой при аденокарциномах I стадии у курильщиков. Полученные результаты свидетельствуют о том, что экспрессия сурвивина и пролиферативная активность повышаются при прогрессировании заболевания на ранних стадиях развития аденокарциномы [21].

Экспрессия сурвивина в клетках аденокарциномы курильщиков на I стадии была достоверно ниже, по сравнению с таковой, при плоскоклеточном раке, крупноклеточном нейроэндокринном раке и мелкоклеточном раке у курильщиков на той же стадии. Эти результаты позволили предположить, что экспрессия сурвивина может зависеть от гистологического типа рака легких, по крайней мере, на I стадии. Было продемонстрировано, что выживаемость курильщиков с I стадией при аденокарциноме была выше, чем у курильщиков с другими гистологическими типами рака легких. Также было продемонстрировано, что экспрессия цитоплазматического сурвивина мало влияет на прогрессирование или прогноз при раке легких.

Таким образом, результаты исследования Hiroshi et al. [21] свидетельствуют о том, что экспрессия сурвивина в ядре клетки при аденокарциноме I стадии ниже, чем при других гистологических типах рака легких на такой же стадии, что

позволяет рассматривать аденокарциному как более благоприятный гистологический тип опухоли в плане прогноза заболевания.

BRCA1

Гены семейства BRCA (BReast CAncer) BRCA1 и BRCA2 раньше определялись как гены предрасположенности к раку молочной железы и яичников, но недавно они вызвали научный интерес как прогностические маркеры для различных опухолей, в том числе немелкоклеточного рака легкого.

BRCA1 является многофункциональным белком-супрессором, который играет ключевую роль в важных клеточных процессах, таких как регуляция клеточного цикла, репликация, регуляция транскрипции и устранение повреждений ДНК. Также продукт гена BRCA1 модулирует клеточный ответ на цитотоксическую химиотерапию. Поскольку лекарственная резистентность является основным препятствием в успешном лечении НМРЛ, BRCA1 активно исследуется в качестве прогностического маркера у пациентов с данным заболеванием [22].

Низкая экспрессия генов BRCA1 является предиктором благоприятного исхода местнораспространенного НМРЛ у пациентов, получавших цисплатин/гемцитабин, с последующим хирургическим лечением. Сверхэкспрессия генов BRCA1 определяет худший прогноз у нелеченых пациентов и предрасполагает к резистентности к препаратам на основе цисплатина [23].

АКТ1

Киназа АКТ1 является ключевым ферментом сигнального пути PI3K/АКТ и вовлечена в регуляцию пролиферации, роста и выживания клеток. Исследованию функций этого фермента уделяется большое внимание из-за того, что он выступает в роли онкопротеина при многих злокачественных заболеваниях. Соматические мутации в гене АКТ1 были найдены в $\approx 1\%$ при всех НМРЛ в случаях аденокарциномы и плоскоклеточного рака. Активация данного фермента повышает резистентность опухолевых клеток к стандартным схемам химиотерапии и радиотерапии, тогда как ингибирование его индуцирует апоптоз и уменьшает рост клеток опухоли, опосредуемый АКТ1. При раке легких повышенная экспрессия данного гена не коррелирует со стадией опухоли.

левого процесса и степени дифференцировки опухоли. Имеются сообщения о повышенной экспрессии гена AKT1 при предопухолевых заболеваниях, таких как бронхиальная дисплазия. Предполагается, что его активация может быть ранним событием в прогрессии опухоли [24].

В настоящее время роль мутаций AKT1 для выбора противоопухолевого лечения не определена. Однако следует отметить, что мутации AKT1 обычно встречаются при опухолях с мутациями EGFR, ALK.

HER2

HER2 (Neu, ErbB-2, CD340) – мембранный белок, тирозиновая протеинкиназа семейства рецептора эпидермального фактора роста EGFR/ErbB, кодируемый геном человека ERBB2. Мутации HER2 были обнаружены в 3,6% случаев НМРЛ, причем они присутствовали только в аденокарциномах. Мутационный статус HER2 коррелировал с отсутствием курения в анамнезе, а также с меньшим размером опухоли. Амплификации HER2 были выявлены примерно в половине опухолей с мутациями HER2. Общая выживаемость достоверно не зависела от наличия либо отсутствия данной мутации. При анализе только инвазивных аденокарцином HER2 мутационный статус был независимым фактором неблагоприятного исхода [25].

BRAF

BRAF – серин/треонин киназа, которая работает в сигнальном пути Ras-Raf-MEK-MARK. При НМРЛ мутации BRAF встречаются в 1-3% опухолей, почти всегда при аденокарциномах. Данные мутации характерны для женщин и некурящих пациентов. Продемонстрировано, что мутации EGFR, KRAS, BRAF предсказывают клинический ответ на применение ингибиторов тирозинкиназ у пациентов с НМРЛ [26].

