



© А.И. Муртазин¹, Е.В. Преображенская^{1,2}, А.Г. Иевлева^{1,2}, Н.П. Митин³,
 С.Н. Алексахина¹, А.Д. Шестакова¹, А.О. Иванцов¹, А.Р. Венина¹, П.И. Кайдун¹,
 Д.В. Михеев¹, С.М. Ергян¹, Р.И. Юрин¹, Н.Е. Левченко¹, Н.В. Хандогин¹, О.Ю. Мамонтов¹,
 О.О. Лопушанская¹, Е.В. Левченко¹, Е.Н. Имянитов^{1,2}

Чувствительность тканевых эксплантов *KRAS*-мутированных карцином легкого к комбинированному воздействию ингибиторов киназы MEK (траметиниб) и аутофагии (гидрохлорохин)

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический) имени Н.П. Напалкова», Санкт-Петербург, Российская Федерация

© Azat I. Murtazin¹, Elena V. Preobrazhenskaya^{1,2}, Aglaya G. Iyevleva^{1,2}, Nikolay P. Mitin³,
 Svetlana N. Aleksakhina¹, Anna D. Shestakova¹, Alexandr O. Ivantsov¹, Aigul R. Venina¹,
 Polina I. Kaidun¹, Dmitriy V. Mikheev¹, Stepan M. Ergnian¹, Roman I. Yurin¹, Nikita E. Levchenko¹,
 Nikolay V. Khandogin¹, Oleg Yu. Mamontov¹, Olga O. Lopushanskaya¹, Evgeny V. Levchenko¹,
 Evgeny N. Imyanotov^{1,2}

Sensitivity of *KRAS*-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer to a Combination of MEK Kinase Inhibitor (Trametinib) and Autophagy Inhibitor (Hydroxychloroquine) in a Tissue Explant Model

¹N.N. Petrov National Medical Research Centre of Oncology, St. Petersburg, the Russian Federation

²Saint Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, the Russian Federation

³N.P. Napalkov St. Petersburg Clinical Scientific and Practical Center for Specialized Medical Care (Oncology), St. Petersburg, the Russian Federation

Введение. Мутации в гене *KRAS* выявляются примерно в 15–30 % случаев аденокарцином легкого, однако до сих пор разработать таргетное лечение этой крупной категории рака легкого не удалось (за исключением новообразований с мутацией p.G12C). Перспективным направлением терапии данной категории опухолей предполагается ингибирование киназы MEK, ключевого участника сигнального каскада, индуцируемого белками семейства RAS. Тем не менее, применение ингибиторов MEK в монорежиме не приводит к терапевтическому эффекту, так как клетки адаптируются к данному воздействию посредством запуска механизма аутофагии.

Цель. Исследовать эффективность комбинации ингибитора MEK траметиниба и ингибитора аутофагии гидрохлорохина для терапии немелкоклеточного рака легкого с мутациями в гене *KRAS* с использованием модели тканевых эксплантов.

Материалы и методы. В исследование был включен материал 38 первичных хемонаивных карцином легкого. Полученные из операционного материала тканевые экспланты опухолей инкубировались на протяжении 48 ч в питательной среде с добавлением траметиниба и/или гидрохлорохина в различных концентрациях. Эффективность

Introduction. *KRAS* mutations are identified in approximately 15–30 % of lung adenocarcinomas. However, developing effective targeted therapies for this major subset of lung cancer has remained challenging, with the exception of tumors with the *KRAS* p.G12C mutation. Inhibition of MEK kinase, a key component of the RAS-driven signaling cascade, represents a promising therapeutic strategy for these tumors. Nevertheless, MEK inhibitor monotherapy has shown limited efficacy, as cancer cells adapt to this intervention by activating autophagy.

Aim. To investigate the efficacy of combining the MEK inhibitor trametinib with the autophagy inhibitor hydroxychloroquine for treating non-small cell lung cancer (NSCLC) harboring *KRAS* mutations, using a patient-derived explant culture model.

Materials and Methods. The study utilized tissue samples from 38 chemo-naive, surgically resected lung carcinomas. Tumor explants generated from this material were incubated for 48 hours in a culture medium supplemented with trametinib and/or hydroxychloroquine at various concentrations. Treatment efficacy was assessed via immunohistochemical (IHC)

лекарственного воздействия оценивалась посредством иммуногистохимического анализа уровня фосфорилирования ERK (отражает активность MEK-киназы) и каспазы-3 (маркер апоптоза). По результатам морфологической оценки жизнеспособности и качества опухолевых эксплантов, в итоговый анализ чувствительности к препаратам был включен 21 образец, шесть из которых имели мутации в гене *KRAS*.

Результаты. Снижение уровня p-ERK наблюдалось во всей выборке при воздействии комбинации траметиниба и гидроксихлорохина в концентрациях 20 и 25 мкМ соответственно ($p = 0,005$). Эффект был в большей степени выражен в эксплантах с мутациями *KRAS* ($p = 0,006$), чем в опухолях без мутаций или с другими генетическими драйверными событиями. Значимые изменения экспрессии маркера апоптоза c-Casp3 не были обнаружены.

Выводы. Комбинированное воздействие траметиниба и гидроксихлорохина приводит к снижению активности киназы MEK в клетках опухолей легкого с мутациями в гене *KRAS*.

Ключевые слова: рак легкого; таргетная терапия; мутация; *KRAS*; траметиниб; гидроксихлорохин

Для цитирования: Муртазин А.И., Преображенская Е.В., Иевлева А.Г., Митин Н.П., Алексахина С.Н., Шестакова А.Д., Иванцов А.О., Венина А.Р., Кайдун П.И., Михеев Д.В., Ергнян С.М., Юрин Р.И., Левченко Н.Е., Хандогин Н.В., Мамонтов О.Ю., Лопушанская О.О., Левченко Е.В., Имянитов Е.Н. Чувствительность тканевых эксплантов *KRAS*-мутированных карцином легкого к комбинированному воздействию ингибиторов киназы MEK (траметиниб) и аутофагии (гидроксихлорохин). *Вопросы онкологии*. 2026; 72(1): 123-133.-DOI: 10.37469/0507-3758-2026-72-1-OF-2403

✉ Контакты: Муртазин Азат Инзирович, azat.murtazin@gmail.com

Введение

Рак легкого занимает ведущие позиции в структуре заболеваемости и смертности от онкологических заболеваний [1]. Примерно 70 % новых случаев рака легкого диагностируется на этапе местнораспространенного процесса либо метастатической стадии заболевания, что требует назначения паллиативной системной лекарственной терапии [2]. Стандарты обследования больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) включают молекулярно-генетическое тестирование биопсийного либо операционного опухолевого материала на онкогенные драйверные мутации и перестройки (*EGFR*, *ALK*, *BRAF*, *MET*, *ERBB2*, *RET*, *ROS1*, *KRAS* и *NTRK1/2/3*) для определения показаний к таргетной терапии [3–5]. Наиболее часто при НМРЛ обнаруживаются мутации в гене *KRAS* (15–30 %). Они приводят к гиперактивации сигнального каскада MAPK, регулирующего пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток [6]. Присутствие мутаций *KRAS* ассоциировано с длительным стажем курения, высокой общей мутационной нагрузкой в опухоли и повышенным уровнем экспрессии PD-L1 [7, 8]. Эти факторы обуславливают выраженный ответ на иммунотерапию у данной подгруппы пациентов [8–10]. Попыт-

analysis of phosphorylated ERK levels, reflecting MEK kinase activity, and caspase-3 levels, as a marker of apoptosis. Based on morphological assessment of explant viability and quality, 21 samples were included in the final drug sensitivity analysis, six of which carried *KRAS* mutations.

