



© Е.С. Саитова<sup>1</sup>, Ф.А. Загребин<sup>1</sup>, Р.С. Мулкиджан<sup>1</sup>,  
Е.В. Преображенская<sup>1,2</sup>, М.Е. Симонова<sup>1</sup>, А. Хамангаба<sup>1</sup>, Е.А. Отраднова<sup>1</sup>, М.Г. Бубнов<sup>1</sup>,  
К.А. Асадулаева<sup>1</sup>, Д.Е. Мартыненко<sup>1</sup>, В.И. Тюрин<sup>1</sup>, А.С. Мартыянов<sup>1,2</sup>, Д.М. Терина<sup>1</sup>,  
А.Д. Шестакова<sup>1</sup>, Е.Н. Имянитов<sup>1,2</sup>

## ***ALK, ROS1, RET* и *NTRK1-3* транслокации в опухолях с микросателлитной нестабильностью**

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

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

© Evgenia S. Saitova<sup>1</sup>, Fyodor A. Zagrebin<sup>1</sup>, Rimma S. Mulkidjan<sup>1</sup>, Elena V. Preobrazhenskaya<sup>1,2</sup>,  
Marina E. Simonova<sup>1</sup>, Alvan Hamangaba<sup>1</sup>, Ekaterina A. Otradnova<sup>1</sup>, Mikhail G. Bubnov<sup>1</sup>,  
Karimat A. Asadulaeva<sup>1</sup>, Daria E. Martynenko<sup>1</sup>, Vladislav I. Tyurin<sup>1</sup>, Alexander S. Martianov<sup>1,2</sup>,  
Daria M. Terina<sup>1</sup>, Anna D. Shestakova<sup>1</sup>, Evgeny N. Imyanitov<sup>1,2</sup>

## ***ALK, ROS1, RET* and *NTRK1-3* Gene Fusions in Microsatellite Unstable Cancers**

<sup>1</sup>N.N. Petrov National Medicine Research Center of Oncology, St. Petersburg, the Russian Federation

<sup>2</sup>St. Petersburg Pediatric Medical University, St. Petersburg, the Russian Federation

**Введение.** Микросателлитная нестабильность (MSI) является следствием дефекта системы репарации неспаренных оснований ДНК и сопровождается накоплением множества мутаций в ткани опухоли. Этот феномен характерен для колоректальных опухолей, карцином желудка, рака эндометрия и некоторых других типов новообразований. MSI в опухолях часто сочетается с активацией сигнального пути MAPK, в частности с мутациями в генах *KRAS*, *NRAS* и *BRAF*. Недавние исследования показали, что в опухолях с микросателлитной нестабильностью также могут встречаться транслокации с участием тирозинкиназ *ALK*, *ROS1*, *RET* и *NTRK1-3*.

**Цель.** Изучить частоту и спектр активирующих транслокаций тирозинкиназ при опухолях разных локализаций с микросателлитной нестабильностью.

**Материалы и методы.** Статус MSI был определен для 27 408 новообразований. Выявление перестроек с участием генов *ALK*, *ROS1*, *RET* и *NTRK1-3* в 1284 образцах MSI-позитивных опухолей осуществлялось при помощи тестов по определению несбалансированной экспрессии 5'/3'-концов гена, вариант-специфической ПЦР и высокопроизводительного секвенирования РНК (РНК-NGS).

**Результаты.** Перестройки были обнаружены в 101/990 (10,2 %) случае колоректального рака и 1/108 (1 %) опухоли желудка (*ALK*: 11; *RET*: 25; *NTRK1*: 42; *NTRK2*: 2; *NTRK3*: 22), и не были выявлены при раке эндометрия (n = 157), шейки матки (n = 13), поджелудочной железы (n = 7), холангиокарциноме (n = 4) или раке яичника (n = 5). Самой высокой частотой транслокаций оказалась среди *KRAS/NRAS/BRAF*-негативных колоректальных карцином с MSI 93/395 (23,5 %). Гораздо реже перестройки обнаруживались при раке толстой кишки с мутациями *KRAS/NRAS/BRAF* (8/597, 1,3 %). При раке толстой кишки присутствие транслокаций ассоциировалось с возрастом старше 50 лет ((97/795 (12,2 %) vs 3/195 (1,5 %), p = 0,0002).

**Introduction.** Microsatellite instability (MSI), a consequence of defective in DNA mismatch repair (dMMR), is manifested by multiple mutations. This phenomenon is particularly common in colorectal tumors, gastric cancer, endometrial cancer, etc. MSI in tumors is often associated with activation of the MAPK pathway, for example with mutations in the *KRAS*, *NRAS* and *BRAF* genes. Recent studies have shown that drugs targeting *ALK*, *ROS1*, *RET* and *NTRK1-3* tyrosine kinase translocations occur in tumors with microsatellite instability.

**Aim.** To study the frequency and spectrum of activating tyrosine kinase translocations in microsatellite unstable tumors of different localization.

**Materials and Methods.** MSI status was determined for 27,408 neoplasms. Detection of rearrangements involving the *ALK*, *ROS1*, *RET* and *NTRK1-3* genes in 1,284 samples of MSI-positive tumors was performed using the 5'-3'-end unbalanced expression test, variant-specific PCR and high-throughput RNA next-generation sequencing (RNA-NGS).