Kinno et al. в своем исследовании обнаружили мутацию BRAF в 26 (1,3%) из 2001 случая НМРЛ (25 аденокарцином и 1 плоскоклеточный рак). В 26 случаях было выявлено 13 мутационных генотипов, в том числе V600E (8 из 26; 30,8%), G469A (6 из 26; 23,1%), K601E (4 из 26; 15,4%) и другие мутации (1 из 26; 0,04%). Общая выживаемость достоверно не отличалась между пациентами с «диким» типом BRAF и пациентами с мутациями V600E. Во всех опухолях с мута-

цией V600E BRAF не было обнаружено других генетических изменений. Было установлено, что частота мутаций BRAF при раке легких была низкой в азиатской когорте пациентов [27].

Мутация BRAF является мощным предиктивным фактором и выделяется как прогностический маркер, который может идентифицировать определённые подтипы опухолей, чувствительных к таргетной терапии.

ALK

Ген ALK («дикий») в нормальных условиях кодирует соответствующий трансмембранный тирозинкиназный рецептор ALK, передающий внутрь клетки активирующий сигнал через ряд других ферментов, включая фосфатидилинозитол-3-киназу (PI3K) и Янус (Janus)-киназу (JAK) [28]. Уже в 1990 г. было показано, что ген ALK участвует в канцерогенезе. Свое название он получил от заболевания – анапластической лимфомы, при которой в клетках опухоли был впервые выявлен этот вариант генетического нарушения – соответственно киназа анапластической лимфомы [29]. В 2007 г. при исследовании культуры опухолевых клеток, полученных из аденокарциномы легкого японского мужчины (курильщика), была обнаружена онкогенная перестройка гена ALK, вовлекавшая ген EML4 [30].

Liang et al. [31] в своем метаанализе продемонстрировали, что перегруппировки ALK имеют тенденцию происходить у более молодых пациентов, никогда не куривших или имеющих малый стаж курения пациентов с аденокарциномой. Кроме того, были получены доказательства наличия взаимоисключающих условий между перегруппировками ALK и мутациями EGFR или KRAS [31].

На основании анализа 50 статей было продемонстрировано, что частота перестроек ALK варьировала соответственно от 0% до 30,65% у мужчин и от 2,63% до 37,04% у женщин, страдающих НМРЛ. В подгруппе анализа по расовой принадлежности наблюдалась более низкая частота данной мутации у мужчин азиатского происхождения [31].

ROS1

Онкоген ROS1 кодирует рецепторную тирозинкиназу, родственную киназе анапластиче-

ской лимфомы (ALK), а также ряду членов семейства инсулиновых рецепторов. ALK и ROS1 отвечают за синтез взаимосвязанных тирозинкиназ. Мутации в данном онкогене обнаруживают приблизительно у 1% пациентов с НМРЛ [32].

Как и в случае перестроек ALK, перестройки ROS1 чаще встречаются у пациентов с аденокарциномой, которые никогда не курили или имеют в анамнезе малый стаж курения. На генетическом уровне перестройки ALK и ROS1 редко происходят в одной и той же опухоли, поэтому каждая из них определяет уникальную молекулярную подгруппу НМРЛ [33].

Пациенты с ALK-реорганизованным НМРЛ и пациенты с ROS1-реорганизованным НМРЛ имеют сходные клинико-патологические особенности. Кроме того, подтипы ALK-перестроенного и ROS1-перестроенного НМРЛ высоко чувствительны к кризотинибу [33].

FGFR1

Ген FGFR1 кодирует рецептор фактора роста фибробластов, который входит в семейство рецепторных тирозинкиназ FGFR. Активация FGFR влияет на рост, выживание, миграцию клеток и ангиогенез. Ген FGFR1 амплифицирован в 3–11% случаев аденокарцином, в 20–24% случаев плоскоклеточного и 25% – крупноклеточного рака легких [34].

FGFR1 является фактором прогноза для пациентов с плоскоклеточным и крупноклеточным раком легкого: у пациентов с гиперэкспрессией FGFR1 отмечена тенденция к лучшей выживаемости и значительно уменьшен риск смерти [34].

Циклин-зависимые киназы

Регуляция клеточного цикла и переход в каждую фазу осуществляются путем периодической активности последовательно сменяющих друг друга циклин-зависимых киназ (CDK). Эти ферменты активируются в присутствии соответствующей субъединицы – белка циклина. Уровень циклинов меняется в ходе клеточного цикла, в основном за счет контроля транскрипции. Таким образом, в каждой стадии клеточного цикла активен определенный комплекс циклин-CDK. Комплекс циклин D – CDK4/6 фосфорилирует белки, необходимые для прохождения клеткой пресинтетического периода (G1) и перехода из фазы G1 в S фазу. Также эти белки обеспечивают

«возврат» клетки к клеточному циклу из G0 фазы [35].

Поскольку циклин D-CDK4/6 осуществляет ключевую роль в фосфорилировании, ингибирование именно этого белка признано одним из основных механизмов, останавливающих деление клетки, что способствует апоптозу клеток с нестабильным геномом [35].