Results. A significant decrease in p-ERK levels was observed across the entire sample cohort following treatment with the combination of trametinib (20 μM) and hydroxychloroquine (25 μM) ($p = 0.005$). This suppressive effect was more pronounced in explants with *KRAS* mutations ($p = 0.006$) compared to tumors without mutations or with other genetic driver events. No significant changes in the expression of the apoptosis marker c-Casp3 were detected.

Conclusion. The combination of trametinib and hydroxychloroquine effectively reduces MEK kinase activity in lung tumor cells with *KRAS* mutations.

Keywords: lung cancer; targeted therapy; mutation; *KRAS*; trametinib; hydroxychloroquine

For Citation: Azat I. Murtazin, Elena V. Preobrazhenskaya, Aglaya G. Iyevleva, Nikolay P. Mitin, Svetlana N. Aleksakhina, Anna D. Shestakova, Alexandr O. Ivantsov, Aigul R. Venina, Polina I. Kaidun, Dmitriy V. Mikheev, Stepan M. Ergnjan, Roman I. Yurin, Nikita E. Levchenko, Nikolay V. Khandogin, Oleg Yu. Mamontov, Olga O. Lopushanskaya, Evgeny V. Levchenko, Evgeny N. Imyanitov. Sensitivity of *KRAS*-mutated non-small cell lung cancer to a combination of MEK kinase inhibitor (trametinib) and autophagy inhibitor (hydroxychloroquine) in a tissue explant model. *Voprosy Onkologii = Problems in Oncology*. 2026; 72(1): 123-133.-DOI: 10.37469/0507-3758-2026-72-1-OF-2403

ки разработки таргетной терапии для НМРЛ с мутациями *KRAS* не так давно привели к одобрению специфических ингибиторов, активных в отношении опухолей с одним из типов замен в гене *KRAS* — p.G12C [11]. Вместе с тем данные препараты продемонстрировали умеренную эффективность в сравнении с ингибиторами других мутированных киназ [12].

Еще одна стратегия терапии *KRAS*-мутированных опухолей — это инактивация киназы MEK, одной из финальных мишеней каскада MAPK. Монотерапия ингибиторами MEK показала минимальный эффект в клинических испытаниях, однако комбинированное воздействие на MEK и другие ключевые компоненты патогенеза НМРЛ представляются перспективным направлением улучшения результатов лечения. В опухолях с мутацией *KRAS* происходит активация аутофагии — процесса, позволяющего перерабатывать клеточные компартменты для текущих нужд опухоли, адаптироваться к опухолевому микроокружению и избегать влияния иммунного противоопухолевого надзора [13]. В связи с этим осуществляются попытки комбинирования ингибиторов RAS-каскада и гидроксихлорохина в качестве ингибитора аутофагии [14]. Такой подход позволяет избежать развития резистентности к ингибиторам MEK, опосредованной

процессами аутофагии [15, 16]. В настоящий момент уже инициировано клиническое исследование I фазы по изучению комбинации ингибитора MEK траметиниба и гидроксихлорохина у пациентов с *KRAS*-мутированным раком поджелудочной железы [17].

Один из перспективных подходов для изучения новых возможностей противоопухолевой терапии — применение трехмерных (3D) *ex vivo* моделей, в частности тканевых опухолевых эксплантов [18–20]. Они представляют собой тонкие срезы (300–500 мкм) живой ткани, помещенные в питательную среду [21]. В числе преимуществ данной методики выделяют сохранность архитектоники ткани и основных биологических характеристик опухоли на период эксперимента, а также равномерное проникновение лекарственного средства в срезы [22]. Ограничением при использовании эксплантов можно считать их короткую (48–72 ч) жизнеспособность. Целью настоящего исследования стала апробация комбинированного воздействия траметиниба и гидроксихлорохина на модели опухолевых эксплантов НМРЛ с разным статусом драйверных генетических изменений.

Материалы и методы

Получение эксплантов опухолевой ткани производилось по стандартным протоколам с модификациями (рис. 1) из образцов операционного материала верифицированного немелкоклеточного рака легкого у пациентов, которым ранее не проводилась специализированная лекарственную либо лучевая терапия [21, 23]. Тканевые экспланты были получены от 38 пациентов, проходивших хирургическое лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова в период с февраля 2022 по апрель 2023 г. По результатам патоморфологической оценки жизнеспособности и

клеточного состава полученных эксплантов, 21 образец из 38 был включен в анализ чувствительности к тестируемым препаратам. Средний возраст пациентов-доноров опухолевого материала составил $61 \pm 10,6$ года; 47,6 % образцов (10 из 21) получены от женщин. Всем пациентам было выполнено удаление соответствующей доли легкого (лобэктомия) с систематической медиастинальной лимфодиссекцией. У всех пациентов получено информированное добровольное согласие на использование биологического материала в научно-исследовательских и научно-практических целях.

Измельчение образцов опухолевой ткани выполнялось механическим путем, с помощью лезвия и далее на аппарате McIlwain Tissue Chopper на более мелкие фрагменты толщиной около 400 мкм. Несколько крупных фрагментов помещались во флакон с раствором формалина для дальнейшего общего патоморфологического (визуальная оценка качества препарата, представленность опухолевой ткани и оценка полей некроза) и молекулярно-генетического исследований с целью определения драйверных мутаций и перестроек в генах *KRAS*, *EGFR*, *ALK*, *BRAF*, *MET*, *RET*, *HER2*, *ROSI*, *NTRK*. Генетическое тестирование проводилось согласно ранее описанным протоколам [24–27].

Полученные срезы опухоли раскладывали в 24-луночный планшет для культивирования тканей. Клетки культивировались в питательной среде на основе EpiCult-C Basal Medium с добавлением раствора гидрокортизона, 2 мМ L-глутамина и антибиотиков. В каждую лунку помещался 1 мл общего объема раствора, содержащего питательную среду и тестируемые препараты в различных концентрациях: траметиниб, ингибитор MEK1/2, и/или гидроксихлорохин, терапевтический ингибитор аутофагии (концентрации исследуемых препаратов во всех

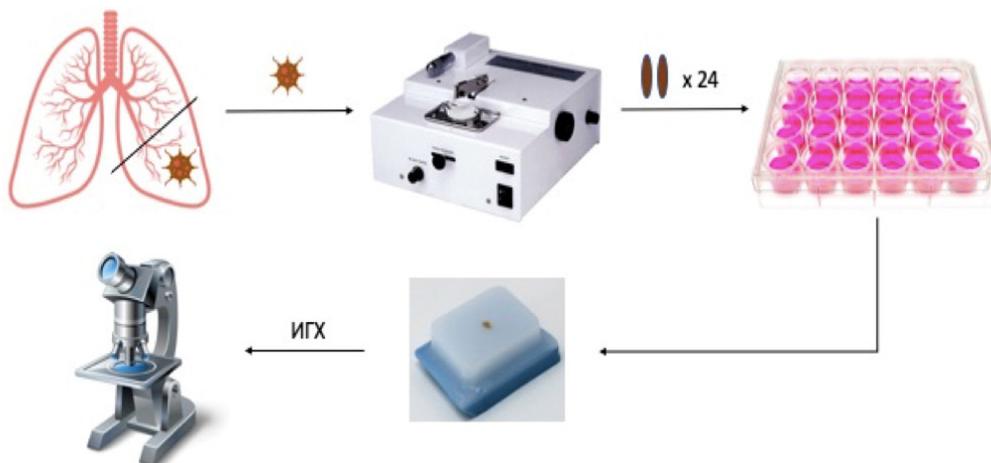


Рис. 1. Схема получения и анализа тканевых эксплантов. ИГХ — иммуногистохимический анализ
 Fig. 1. Schematic workflow for the generation and analysis of tissue explants. IHC — immunohistochemistry