Дисрегуляция пути циклина D-CDK4/6-INK4-Rb приводит к повышенной клеточной пролиферации и часто наблюдается при многих типах рака. Активация пути может происходить с помощью различных механизмов, включая амплификацию или перестройку генов, эпигенетические изменения и точковые мутации в ключевых компонентах пути.

Aibing Wu¹ et al. [36] в своем исследовании продемонстрировали, что уровень экспрессии белка CDK4 был достоверно повышен в клетках рака легкого, по сравнению с нормальными клетками. Кроме того, высокие уровни белка CDK4 положительно коррелировали с метастатическим поражением лимфатических узлов и клинической стадией заболевания. Пациенты с более высокой экспрессией CDK4 имели заметно более низкую общую выживаемость, чем пациенты с низкой экспрессией CDK4. Многомерный анализ показал, что уровень экспрессии CDK4 является независимым прогностическим показателем для выживания пациентов с раком легких [36].

Из-за важности активности CDK4/6 в раковых клетках, в качестве перспективных кандидатов для лечения рака появились ингибиторы CDK4/6. Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) одобрено три низкомолекулярных ингибитора CDK4/6 – рибоциклиб, палбоциклиб и абемациклиб. Добавление ингибиторов CDK4/6 к различным уже разработанным методам лечения является перспективным направлением для улучшения ответов на лечение и может помочь преодолеть резистентность к лечению [37].

МикроРНК

МикроРНК (miRNA) – это короткие (20-24 нуклеотида) некодирующие РНК, которые участвуют в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов в многоклеточных организмах. МикроРНК кодируются ядерной ДНК.

В настоящее время большое количество

исследований показали, что уровни экспрессии определенных miRNA связаны с метастазированием и инвазией злокачественных опухолей, в том числе и рака легких. Уровни экспрессии некоторых miRNA увеличиваются при развитии опухоли, таким образом, miRNA играет роль, аналогичную онкогенам. Тем не менее, образование некоторых miRNA подавляется при развитии опухоли. Следовательно, miRNA играет важную роль в возникновении, развитии и прогрессировании опухолей [38].

В последние годы микроРНК рассматриваются в качестве класса молекулярных мишеней, которые потенциально могут быть использованы для диагностики, прогноза, а также терапии рака легких [39].

Профилирование экспрессии микроРНК уже внедрено в онкологические клиники в качестве диагностических и прогностических биомаркеров для оценки инициации опухоли, прогрессирования и ответа на лечение у онкологических пациентов [40].

Было получено несколько сообщений, указывающих на то, что более половины генов микроРНК расположено в ассоциированных с раком геномных областях.

Zhang et al. [41] в своем исследовании продемонстрировали, что уровень экспрессии miRNA-520b был значительно снижен в ткани опухоли, по сравнению с соседними интактными тканями, отрицательно коррелировал с метастазированием в лимфатические узлы и стадией по классификации TNM. Также наблюдалось снижение экспрессии miRNA-520b в группах с низко- и умеренно-дифференцированным раком легкого. Таким образом, эти результаты демонстрируют, что экспрессия miRNA-520b снижена в ткани HMPJ, что может быть тесно связано с инвазией опухоли и метастазированием. Также было продемонстрировано, что miRNA-520b ингибировала распространение опухолевых клеток *in vitro* и что дефицит этой miRNA может быть одной из причин рецидива и метастазирования. Отмечалась способность данной микроРНК блокировать инвазивные и метастатические способности клеток HMPJ. Было высказано предположение, что miRNA-520b может ингибировать эпителиально-мезенхимальный переход [41].

Hayashita et al. было отмечено, что miRNA-17-92 чрезмерно экспрессируется при раке легких и усиливает пролиферацию клеток и развитие опухоли [42]. Xi et al. отмечено, что

сигаретный дым подавлял экспрессию miRNA-487b в культивируемых эпителиальных клетках дыхательных путей и опухолевых клетках при раке легких [43].

Метилирование ДНК

Данные многочисленных исследований показывают, что для HMPJ характерно метилирование промоторов большого числа генов, таких как p16, RASSF1A, APC, RARb-2, CDH1, CDH13, DAPK, MGMT, ASC/TMS1, FHIT, hSRBC, TSLC1, DAL-1, PTEN. Эти гены отвечают за регуляцию клеточного цикла опухолевой клетки, пролиферацию, апоптоз, клеточную адгезию, подвижность опухолевой клетки и репарацию ДНК. Наряду с генетическими механизмами, аномальное метилирование ДНК приводит к возникновению и прогрессированию рака легкого [44].

Было продемонстрировано, что различные экзогенные и эндогенные факторы, такие как старение, хроническое воспаление и курение сигарет, приводят к гиперметилированию ДНК при раке легкого [45]. Метилированная циркулирующая опухолевая ДНК в настоящее время рассматривается как перспективный биомаркер рака легких, который может быть использован для определения риска рецидива рака после проведенного специального лечения. Благодаря своему короткому периоду полураспада, метилированная цДНК может более точно отражать опухолевую нагрузку и позволяет в режиме реального времени контролировать динамику опухолевого процесса [46].

Персистенция цДНК в крови после операции ассоциирована с плохим прогнозом. Таким образом, мониторинг метилирования цДНК после операции может играть важную роль при выявлении раннего рецидива [47].

Заключение

Несмотря на активные поиски новых универсальных диагностических или прогностических маркеров рака легкого в последние годы, данная проблема до сих пор не решена. Однако исследование молекулярной биологии HMPJ открывает пути к пониманию генетических нарушений и даёт возможность применять полученную информацию в клинической практике. Изучение молекулярно-генетических нарушений позволит разработать новые таргетные препараты, что

будет способствовать дальнейшему развитию индивидуализации терапии каждого пациента. Основой для принятия решений о лечебной тактике будет являться молекулярная диагностика. Жидкостная биопсия может стать полноценной альтернативой гистологическому исследованию, способствуя ранней диагностике и мониторингу заболевания, а также улучшению результатов лечения.

Литература

1. Матусевич, В. А. Предсказательная ценность молекулярно-биологических маркеров при НМРЛ 1-2 стадии / В. А. Матусевич // Онкол. журн. – 2014. – Т. 8, № 3. – С. 46–53.
2. Novel regions of allelic deletion on chromosome 18p in tumors of the lung, brain and breast / Y. Tran [et al.] // *Oncogene*. – 1998 Dec. – Vol. 17, N 26. – P. 3499–3505.
3. Diaz, L. A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA / L. A. Diaz, A. Bardelli // *J. Clin. Oncol.* – 2014 Feb. – Vol. 32, N 6. – P. 579–586. doi: 10.1200/JCO.2012.45.2011
4. Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution / C. Abbosh [et al.] // *Nature*. – 2017 Apr. – Vol. 545, N 7655. – P. 446–451.
5. Снеговой, А. В. Значение биомаркеров для определения тактики лечения и прогноза злокачественных опухолей / А. В. Снеговой, Л. В. Манзюк // *Практ. онкология*. – 2011. – Т. 12, № 4. – С. 166–170.
6. Targeting the epigenome in lung cancer: expanding approaches to epigenetic therapy / M. Jakopovic [et al.] // *Front. Oncol.* – 2013 Oct. – Vol. 3. – P. 261.
7. Pao, W. Rational, biologically based treatment of EGFR-mutant non-small-cell lung cancer / W. Pao, J. Chmielecki // *Nat. Rev. Cancer*. – 2010 Nov. – Vol. 10, N 11. – P. 760–774.
8. Prospective Analysis of Oncogenic Driver Mutations and Environmental Factors: Japan Molecular Epidemiology for Lung Cancer Study / T. Kawaguchi [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2016 Jul. – Vol 34, N 19. – P. 2247–2257.
9. A prospective, molecular epidemiology study of EGFR mutations in Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology (PIONEER) / Y. Shi [et al.] // *J. Thorac. Oncol.* – 2014 Feb. – Vol. 9, N 2. – P. 154–162.
10. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib / T. J. Lynch [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2004 May. – Vol. 350, N 21. – P. 2129–2139.
11. Circulating Tumor DNA Analysis in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists Joint Review / J. D. Merker [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2018 Jun. – Vol. 36, N 16. – P. 1631–1641.
12. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer / J. C. Soria [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2018 Jan. – Vol. 378, N 2. – P. 113–125.
13. EGFR mutation detection in circulating cell-free DNA of lung adenocarcinoma patients: analysis of LUX-Lung 3 and 6 / Y. L. Wu [et al.] // *Br. J. Cancer*. – 2017 Jan. – Vol. 116, N 2. – P. 175–185.
14. Bacus, S. KRAS mutation and amplification status predicts sensitivity to antifolate therapies in non-small cell lung cancer / S. Bacus // *Mol. Cancer Ther.* – 2011 Nov. – Vol. 10, N 2, suppl.
15. Prognostic implication of EGFR, KRAS, and TP53 gene mutations in a large cohort of Japanese patients with surgically treated lung adenocarcinoma / T. Kosaka [et al.] // *J. Thorac. Oncol.* – 2009 Jan. – Vol. 41, N 1. – P. 22–29.
16. Molecular and genetic aspects of lung cancer / W. N. Rom [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2000 Apr. – Vol. 161, N 4, pt. 1. – P. 1355–1367.
17. TP53 Mutation Spectrum in Smokers and Never Smoking Lung Cancer Patients / A. Halvorsen [et al.] // *Front Genet.* – 2016 May. – Vol. 7. – P. 85.
18. Expression levels of p53 messenger RNA detected by real time PCR in tumor tissue, lymph nodes and peripheral blood of patients with non-small cell lung cancer-new perspectives for clinicopathological application / R. V. Cherneva [et al.] // *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* – 2009. – Vol. 23, N 2. – P. 1247–1249.
19. Salvesen, G. S. IAP proteins: Blocking the road to death's door / G. S. Salvesen, C. S. Duckett // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2002 Jun. – Vol. 3, N 6. – P. 401–410.
20. Nuclear survivin expression is associated with a poor prognosis in Caucasian non-small cell lung cancer patients / Y. L. Xie [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2012 Dec. – Vol. 414. – P. 41–43.
21. Survivin expression in lung cancer: Association with smoking, histological types and pathological stages / H. Hiroshi [et al.] // *Oncol. Lett.* – 2015 Sep. – Vol. 10, N 3. – P. 1456–1462.
22. Gachechiladze, M. The role of BRCA1 in non-small cell lung cancer / M. Gachechiladze, J. Skarda // *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky. Olomouc. Czech. Repub.* – 2012 Sep. – Vol. 156, N 3. – P. 200–203.
23. Association of polymorphisms in AKT1 and EGFR with clinical outcome and toxicity in non-small cell lung cancer patients treated with gefitinib / E. Giovannetti [et al.] // *Mol. Cancer Ther.* – 2010. – Vol. 9, N 3. – P. 581–593.
24. Increased phospho-AKT (Ser(473)) expression in bronchial dysplasia: implications for lung cancer prevention studies / A. S. Tsao [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2003 Jul. – Vol. 12, N 7. – P. 660–664.
25. HER2 gene mutations in non-small cell lung carcinomas: concurrence with Her2 gene amplification and Her2 protein expression and phosphorylation / M. Suzuki [et al.] // *Lung Cancer*. – 2015 Jan. – Vol. 87, N 1. – P. 14–22.
26. Coexistence of EGFR with KRAS, or BRAF or PIK3CA somatic mutations in lung cancer: a comprehensive mutation profiling from 5125 Chinese cohorts / S. Li [et al.] // *Br. J. Cancer*. – 2014 May. – Vol. 110, N 11. – P. 2812–2820.
27. Clinicopathological features of non-small cell lung carcinomas with BRAF mutations / T. Kinno [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2014 Jan. – Vol. 25, N 1. – P. 138–142.
28. Anaplastic lymphoma kinase: role in cancer pathogenesis and small-molecule inhibitor development for therapy / T. R. Webb [et al.] // *Expert Rev. Anticancer Ther.* – 2009 Mar. – Vol. 9, N 3. – P. 331–356.
29. The t(2;5) (p23;q35): a recurring chromosomal abnormality in Ki-1-positive anaplastic large cell lymphoma / M. M. Le Beau [et al.] // *Leukemia*. – 1989 Dec. – Vol. 3, N 12. – P. 866–870.

30. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer / M. Soda [et al.] // *Nature*. – 2007 Aug. – Vol. 448, N 7153. – P. 561–566.
31. Clinicopathological and Demographical Characteristics of Non-Small Cell Lung Cancer Patients with ALK Rearrangements: A Systematic Review and Meta-Analysis / L. Fan [et al.] // *PLoS One*. – 2014 Jun. – Vol. 9, N 6. – e100866.
32. Gainor, J. F. Novel targets in non-small cell lung cancer: ROS1 and RET fusions / J. F. Gainor, A. T. Shaw // *Oncologist*. – 2013. – Vol. 18, N 7. – P. 865–875.
33. Activity and safety of crizotinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer: updated results from a phase 1 study / D. R. Camidge [et al.] // *Lancet Oncol*. – 2012 Oct. – Vol. 13, N 10. – P. 1011–1019.
34. Мазуренко, Н. Н. Молекулярно-генетические маркеры немелкоклеточного рака легкого / Н. Н. Мазуренко, Н. Е. Кушлинский // *Молекуляр. медицина*. – 2014. – № 4. – С. 4–13.
35. Кононенко, И. Б. Ингибиторы циклин-зависимых киназ: эффективность и безопасность / И. Б. Кононенко, А. В. Снеговой, В. Ю. Сельчук // *Мед. совет*. – 2019. – № 10. – С. 42–55.
36. Elevated expression of CDK4 in lung cancer / A. Wu [et al.] // *J. Transl. Med*. – 2019 Apr. – Vol. 9. – P. 38.
37. Hamilton, E. Targeting CDK4/6 in patients with cancer / E. Hamilton, J. R. Infante // *Cancer Treat. Rev*. – 2016 Apr. – Vol. 45. – P. 129–138.
38. Two lung development-related microRNAs, miR-134 and miR187, are differentially expressed in lung tumors / A. F. Mirzadeh [et al.] // *Gene*. – 2016 Feb. – Vol. 577, N 2. – P. 221–226.
39. miRNA Targeted Therapy in Lung Cancer / A. Ahmad [et al.] // *MicroRNA Targeted Cancer Therapy* / eds. F. Sarkar. – Switzerland : Springer, 2014.
40. Reddy, K. B. MicroRNA (miRNA) in cancer / K. B. Reddy // *Cancer Cell. Int*. – 2015 Apr. – Vol. 15. – P. 38.
41. Zhang, L. Role of miR-520b in non-small cell lung cancer / L. Zhang, S. Yu // *Exp. Ther. Med*. – 2018 Nov. – Vol. 16, N 5. – P. 3987–3995.
42. A polycistronic microRNA cluster, miR-17-92, is overexpressed in human lung cancers and enhances cell proliferation / Y. Hayashita [et al.] // *Cancer Res*. – 2005 Nov. – Vol. 65, N 21. – P. 9628–9632. doi:10.1158/0008-5472.
43. Cigarette smoke mediates epigenetic repression of miR-487b during pulmonary carcinogenesis / S. Xi [et al.] // *J. Clin. Invest*. – 2013 Mar. – Vol. 123, N 3. – P. 1241–1261.
44. Молекулярно-генетические изменения немелкоклеточного рака легкого / А. А. Шикеева [и др.] // *Онкология*. – 2013. – № 5. – С. 56–61.
45. Omics for Prediction of Environmental Health Effects: Blood Leukocyte-based Cross-omic Profiling Reliably Predicts Diseases Associated with Tobacco Smoking / P. Georgiadis [et al.] // *Sci. Rep*. – 2016 Feb. – Vol. 6. – 20544.
46. Methylated DNA/RNA in Body Fluids as Biomarkers for Lung Cancer / Y. Lu [et al.] // *Biol. Proced. Online*. – 2017 Mar. – Vol. 19. – P. 2.
47. Breast Cancer Metastasis Suppressor-1 Promoter Methylation in Cell-free DNA Provides Prognostic Information in Nonsmall Cell Lung Cancer / I. Balgouranidou [et al.] // *Br. J. Cancer*. – 2014 Apr. – Vol. 110, N 8. – P. 2054–2062.