Таблица 1. Схема внесения тестируемых препаратов в планшет для инкубации опухолевых эксплантов

	1	2	3	4	5	6
A	T, 20 мкМ	T, 20 мкМ	T, 2,5 мкМ	T, 2,5 мкМ	К № 1	К № 2
B	ГХ, 25 мкМ	ГХ, 25 мкМ	ГХ, 12,5 мкМ	ГХ, 12,5 мкМ	К № 3	К № 4
C	T, 20 мкМ + ГХ, 25 мкМ	T, 20 мкМ + ГХ, 25 мкМ	T, 20 мкМ + ГХ, 12,5 мкМ	T, 20 мкМ + ГХ, 12,5 мкМ	К № 5	К № 6
D	T, 2,5 мкМ + ГХ, 25 мкМ	T, 2,5 мкМ + ГХ, 25 мкМ	T, 2,5 мкМ + ГХ, 12,5 мкМ	T, 2,5 мкМ + ГХ, 12,5 мкМ	К № 7	К № 8

T — траметиниб; ГХ — гидроксихлорохин; К — контроль.

Table 1. The scheme of adding test drugs into a plate for tumor explants incubation

	1	2	3	4	5	6
A	T, 20 μ mol	T, 20 μ mol	T, 2,5 μ mol	T, 2,5 μ mol	C № 1	C № 2
B	HCQ, 25 μ mol	HCQ, 25 μ mol	HCQ, 12,5 μ mol	HCQ, 12,5 μ mol	C № 3	C № 4
C	T, 20 μ mol + HCQ, 25 μ mol	T, 20 μ mol + HCQ, 25 μ mol	T, 20 μ mol + HCQ, 12,5 μ mol	T, 20 μ mol + HCQ, 12,5 μ mol	C № 5	C № 6
D	T, 2,5 μ mol + HCQ, 25 μ mol	T, 2,5 μ mol + HCQ, 25 μ mol	T, 2,5 μ mol + HCQ, 12,5 μ mol	T, 2,5 μ mol + HCQ, 12,5 μ mol	C № 7	C № 8

T — trametinib; HCQ — hydroxychloroquine; C — control group.

лунках представлены в табл. 1). Лунки столбцов 5 и 6 не содержали лекарственных препаратов (внутренний экспериментальный контроль).

Выбор концентраций препаратов был основан на экспериментальных работах на клеточных линиях *KRAS*-мутированных опухолей [14, 28], а также инструкции по применению препарата траметиниб (*trametinibum*). Планшет с тканевыми эксплантами культивировался в условиях инкубатора на вортексе при 5 % CO₂ и температуре 37 °С. После культивирования в течение 48 ч из эксплантов изготавливались патоморфологические препараты по стандартной методике. Для каждого экспланта было приготовлено гистологическое стекло с окраской гематоксилин-эозином и два иммуногистохимических препарата. ИГХ-окрашивание для исследования проводили с использованием антител Phospho-ERK1/ERK2 (Thr185, Tyr187) (#44-680G, ThermoFisher, USA) и anti-cleaved Caspase 3 (#9579S; Cell Signaling Technology, USA).

Патоморфологическое и иммуногистохимическое исследования выполнял квалифицированный врач-патологоанатом, «ослепленный» в отношении молекулярно-генетического статуса образцов. Обработка данных проводилась при помощи программ Microsoft Excel 2010 и R версии 4.0.3. Парные сравнения выполнялись при помощи критерия Вилкоксона.

Результаты

Первичный патоморфологический анализ всей коллекции препаратов тканевых эксплантов после лекарственного воздействия (n = 38) включал расчет примерной доли жизнеспособной

опухоли и степени некротических изменений (в процентах) в каждом образце (рис. 2). Средний уровень некроза в контрольных эксплантах (без воздействия лекарственных препаратов) составил 9,4 % \pm 7,48. 17 образцов были исключены из дальнейшего исследования по причине низкой относительной доли (менее 10 %) опухолевых клеток в полученных тканевых эксплантах (n = 8), наличия выраженных некротических изменений (50 % и более) (n = 2) или по совокупности этих причин (n = 7). В итоговый анализ включены данные по 21 образцу операционного материала злокачественных опухолей легкого.

Исследуемая коллекция опухолей легкого была представлена аденокарциномами (15/21, 71,4 %) и плоскоклеточными карциномами (6/21, 28,6 %). Пять случаев из шести у пациентов с плоскоклеточным раком были ассоциированы с курением («стаж» курения 40 лет и более), при этом среди пациентов с аденокарциномой легкого связь с курением достоверно наблюдалась лишь в трети (пять из 15) случаев (20–40 лет табакокурения).

Мутации в гене *KRAS* были обнаружены в шести случаях, в гене *EGFR* — в пяти случаях, еще две опухоли содержали транслокации *RET* и *ROS1* соответственно. Из шести образцов плоскоклеточного рака легкого лишь один имел драйверную мутацию (в гене *KRAS*), при этом среди образцов аденокарциномы легкого мутации и перестройки выявлены в 12 из 15 случаев.

Ингибирование киназы MEK под воздействием применяемых препаратов и их комбинаций *in vitro* оценивалось посредством иммуногистохимической детекции белка p-ERK. В ходе активации сигнального пути MAPK наибольшая

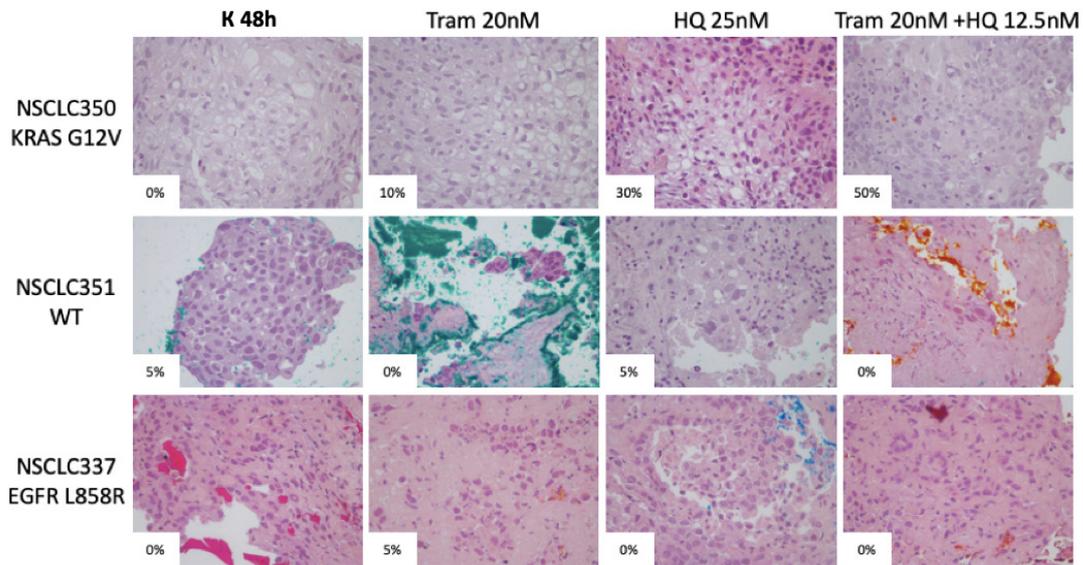


Рис. 2. Реакция тканевых эксплантов NSCLC350 (*KRAS p.G12V*), NSCLC351 (без мутаций) и NSCLC337 (*EGFR p.L858R*) на воздействие препаратами траметиниб (20 μ M), гидроксихлорохин (25 μ M) и их комбинации, анализ уровня некроза (указан в процентах; окраска: гематоксилин-эозин, $\times 40$). По сравнению с контролем без лекарственного воздействия, в образце NSCLC350 с мутацией *KRAS* отмечен повышенный уровень некротических изменений в лунках с гидроксихлорохином (25 μ M) и комбинацией лекарственных препаратов, в отличие от NSCLC351 (без мутаций) и NSCLC337 (мутация *EGFR L858R*), где подобные изменения не выявлены