Поступила 04.12.2019 г.

Принята в печать 25.03.2020 г.

References

1. Matusevich VA. Predictive value of molecular biological markers in NSCLC stage 1-2. *Onkol Zhurn*. 2014;8(3):46-53. (In Russ.)
2. Tran Y, Benbatoul K, Gorse K, Rempel S, Futreal A, Green M, et al. Novel regions of allelic deletion on chromosome 18p in tumors of the lung, brain and breast. *Oncogene*. 1998 Dec;17(26):3499-505. doi: 10.1038/sj.onc.1202258
3. Diaz LA, Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *J Clin Oncol*. 2014 Feb;32(6):579-86. doi: 10.1200/JCO.2012.45.2011
4. Abbosh C, Birkbak NJ, Wilson GA, Jamal-Hanjani M, Constantin T, Salari R, et al. Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution. *Nature*. 2017 Apr;545(7655):446-451. doi: 10.1038/nature22364
5. Snegovoy AV, Manzyuk LV. The importance of biomarkers for determining treatment tactics and prognosis of malignant tumors. *Prakt Onkologii*. 2011;12(4):166-70. (In Russ.)
6. Jakopovic M, Thomas A, Balasubramaniam S, Schrupp D, Giaccone G, Bates SE. Targeting the epigenome in lung cancer: expanding approaches to epigenetic therapy. *Front Oncol*. 2013 Oct;3:261. doi: 10.3389/fonc.2013.00261
7. Pao W, Chmielecki J. Rational, biologically based treatment of EGFR-mutant non-small-cell lung cancer. *Nat Rev Cancer*. 2010 Nov;10(11):760-74. doi: 10.1038/nrc2947
8. Kawaguchi T, Koh Y, Ando M, Ito N, Takeo S, Adachi H, et al. Prospective Analysis of Oncogenic Driver Mutations and Environmental Factors: Japan Molecular Epidemiology for Lung Cancer Study. *J Clin Oncol*. 2016 Jul;34(19):2247-57. doi: 10.1200/JCO.2015.64.2322
9. Shi Y, Au JS, Thongprasert S, Srinivasan S, Tsai CM, Khoa MT, et al. A prospective, molecular epidemiology study of EGFR mutations in Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology (PIONEER). *J Thorac Oncol*. 2014 Feb;9(2):154-62. doi: 10.1097/JTO.0000000000000033
10. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*. 2004 May;350(21):2129-39. doi: 10.1056/NEJMoa040938
11. Merker JD, Oxnard GR, Compton C, Diehn M, Hurley P, Lazar AJ, et al. Circulating Tumor DNA Analysis in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists Joint Review. *J Clin Oncol*. 2018 Jun;36(16):1631-1641. doi: 10.1200/JCO.2017.76.8671
12. Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, Reungwetwattana T,

- Chewaskulyong B, Lee KH, et al. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018 Jan;378(2):113-125. doi: 10.1056/NEJMoa1713137
13. Wu YL, Sequist LV, Hu CP, Feng J, Lu S, Huang Y, et al. EGFR mutation detection in circulating cell-free DNA of lung adenocarcinoma patients: analysis of LUX-Lung 3 and 6. *Br J Cancer*. 2017 Jan;116(2):175-185. doi: 10.1038/bjc.2016.420
14. Bacus S. KRAS mutation and amplification status predicts sensitivity to antifolate therapies in non-small cell lung cancer. *Mol Cancer Ther*. 2011 Nov;10(2 suppl). doi: 10.1158/1535-7163.TARG-11-PR-2
15. Kosaka T, Yatabe Y, Onozato R, Kuwano H, Mitsudomi T. Prognostic implication of EGFR, KRAS, and TP53 gene mutations in a large cohort of Japanese patients with surgically treated lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2009 Jan;4(1):22-9. doi: 10.1097/JTO.0b013e3181914111
16. Rom WN, Hay JG, Lee TC, Jiang Y, Tchou-Wong KM. Molecular and genetic aspects of lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Apr;161(4 Pt 1):1355-67. doi: 10.1164/ajrccm.161.4.9908012
17. Halvorsen AR, Silwal-Pandit L, Meza-Zepeda LA, Vodak D, Vu P, Sagerup C, et al. TP53 Mutation Spectrum in Smokers and Never Smoking Lung Cancer Patients. *Front Genet*. 2016 May;7:85. doi: 10.3389/fgene.2016.00085
18. Cherneva RV, Georgiev OB, Petrov DB, Dimova II, Toncheva D. Expression levels of p53 messenger RNA detected by real time PCR in tumor tissue, lymph nodes and peripheral blood of patients with non-small cell lung cancer-new perspectives for clinicopathological application. *Biotechnol Biotechnol Equip*. 2009;23(2):1247-9.
19. Salvesen GS, Duckett CS. IAP proteins: Blocking the road to death's door. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002 Jun;3(6):401-10. doi: 10.1038/nrm830
20. Xie YL, An L, Jiang H, Wang J. Nuclear survivin expression is associated with a poor prognosis in Caucasian non-small cell lung cancer patients. *Clin Chim Acta*. 2012 Dec;414:41-3. doi: 10.1016/j.cca.2012.08.012
21. Hirano H, Maeda H, Yamaguchi T, Yokota S, Mori M, Sakoda S. Survivin expression in lung cancer: Association with smoking, histological types and pathological stages. *Oncol Lett*. 2015 Sep;10(3):1456-1462. doi: 10.3892/ol.2015.3374
22. Gachechiladze M, Skarda J. The role of BRCA1 in non-small cell lung cancer. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2012 Sep;156(3):200-3. doi: 10.5507/bp.2012.049
23. Giovannetti E, Zucali PA, Peters GJ, Cortesi F, D'Incecco A, Smit EF, et al. Association of polymorphisms in AKT1 and EGFR with clinical outcome and toxicity in non-small cell lung cancer patients treated with gefitinib. *Mol Cancer Ther*. 2010 Mar;9(3):581-93. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0665
24. Tsao AS, McDonnell T, Lam S, Putnam JB, Bekele N, Hong WK, et al. Increased phospho-AKT (Ser473) expression in bronchial dysplasia: implications for lung cancer prevention studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2003 Jul;12(7):660-4.
25. Suzuki M, Shiraishi K, Yoshida A, Shimada Y, Suzuki K, Asamura H, et al. HER2 gene mutations in non-small cell lung carcinomas: concurrence with Her2 gene amplification and Her2 protein expression and phosphorylation. *Lung Cancer*. 2015 Jan;87(1):14-22. doi: 10.1016/j.lungcan.2014.10.014
26. Li S, Li L, Zhu Y, Huang C, Qin Y, Liu H, et al. Coexistence of EGFR with KRAS, or BRAF or PIK3CA somatic mutations in lung cancer: a comprehensive mutation profiling from 5125 Chinese cohorts. *Br J Cancer*. 2014 May;110(11):2812-20. doi: 10.1038/bjc.2014.210
27. Kinno T, Tsuta K, Shiraishi K, Mizukami T, Suzuki M, Yoshida A, et al. Clinicopathological features of non-small cell lung carcinomas with BRAF mutations. *Ann Oncol*. 2014 Jan;25(1):138-42. doi: 10.1093/annonc/mdt495
28. Webb TR, Slavish J, George RE, Look AT, Xue L, Jiang Q, et al. Anaplastic lymphoma kinase: role in cancer pathogenesis and small-molecule inhibitor development for therapy. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2009 Mar;9(3):331-56. doi: 10.1586/14737140.9.3.331
29. Le Beau MM, Bitter MA, Larson RA, Doane LA, Ellis ED, Franklin WA, et al. The t(2;5) (p23;q35): a recurring chromosomal abnormality in Ki-1-positive anaplastic large cell lymphoma. *Leukemia*. 1989 Dec;3(12):866-70.
30. Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*. 2007 Aug;448(7153):561-6. doi: 10.1038/nature05945
31. Fan L, Feng Y, Wan H, Shi G, Niu W. Clinicopathological and Demographical Characteristics of Non-Small Cell Lung Cancer Patients with ALK Rearrangements: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2014 Jun;9(6):e100866. doi: 10.1371/journal.pone.0100866
32. Gainor JF, Shaw AT. Novel targets in non-small cell lung cancer: ROS1 and RET fusions. *Oncologist*. 2013;18(7):865-75. doi: 10.1634/theoncologist.2013-0095
33. Camidge DR, Bang YJ, Kwak EL, Iafrate AJ, Varella-Garcia M, Fox SB, et al. Activity and safety of crizotinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer: updated results from a phase 1 study. *Lancet Oncol*. 2012 Oct;13(10):1011-9. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70344-3
34. Mazurenko NN, Kushlinskiy NE. Molecular genetic markers of non-small cell lung cancer. *Molekuliarnaya Meditsina*. 2014;(4):4-13. (In Russ.)
35. Kononenko IB, Snegovoy AV, Sel'chuk VYu. Cyclin-dependent kinase inhibitors: efficacy and safety. *Med Sovet*. 2019;(10):42-55. (In Russ.)
36. Wu A, Wu B, Guo J, Luo W, Wu D, Yang H, et al. Elevated expression of CDK4 in lung cancer. *J Transl Med*. 2011 Apr;9:38. doi: 10.1186/1479-5876-9-38
37. Hamilton E, Infante JR. Targeting CDK4/6 in patients with cancer. *Cancer Treat Rev*. 2016 Apr;45:129-38. doi: 10.1016/j.ctrv.2016.03.002
38. Mirzadeh Azad F, Naeli P, Malakootian M, Baradaran A, Tavallaei M, Ghanei M, et al. Two lung development-related microRNAs, miR-134 and miR187, are differentially expressed in lung tumors. *Gene*. 2016 Feb;577(2):221-6. doi: 10.1016/j.gene.2015.11.040
39. Ahmad A, Ginnebaugh KR, Li Y, Bao B, Gadgil SM, Sarkar FH. miRNA Targeted Therapy in Lung Cancer. In: Sarkar F, eds. *MicroRNA Targeted Cancer Therapy*. Switzerland: Springer; 2014.
40. Reddy KB. MicroRNA (miRNA) in cancer. *Cancer Cell Int*. 2015 Apr;15:38. doi: 10.1186/s12935-015-0185-1
41. Zhang L, Yu S. Role of miR-520b in non-small cell lung