Fig. 2. The reaction of NSCLC350 (*KRAS p.G12V*), NSCLC351 (without alterations) and NSCLC337 (*EGFR p.L858R*) tissue explants to the effects of trametinib (20 μ M), hydroxychloroquine (25 μ M) and their combinations, necrosis level analysis (indicated in percentage; H&E, $\times 40$). Compared to untreated controls, the *KRAS*-mutant NSCLC350 sample showed increased necrosis with hydroxychloroquine (25 μ M) and combination treatment, while no significant changes were observed in NSCLC351 (without alterations) and NSCLC337 (*EGFR L858R* mutation)

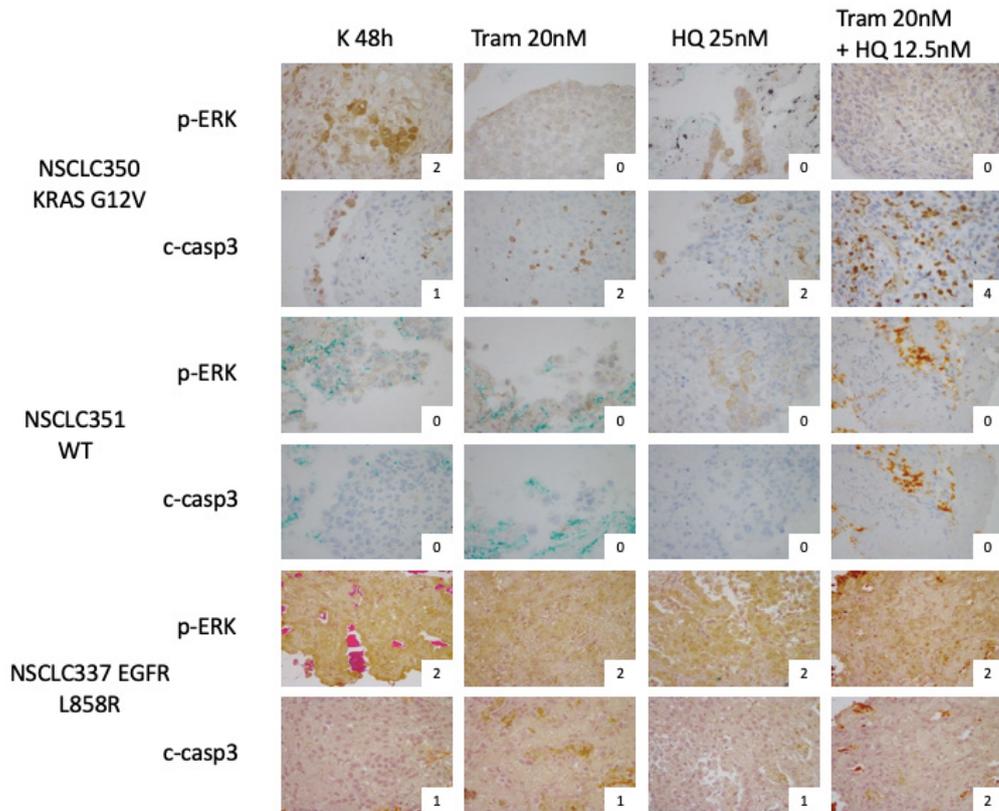


Рис. 3. Реакция тканевых эксплантов NSCLC350 (*KRAS p.G12V*), NSCLC351 (без мутаций) и NSCLC337 (*EGFR p.L858R*) на воздействие препаратами траметиниб (20 μ M), гидроксихлорохин (25 μ M) и их комбинации, ИГХ-анализ экспрессии p-ERK (в ядре, от 0 до 3 баллов) и c-Casp3 (в ядре и цитоплазме, от 0 до 6 баллов) ($\times 40$). По сравнению с контролем без лекарственного воздействия, в образце NSCLC350 с мутацией *KRAS* отмечено снижение экспрессии p-ERK и повышение уровня c-Casp3 в лунках с траметинибом (20 μ M), гидроксихлорохином (25 μ M) и комбинацией лекарственных препаратов, в отличие от образцов NSCLC351 (без мутаций) и NSCLC337 (мутация *EGFR L858R*), где подобные изменения не выявлены

Fig. 3. The reaction of NSCLC350 (*KRAS p.G12V*), NSCLC351 (without alterations) and NSCLC337 (*EGFR p.L858R*) tissue explants to the effects of trametinib (20 μ M), hydroxychloroquine (25 μ M) and their combinations, IHC analysis of p-ERK expression (in nucleus, 0–3 scoring) and c-Casp3 (in nucleus and in cytoplasm, 0–6 scoring) ($\times 40$). Compared to untreated controls, the *KRAS*-mutant NSCLC350 sample exhibited suppressed p-ERK expression and elevated c-Casp3 levels in wells with trametinib (20 μ M), hydroxychloroquine (25 μ M) and the drug combination. These changes were not observed in the NSCLC351 (without alterations) and NSCLC337 (*EGFR L858R* mutation)

концентрация белка ERK наблюдается в ядре, где он служит в качестве фактора транскрипции множества генов, участвующих в пролиферации, ингибировании апоптоза и дифференцировке клеток [29–30]. В связи с этим иммуногистохимически оценивалось именно ядерное окрашивание p-ERK. В качестве маркера для оценки выраженности апоптоза служила детекция белка каспазы-3 (с-Casp3). Как известно, на ранних этапах активации после выхода из митохондрий каспаза-3 фиксируется в цитоплазме и далее перемещается в клеточное ядро, поэтому в равной степени учитывалось и цитоплазматическое, и ядерное окрашивание с-Casp3 [31].

При интерпретации результатов иммуногистохимического анализа микропрепаратов опухолевых эксплантов, фиксированных в формалине и залитых в парафиновые блоки, окрашенных на маркеры p-ERK и с-Casp3 (рис. 3), оценивалась экспрессия данных молекул отдельно в ядре (от 0 до 3 баллов) и в цитоплазме (от 0 до 3 баллов); при этом в случае детекции p-ERK изучалась только ядерная экспрессия. С учетом дублирования каждой лунки выводился средний арифметический показатель исходя из балльной оценки для каждой концентрации исследуемых лекарственных препаратов (либо контроля) и их комбинаций (табл. 1П, прил.).

Изолированное воздействие траметиниба в концентрации 20 мкМ ассоциировалось со снижением фосфорилирования ERK в опухолевых эксплантах с драйверными мутациями и транслокациями ($n = 12$, $p = 0,02$) (табл. 2). Значимого влияния изолированного применения траметиниба в концентрации 2,5 мкМ или гидроксихлорохина (12,5 либо 25 мкМ) на уровень pERK не зарегистрировано.

Анализ воздействия комбинации препаратов показал снижение экспрессии pERK во всей выборке при использовании высоких концентраций двух ингибиторов (Т, 20 мкМ + ГХ, 25 мкМ) ($n = 21$, $p = 0,005$). Среди опухолей с разным мутационным статусом наиболее выраженный эффект наблюдался в группе эксплантов с мутацией *KRAS* ($n = 6$, $p = 0,006$). При сравнении уровня фосфорилирования ERK между группами эксплантов с мутацией *KRAS*, инкубированных с траметинибом (20 мкМ) и с комбинацией (Т, 20 мкМ + ГХ, 25 мкМ), существенных различий не выявлено ($n = 6$, $p = 0,56$).

Значимых изменений уровня маркера апоптоза с-Casp3 не было обнаружено ни в одной из исследуемых подгрупп. Тенденция к повышению экспрессии с-Casp3 отмечалась в эксплантах с драйверными мутациями после инкубации с комбинацией препаратов в низкой концентрации (2,5 и 12,5 мкМ соответственно) по сравнению с контрольными образцами ($n = 12$, $p = 0,05$).

Данные ИГХ-анализа с-Casp3 были доступны лишь для трех образцов с мутацией *KRAS*, что не позволило проанализировать изменения маркера в этой подгруппе.

Обсуждение

На модели тканевых эксплантов (*ex vivo*) нами продемонстрирована потенциальная перспективность применения комбинации ингибитора MEK траметиниба и ингибитора аутофагии гидроксихлорохина для подавления пролиферативного сигналинга опухолей легкого с мутациями *KRAS*. Данная комбинация препаратов в наибольших протестированных концентрациях (Т, 20 + ГХ, 25 мкМ) приводила к уменьшению уровня фосфорилирования ERK при анализе всей выборки, но наиболее значимые отличия от контроля были получены именно среди *KRAS*-мутированных НМПЛ.

Не удалось зафиксировать отличий в уровне маркера апоптоза с-Casp3 после воздействия лекарственных препаратов. Можно отметить, что ингибитор аутофагии гидроксихлорохин в концентрации 25 мкМ оказал сильное воздействие на тканевые экспланты в 23,8 % случаев, что проявилось субтотальным некрозом соответствующих образцов. Некроз, затронувший не менее 30 % опухолевой ткани, выявлялся в эксплантах из лунок с гидроксихлорохином (25 мкМ) и комбинацией препаратов, однако отсутствовал в лунках без них в образцах № № 338 (транслокация *ROS1*); 345 (транслокация *RET*); 350, 375 и 382 (мутации *KRAS*). Наблюдаемый высокий уровень некротических изменений мог повлиять на оценку экспрессии с-Casp3.

Наиболее выраженная (по интенсивности снижения pERK) реакция среди *KRAS*-мутированных эксплантов в ответ на инкубацию с изучаемыми препаратами наблюдалась в образце № 350, в котором выявлена мутация *KRAS p.G12V* (единственный образец с данной мутацией). Мутация *KRAS p.G12V* ассоциируется с более агрессивным течением по сравнению с другими вариантами *KRAS*: для опухолей с данной альтерацией характерно более раннее рецидивирование и прогрессирование; в то же время в них чаще выявляется повышенная экспрессия PD-L1, а также ко-мутации генов *FGF3*, *RET* и *KDR* [32].

Выполненное исследование имеет некоторые ограничения. Изготовление эксплантов производилось из образцов резецированной первичной опухоли от хемонаивных пациентов, у которых диагностирован местнораспространенный рак легкого (I–III стадий заболевания), что не дает в полной мере экстраполировать результаты на пациентов с метастатическим заболеванием. Дизайн работы обусловлен, с одной стороны, безопасностью

Таблица 2. Сравнение усредненных показателей экспрессии p-ERK (от 0 до 3) и c-Casp3 (от 0 до 6) в образцах контрольных опухолевых эксплантов («К») и экплантов, инкубированных с траметинибом («Т»), гидрохлорхином («ГХ») и комбинацией препаратов (NA — сравнение не выполнялось по причине малочисленности группы)

ИГХ	К	Т [20 мкМ]	Т [2,5 мкМ]	ГХ [25 мкМ]	ГХ [12,5 мкМ]	Т + ГХ [20 + 25 мкМ]	Т + ГХ [20 + 12,5 мкМ]	Т + ГХ [2,5 + 25 мкМ]	Т + ГХ [2,5 + 12,5 мкМ]
Опухоли без драйверных мутаций (n = 8)									
p-ERK	n = 8	n = 6	n = 6	n = 6	n = 8	n = 7	n = 8	n = 7	n = 7
	0,91 ± 0,53	0,92 ± 0,66	0,83 ± 0,75	1,0 ± 0,84	0,63 ± 0,64	0,43 ± 0,53	0,63 ± 0,88	0,71 ± 0,7	0,86 ± 1,03
p-value		0,79	0,51	0,79	0,46	0,04*	0,31	0,45	0,56
c-Casp3	n = 7	n = 5	n = 4	n = 6	n = 7	n = 6	n = 7	n = 6	n = 5
	1,46 ± 1,11	1,0 ± 0,87	2,13 ± 1,31	1,75 ± 1,78	1,14 ± 1,54	1,58 ± 1,65	0,64 ± 0,62	0,5 ± 0,84	1,6 ± 1,82
p-value		0,41	0,45	1	0,40	0,83	0,22	0,06	1
Опухоли с мутациями KRAS (n = 6)									
p-ERK	n = 6	n = 6	n = 6	n = 6	n = 5	n = 5	n = 5	n = 6	n = 6
	1,29 ± 0,68	0,33 ± 0,52	0,83 ± 0,75	0,67 ± 0,82	0,7 ± 0,97	0,1 ± 0,22	0,6 ± 0,42	0,75 ± 0,61	0,75 ± 0,41
p-value		0,06	0,57	0,29	0,36	0,006*	0,12	0,52	0,37
c-Casp3	n = 3	n = 2	n = 2	n = 2	n = 2	n = 1	n = 2	n = 3	n = 3
	1,26 ± 0,57	1,0 ± 1,41	1,0 ± 1,41	1,0 ± 1,41	1,25 ± 1,77	2,0	2,0	2,0 ± 1,0	2,5 ± 0,5
p-value		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Опухоли с мутациями KRAS, EGFR, перестройками ROS1, RET (n = 12)									
p-ERK	n = 12	n = 11	n = 12	n = 10	n = 9	n = 10	n = 10	n = 12	n = 10
	1,28 ± 0,76	0,5 ± 0,67	0,83 ± 0,83	0,85 ± 0,82	0,94 ± 1,18	0,65 ± 1,05	0,8 ± 0,59	0,63 ± 0,71	0,85 ± 0,88
p-value		0,02*	0,17	0,32	0,28	0,04*	0,22	0,08	0,27
c-Casp3	n = 6	n = 5	n = 5	n = 4	n = 5	n = 4	n = 5	n = 6	n = 6
	0,83 ± 0,62	1,13 ± 0,85	1,5 ± 1,29	0,75 ± 0,96	1,2 ± 1,44	0,88 ± 0,85	1,4 ± 0,82	1,25 ± 1,17	2,08 ± 0,97
p-value		1	0,93	0,75	0,93	1	0,31	0,75	0,05
Все исследованные опухоли (n = 21)									
p-ERK	n = 20	n = 17	n = 18	n = 16	n = 17	n = 17	n = 18	n = 19	n = 17
	1,13 ± 0,69	0,65 ± 0,68	0,83 ± 0,79	0,91 ± 0,8	0,79 ± 0,95	0,56 ± 0,86	0,72 ± 0,71	0,66 ± 0,69	0,85 ± 0,91
p-value		0,03*	0,18	0,47	0,13	0,005*	0,06	0,03*	0,13
c-Casp3	n = 13	n = 10	n = 9	n = 10	n = 12	n = 10	n = 12	n = 12	n = 11
	1,17 ± 0,94	0,95 ± 0,86	1,61 ± 1,32	1,35 ± 1,53	1,17 ± 1,44	1,3 ± 1,38	0,96 ± 0,78	0,88 ± 1,05	1,86 ± 1,36
p-value		0,51	0,48	0,87	0,44	0,85	0,60	0,25	0,22

*статистически значимый результат (p<0,05, критерий Вилкоксона) при сравнении с образцами из лунок без препаратов («К»).