- cancer. *Exp Ther Med*. 2018 Nov;16(5):3987-3995. doi: 10.3892/etm.2018.6732
42. Hayashita Y, Osada H, Tatematsu Y, Yamada H, Yanagisawa K, Tomida S, et al. A polycistronic microRNA cluster, miR-17-92, is overexpressed in human lung cancers and enhances cell proliferation. *Cancer Res*. 2005 Nov;65(21):9628-32. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-2352
 43. Xi S, Xu H, Shan J, Tao Y, Hong JA, Inchauste S, et al. Cigarette smoke mediates epigenetic repression of miR-487b during pulmonary carcinogenesis. *J Clin Invest*. 2013 Mar;123(3):1241-61. doi: 10.1172/JCI61271
 44. Shikeeva AA, Kekeeva TV, Zavalishina LE, Andreeva YuYu, Frank GA. Molecular genetic changes in non-small cell lung cancer. *Onkologiya*. 2013;(5):56-61. (In Russ.)
 45. Georgiadis P, Hebels DG, Valavanis I, Liampa I, Bergdahl IA, Johansson A, et al. Omics for Prediction of Environmental Health Effects: Blood Leukocyte-based Cross-omic Profiling Reliably Predicts Diseases Associated with Tobacco Smoking. *Sci Rep*. 2016 Feb;6:20544. doi: 10.1038/srep20544
 46. Lu Y, Li S, Zhu S, Gong Y, Shi J, Xu L. Methylated DNA/RNA in Body Fluids as Biomarkers for Lung Cancer. *Biol Proced Online*. 2017 Mar;19:2. doi: 10.1186/s12575-017-0051-8
 47. Balgkouranidou I, Chimonidou M, Milaki G, Tsarouxa EG, Kakolyris S, Welch DR, et al. Breast Cancer Metastasis Suppressor-1 Promoter Methylation in Cell-free DNA Provides Prognostic Information in Nonsmall Cell Lung Cancer. *Br J Cancer*. 2014 Apr;110(8):2054-62. doi: 10.1038/bjc.2014.104

Submitted 04.12.2019

Accepted 25.03.2020

Сведения об авторах:

Лясников К.А. – аспирант кафедры онкологии с курсами лучевой диагностики и лучевой терапии, ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5649-4044>;

Шляхтунов Е.А. – к.м.н., доцент кафедры онкологии с курсами лучевой диагностики и лучевой терапии, ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5906-5373>.

Information about authors:

Liasnikau K.A. – postgraduate of the Chair of Oncology with the courses of Radiodiagnosis & Radiotherapy and the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5649-4044>;

Shliakhtunou Y.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Oncology with the courses of Radiodiagnosis & Radiotherapy and the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5906-5373>.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра онкологии с курсами лучевой диагностики и лучевой терапии, ФПК и ПК. E-mail: Hitman7506@yandex.ru – Лясников Константин Александрович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Oncology with the courses of Radiodiagnosis & Radiotherapy and the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining. E-mail: Hitman7506@yandex.ru – Kanstantsin A. Liasnikau.