Table 2. Comparison of average expression values of p-ERK (0–3 scoring) and c-Casp3 (0–6 scoring) in samples of untreated controls (C) and explants incubated with trametinib (T), hydroxychloroquine (HCQ) and their combinations (NA — comparison was not performed due to the small groups)

IHC	C	T [20 μM]	T [2.5 μM]	HCQ [25 μM]	HCQ [12.5 μM]	T + HCQ [20 + 25 μM]	T + HCQ [20 + 12.5 μM]	T + HCQ [2.5 + 25 μM]	T + HCQ [2.5 + 12.5 μM]
Tumors without genetic alterations (n = 8)									
p-ERK	n = 8	n = 6	n = 6	n = 6	n = 8	n = 7	n = 8	n = 7	n = 7
	0.91 ± 0.53	0.92 ± 0.66	0.83 ± 0.75	1.0 ± 0.84	0.63 ± 0.64	0.43 ± 0.53	0.63 ± 0.88	0.71 ± 0.7	0.86 ± 1.03
p-value		0.79	0.51	0.79	0.46	0.04*	0.31	0.45	0.56
c-Casp3	n = 7	n = 5	n = 4	n = 6	n = 7	n = 6	n = 7	n = 6	n = 5
	1.46 ± 1.11	1.0 ± 0.87	2.13 ± 1.31	1.75 ± 1.78	1.14 ± 1.54	1.58 ± 1.65	0.64 ± 0.62	0.5 ± 0.84	1.6 ± 1.82
p-value		0.41	0.45	1	0.40	0.83	0.22	0.06	1
Tumors with KRAS mutation (n = 6)									
p-ERK	n = 6	n = 6	n = 6	n = 6	n = 5	n = 5	n = 5	n = 6	n = 6
	1.29 ± 0.68	0.33 ± 0.52	0.83 ± 0.75	0.67 ± 0.82	0.7 ± 0.97	0.1 ± 0.22	0.6 ± 0.42	0.75 ± 0.61	0.75 ± 0.41
p-value		0.06	0.57	0.29	0.36	0.006*	0.12	0.52	0.37
c-Casp3	n = 3	n = 2	n = 2	n = 2	n = 2	n = 1	n = 2	n = 3	n = 3
	1.26 ± 0.57	1.0 ± 1.41	1.0 ± 1.41	1.0 ± 1.41	1.25 ± 1.77	2.0	2.0	2.0 ± 1.0	2.5 ± 0.5
p-value		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Tumors with KRAS, EGFR mutations or ROS1, RET rearrangements (n = 12)									
p-ERK	n = 12	n = 11	n = 12	n = 10	n = 9	n = 10	n = 10	n = 12	n = 10
	1.28 ± 0.76	0.5 ± 0.67	0.83 ± 0.83	0.85 ± 0.82	0.94 ± 1.18	0.65 ± 1.05	0.8 ± 0.59	0.63 ± 0.71	0.85 ± 0.88
p-value		0.02*	0.17	0.32	0.28	0.04*	0.22	0.08	0.27
c-Casp3	n = 6	n = 5	n = 5	n = 4	n = 5	n = 4	n = 5	n = 6	n = 6
	0.83 ± 0.62	1.13 ± 0.85	1.5 ± 1.29	0.75 ± 0.96	1.2 ± 1.44	0.88 ± 0.85	1.4 ± 0.82	1.25 ± 1.17	2.08 ± 0.97
p-value		1	0.93	0.75	0.93	1	0.31	0.75	0.05
All tumors (n = 21)									
p-ERK	n = 20	n = 17	n = 18	n = 16	n = 17	n = 17	n = 18	n = 19	n = 17
	1.13 ± 0.69	0.65 ± 0.68	0.83 ± 0.79	0.91 ± 0.8	0.79 ± 0.95	0.56 ± 0.86	0.72 ± 0.71	0.66 ± 0.69	0.85 ± 0.91
p-value		0.03*	0.18	0.47	0.13	0.005*	0.06	0.03*	0.13
c-Casp3	n = 13	n = 10	n = 9	n = 10	n = 12	n = 10	n = 12	n = 12	n = 11
	1.17 ± 0.94	0.95 ± 0.86	1.61 ± 1.32	1.35 ± 1.53	1.17 ± 1.44	1.3 ± 1.38	0.96 ± 0.78	0.88 ± 1.05	1.86 ± 1.36
p-value		0.51	0.48	0.87	0.44	0.85	0.60	0.25	0.22

*statistically significant result (p<0.05, the Wilcoxon criterion) in comparison with samples from control group (C).

для пациентов, так как необходимость забора дополнительного материала в ходе биопсии опухоли (первичной опухоли либо метастазов) обуславливает повышенный риск осложнений, а с другой стороны — тем, что изготовленные из биопсийного материала экспланты характеризуются меньшей информативностью и репрезентативностью [33]. Другим ограничением является небольшой объем выборки ($n = 21$, в том числе шесть НМРЛ с мутациями *KRAS*), что обуславливает необходимость дополнительных экспериментов, подтверждающих выявленные тенденции. Также требует объяснения снижение фосфорилирования ERK в эксплантах без драйверных мутаций, инкубированных с комбинацией препаратов в высоких концентрациях — среди восьми образцов данный эффект был наиболее выражен в образцах № № 344 и 346; вероятно, более углубленное изучение их геномной последовательности помогло бы дать ответ на этот вопрос.

Наши результаты согласуются с ранее проведенными исследованиями ксенографтных моделей *KRAS*-мутированных солидных опухолей [14]. Комбинации ингибиторов MEK и аутофагии изучаются в настоящее время при таких нозологиях, как меланома, колоректальный рак и рак поджелудочной железы. Например, инициировано клиническое исследование с целью оценки эффективности и безопасности комбинации траметиниба и гидроксихлорохина у пациентов с *KRAS*-мутированным раком поджелудочной железы [17]. Накопление доказательной базы в отношении доклинической оценки данной комбинации при немелкоклеточном раке легкого фактически только началось. Тем не менее, имеются результаты нерандомизированного испытания без плацебо-контроля по оценке безопасности и эффективности комбинации гидроксихлорохина с другим препаратом из класса MEK-ингибиторов, биниметинибом, у пациентов с распространенным *KRAS*-мутированным НМРЛ [34]. В исследование были включены девять пациентов, большинство из которых получили более трех линий системной терапии; у пяти пациентов на фоне приема изучаемой комбинации развились нежелательные явления тяжелой степени, что повлекло редукцию дозы препаратов; медиана продолжительности жизни составила 5,3 мес. Однако аналогичное испытание не проводилось в отношении более изученной комбинации гидроксихлорохина с траметинибом; кроме этого, траметиниб характеризуется гораздо менее выраженным профилем токсичности [35].

Заключение

Установлено ингибирование активности киназы MEK в опухолевых эксплантах немелко-

клеточного рака легкого с мутациями *KRAS* в ответ на воздействие комбинации траметиниба (20 мкМ) и ингибитора аутофагии гидроксихлорохина (25 мкМ), что свидетельствует об угнетении пролиферации в этих образцах. Требуются дальнейшие исследования для изучения эффективности и безопасности комбинации ингибиторов MEK с ингибитором аутофагии гидроксихлорохином для терапии *KRAS*-мутированных карцином легкого.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Соблюдение правил биоэтики

У всех пациентов получено информированное добровольное согласие на использование биологического материала в научно-исследовательских и научно-практических целях.

Compliance with the rules of bioethics

Informed consent was obtained from all patients for the use of biological material for scientific and research purposes.

Финансирование

Работа поддержана грантом РФФ 24-45-10014.

Financing

This work was supported by the Russian Science Foundation (RSF), grant No. 24-45-10014.

Участие авторов

Имянитов Е.Н., Преображенская Е.В., Алексахина С.Н., Кайдун П.И. — концепция и дизайн исследования; Муртазин А.И., Ергян С.М., Юрин Р.И., Михеев Д.В., Левченко Н.Е., Хандогин Н.В., Мамонтов О.Ю., Левченко Е.В., Иванцов А.О. — сбор и обработка клинического материала; Преображенская Е.В., Шестакова А.Д., Венина А.Р., Кайдун П.И., Иванцов А.О., Муртазин А.И. — изготовление эксплантов; Шестакова А.Д., Иванцов А.О. — патоморфологический анализ; Митин Н.П., Шестакова А.Д. — иммуногистохимический анализ; Муртазин А.И., Преображенская Е.В., Алексахина С.Н., Имянитов Е.Н., Иевлева А.Г. — анализ результатов, подготовка и редактирование рукописи.

Authors' contribution

Imyanitov E.N., Preobrazhenskaya E.V., Aleksakhina S.N., Kaidun P.I. — study conception and design; Murtazin A.I., Ergnian S.M., Yurin R.I., Mikheev D.V., Levchenko N.E., Khandogin N.V., Mamontov O.Yu., Lopushanskaya O.O., Levchenko E.V., Ivantsov A.O. — collection and processing of clinical material; Preobrazhenskaya E.V., Shestakova A.D., Venina A.R., Kaidun P.I., Ivantsov A.O., Murtazin A.I. — generation of explant cultures; Shestakova A.D., Ivantsov A.O. — pathological analysis; Mitin N.P., Shestakova A.D. — immunohistochemical analysis; Murtazin A.I., Preobrazhenskaya E.V., Aleksakhina S.N., Imyanitov E.N., Iyevleva A.G. — data interpretation, manuscript preparation and editing.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2024; 276 с. ISBN 978-5-85502-298-8. [Malignant tumours in Russia in 2023 (incidence and death rate). Ed. by Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Shakhzadovaya A.O. Moscow: P.A. Herzen Moscow Oncology Research Institute — branch of the National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2024; 276 (In Rus)].
- Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) program. SEER*Stat Database: Incidence — SEER Research Data, 22 Registries, Nov 2021 Sub (2000-2019) — Linked To County Attributes — Time Dependent (1990-2019) Income/Rurality, 1969-2020 Counties. National Cancer Institute, DC-CPS, Surveillance Research Program; 2022. Released November 2021.-URL: <https://seer.cancer.gov/data-software/documentation/seerstat/nov2021/>. (10.05.2025).
- Kwan A.K., Piazza G.A., Keeton A.B., et al. The path to the clinic: a comprehensive review on direct KRAS^{G12C} inhibitors. *J Exp Clin Cancer Res.* 2022; 41(1): 27.-DOI: <https://doi.org/10.1186/s13046-021-02225-w>.
- Лактионов К.К., Саранцева К.А., Нелюбина Л.А., et al. KRAS-мутированный немелкоклеточный рак легкого: новые стратегии терапии. *Сибирский онкологический журнал.* 2024; 23(2): 72-81.-DOI: <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2024-23-2-72-81>. [Laktionov K.K., Sarantseva K.A., Nelyubina L.A., Gamayunov S.V., Kolesnikova E.A., Gordiev M.G. KRAS-mutated non-small cell lung cancer: new therapy strategies. *Siberian Journal of Oncology.* 2024; 23(2): 72-81.-DOI: <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2024-23-2-72-81> (In Rus)].
- Hunter J.C., Gurbani D., Ficarro S.B., et al. In situ selectivity profiling and crystal structure of SML-8-73-1, an active site inhibitor of oncogenic K-Ras G12C. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014; 111(24): 8895-8900.-DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1404639111>.
- Dhillon A.S., Hagan S., Rath O., et al. MAP kinase signaling pathways in cancer. *Oncogene.* 2007; 26: 3279-3290.-DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210421>.
- Dogan S., Shen R., Ang D.C., et al. Molecular epidemiology of EGFR and KRAS mutations in 3,026 lung adenocarcinomas: higher susceptibility of women to smoking-related KRAS-mutant cancers. *Clin Cancer Res.* 2012; 18(22): 6169-77.-DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-3265>.
- Arbour K.C., Rizvi H., Plodkowski A.J., et al. Treatment outcomes and clinical characteristics of patients with KRAS-G12C-mutant non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2021; 27(8): 2209-2215.-DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-4023>.
- Landre T., Justeau G., Assié J.B., et al. Anti-PD-(L)1 for KRAS-mutant advanced non-small-cell lung cancers: a meta-analysis of randomized-controlled trials. *Cancer Immunol Immunother.* 2022; 71(3): 719-726.-DOI: <https://doi.org/10.1007/s00262-021-03031-1>.
- Peng L., Guo J., Kong L., et al. Efficacy of immunotherapy in KRAS-mutant advanced NSCLC: A real-world study in a Chinese population. *Front Oncol.* 2023; 12: 1070761.-DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1070761>.
- Skoulidis F., Li B.T., Dy G.K., et al. Sotorasib for Lung Cancers with KRAS p.G12C Mutation. *N Engl J Med.* 2021; 384(25): 2371-2381.-DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2103695>.
- Nan X., Xie C., Yu X., et al. EGFR TKI as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer. *Oncotarget.* 2017; 8(43): 75712-75726.-DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20095>.
- Debnath J., Gammoh N., Ryan K.M. Autophagy and autophagy-related pathways in cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2023; 24(8): 560-575.-DOI: <https://doi.org/10.1038/s41580-023-00585-z>.
- Kinsey C.G., Camolotto S.A., Boespflug A.M., et al. Protective autophagy elicited by RAF→MEK→ERK inhibition suggests a treatment strategy for RAS-driven cancers [published correction appears in *Nat Med.* 2019 Mar 27]. *Nat Med.* 2019; 25(4): 620-627.-DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0367-9>.
- Zhang X., Mao T., Xu H., et al. Synergistic blocking of RAS downstream signaling and epigenetic pathway in KRAS mutant pancreatic cancer. *Aging (Albany NY).* 2022; 14(8): 3597-3606.-DOI: <https://doi.org/10.18632/aging.204031>.
- Das C.K., Mandal M., Kögel D. Pro-survival autophagy and cancer cell resistance to therapy. *Cancer Metastasis Rev.* 2018; 37(4): 749-766.-DOI: <https://doi.org/10.1007/s10555-018-9727-z>.
- Trametinib and hydroxychloroquine in treating patients with pancreatic cancer (THREAD). University of Utah. Clinical trial record. ClinicalTrials.gov: NIH. 2025; NCT03825289.-URL: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03825289> (08.05.2025).
- Pomeranke A. Organotypic models of lung cancer. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2021; 430: 161-181.-DOI: https://doi.org/10.1007/82_2017_79.
- Karekla E., Liao W.J., Shrap B., et al. Ex vivo explant cultures of non-small cell lung carcinoma enable evaluation of primary tumor responses to anticancer therapy. *Cancer Res.* 2017; 77: 2029-2039.-DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-16-1121>.
- Powley I.R., Patel M., Miles G., et al. Patient-derived explants (PDEs) as a powerful preclinical platform for anti-cancer drug and biomarker discovery. *Br J Cancer.* 2020; 122: 735-44.-DOI: <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0672-6>.
- Naipal K.A., Verkaik N.S., Sánchez H., et al. Tumor slice culture system to assess drug response of primary breast cancer. *BMC Cancer.* 2016; 16: 78.-DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2119-2>.
- Gerlach M.M., Merz F., Wichmann G., et al. Slice cultures from head and neck squamous cell carcinoma: a novel test system for drug susceptibility and mechanisms of resistance. *Br J Cancer.* 2014; 110(2): 479-488.-DOI: <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.700>.
- Nagaraj A.S., Bao J., Hemmes A., et al. Establishment and analysis of tumor slice explants as a prerequisite for diagnostic testing. *J Vis Exp.* 2018; (141): 10.3791/58569.-DOI: <https://doi.org/10.3791/58569>.
- Preobrazhenskaya E.V., Suleymanova A.M., Bizin I.V., et al. Spectrum of kinase gene rearrangements in a large series of paediatric inflammatory myofibroblastic tumours. *Histopathology.* 2023; 83(1): 109-115.-DOI: <https://doi.org/10.1111/his.14912>.
- Tiurin V.I., Preobrazhenskaya E.V., Mitiushkina N.V., et al. Rapid and cost-efficient detection of RET rearrangements in a large consecutive series of lung carcinomas. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(13): 10530.-DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241310530>.

26. Martianov A.S., Mitiushkina N.V., Ershova A.N., et al. *KRAS, NRAS, BRAF, HER2 and MSI status in a large consecutive series of colorectal carcinomas. Int J Mol Sci.* 2023; 24(5): 4868.-DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24054868>.
27. Михеев Д.В., Чернякова А.П., Митюшкина Н.В., et al. Распространенность редких мутаций в гене EGFR при немелкоклеточном раке легкого. *Вопросы онкологии.* 2024; 70(6): 1115-1121.-DOI: <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2024-70-6-1115-1121>. [Mikheev D.V., Chernyakova A.P., Mitiushkina N.V., et al. The spectrum of uncommon EGFR mutations in non-small cell lung cancer. *Voprosy Onkologii = Problems in Oncology.* 2024; 70(6): 1115-1121.-DOI: <https://doi.org/10.37469/0507-3758-2024-70-6-1115-1121> (In Rus)].
28. Bryant K.L., Stalneck C.A., Zeitouni D., et al. Combination of ERK and autophagy inhibition as a treatment approach for pancreatic cancer. *Nat Med.* 2019; 25(4): 628-640.-DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0368-8>.
29. Plotnikov A., Flores K., Maik-Rachline G., et al. The nuclear translocation of ERK1/2 as an anticancer target. *Nat Commun.* 2015; 6: 6685.-DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms7685>.
30. Wortzel I., Seger R. The ERK cascade: distinct functions within various subcellular organelles. *Genes Cancer.* 2011; 2(3): 195–209.-DOI: <https://doi.org/10.1177/1947601911407328>.
31. Luo M., Lu Z., Sun H., et al. Nuclear entry of active caspase-3 is facilitated by its p3-recognition-based specific cleavage activity. *Cell Res.* 2010; 20(2): 211-22.-DOI: <https://doi.org/10.1038/cr.2010.9>.
32. Zhu W., Han H., Ma Z., et al. Prognostic value of KRAS G12V mutation in lung adenocarcinoma stratified by stages and radiological features. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2024; 168(6): 1525-1537.e6.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2024.03.025>.
33. Mui M., Clark M., Vu T.M.S.H., et al. Use of patient-derived explants as a preclinical model for precision medicine in colorectal cancer: A scoping review. *Langenbecks Arch Surg.* 2023; 408(1): 392.-DOI: <https://doi.org/10.1007/s00423-023-03133-7>.
34. Aggarwal C., Maity A.P., Bauml J.M., et al. A phase II open-label trial of binimetinib and hydroxychloroquine in patients with advanced KRAS-mutant non-small cell lung cancer. *Oncologist.* 2023; 28(7): 644-e564.-DOI: <https://doi.org/10.1093/oncolo/oyad106>.
35. Garutti M., Bergnach M., Polesel J., et al. BRAF and MEK inhibitors and their toxicities: A meta-analysis. *Cancers (Basel).* 2022; 15(1): 141.-DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers15010141>.

Поступила в редакцию / Received / 15.08.2025
 Прошла рецензирование / Reviewed / 09.09.2025
 Принята к печати / Accepted for publication / 25.09.2025

Сведения об авторах / Author's information / ORCID

Азат Инзирович Муртазин / Azat I. Murtazin / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5204-0942>, SPIN: 5673-4976.
 Елена Васильевна Преображенская / Elena V. Preobrazhenskaya / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7800-013X>, SPIN: 4813-0480.
 Аглая Геннадьевна Иевлева / Aglaya G. Iyevleva / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5454-5186>.
 Николай Павлович Митин / Nikolay P. Mitin / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2778-7504>.
 Светлана Николаевна Алексахина / Svetlana N. Aleksakhina / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2149-7728>, SPIN: 6898-4687.
 Анна Дмитриевна Шестакова / Anna D. Shestakova / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0649-9693>, SPIN: 7826-9376.
 Александр Олегович Иванцов / Alexandr O. Ivantsov / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6279-2312>, SPIN: 8347-0332.
 Айгуль Рифовна Венина / Aigul R. Venina / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6504-8636>.
 Полина Ильинична Кайдун / Polina I. Kaidun / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1926-7093>.
 Дмитрий Владимирович Михеев / Dmitriy V. Mikheev / ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0000-7100-8235>, SPIN: 6381-1614.
 Степан Мкртычевич Ергян / Stepan M. Ergnjan / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9596-4835>, SPIN: 2505-1777.
 Роман Иванович Юрин / Roman I. Yurin / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4303-8132>, SPIN: 2097-7577.
 Никита Евгеньевич Левченко / Nikita E. Levchenko / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7744-8135>, SPIN: 6910-4776.
 Николай Владимирович Хандогин / Nikolay V. Khandogin / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6046-549X>, SPIN: 1519-1372.
 Олег Юрьевич Мамонтов / Oleg Yu. Mamontov / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9051-2637>, SPIN: 1088-9224.
 Ольга Олеговна Лопушанская / Olga O. Lopushanskaya / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4465-3874>, SPIN: 6720-7764
 Евгений Владимирович Левченко / Evgeny V. Levchenko / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3837-2515>, SPIN: 2743-8968.
 Евгений Наумович Имянитов / Evgeny N. Imyanitov / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4529-7891>, SPIN: 1909-7323.