**Results.** Gene fusions were detected in 101/990 (10.2 %) colorectal cancers, 1/108 (1 %) gastric cancers (*ALK*: 11; *RET*: 25; *NTRK1*: 42; *NTRK2*: 2; *NTRK3*: 22). These alterations were not observed in endometrial (n = 157), cervical (n = 13), pancreatic (n = 7), cholangiocarcinoma (n = 4) or ovarian (n = 5) cancers. The highest frequency of gene rearrangements was observed in *KRAS/NRAS/BRAF*-negative colorectal cancer with MSI 93/395 (23.5 %). Much less frequent rearrangements were found in colorectal cancers with *KRAS/NRAS/BRAF* mutations (8/597, 1.3 %). Patients with colorectal cancer over 50 years of age had a higher frequency of translocations compared to younger patients (97/795 (12.2 %) vs. 3/195 (1.5 %), p = 0.0002).

**Выводы.** Транслокации с участием генов тирозинкиназ встречаются со значительной частотой при MSI-положительном раке толстой кишки, в особенности при *KRAS/NRAS/BRAF*-негативных опухолях.

**Ключевые слова:** транслокации; микросателлитная нестабильность; колоректальный рак; *ALK*; *RET*; *NTRK*

**Для цитирования:** Сайтова Е.С., Загребин Ф.А., Мулкиджан Р.С., Преображенская Е.В., Симонова М.Е., Хамангаба А., Отрадная Е.А., Бубнов М.Г., Асадулаева К.А., Мартыненко Д.Е., Тюрин В.И., Мартянов А.С., Терина Д.М., Шестакова А.Д., Имянитов Е.Н. *ALK*, *ROS1*, *RET* и *NTRK1-3* транслокации в опухолях с микросателлитной нестабильностью. *Вопросы онкологии*. 2025; 71(2): 334-343. DOI: 10.37469/0507-3758-2025-71-2-OF-2216

**Conclusion.** Tyrosine kinase gene translocations occur with significant frequency in MSI-positive colorectal cancer, especially in *KRAS/NRAS/BRAF* wild-type tumors.

**Keywords:** fusions; microsatellite instability; colorectal cancer; *ALK*; *RET*; *NTRK*

**For Citation:** Evgenia S. Saitova, Fyodor A. Zagrebina, Rimma S. Mulkiyjan, Elena V. Preobrazhenskaya, Marina E. Simonova, Alvan Hamangaba, Ekaterina A. Otradnova, Mikhail G. Bubnov, Karimat A. Asadulaeva, Daria E. Martynenko, Vladislav I. Tyurin, Alexander S. Martyanov, Daria M. Terina, Anna D. Shestakova, Evgeny N. Imyaninov. *ALK*, *ROS1*, *RET* and *NTRK1-3* gene fusions in microsatellite unstable cancers. *Voprosy Onkologii = Problems in Oncology*. 2025; 71(2): 334-343. (In Rus).-DOI: 10.37469/0507-3758-2025-71-2-OF-2216

✉ Контакты: Загребин Фёдор Альбертович, zagrebinf@gmail.com

## Введение

Микросателлитная нестабильность (MSI) является следствием дефектов в системе репарации неспаренных оснований ДНК (dMMR) и проявляется наличием множественных мутаций, в частности изменением длин коротких tandemных повторов в последовательности ДНК [1, 2]. MSI часто наблюдается в опухолях, ассоциированных с синдромом Линча. Такие злокачественные новообразования возникают у носителей наследственных патогенных вариантов в генах *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* или *EPCAM*. Развитие опухоли связано с соматической инактивацией второго аллеля гена системы MMR [3]. Фенотип MSI также характерен для некоторых спорадических злокачественных новообразований, его основной причиной при этом является гиперметилирование промотора *MLH1* [4]. Карциномы с микросателлитной нестабильностью имеют повышенную опухолевую мутационную нагрузку (TMB) и чувствительны к ингибиторам иммунных контрольных точек [5, 6].

Фенотип MSI часто встречается при раке толстой кишки (РТК) (5–15 %). В значительной доле РТК с MSI обнаруживаются мутации, активирующие сигнальный путь MAPK, в частности, аминокислотные замены в генах *KRAS*, *NRAS* и *BRAF* [4, 7]. Несколько недавних исследований продемонстрировали, что колоректальные карциномы с MSI могут также содержать перестройки в генах рецепторных тирозинкиназ [2, 8–10]. Кроме того, эти транслокации оказались связаны с повышенной частотой мутаций в GC-богатых интронных областях вовлеченных в перестройку генов [11]. Существует целый ряд таргетных препаратов ингибиторов тирозинкиназ, направленных на аномально активированные *ALK*, *ROS1*, *RET* и *NTRK1-3*, поэтому обнаружение транслокаций с участием этих генов имеет большое клиническое значение [10, 12]. Помимо колоректальных опухолей, MSI также характерна для нескольких других типов кар-

цином, в частности, для рака желудка (РЖ) и эндометриоидного рака тела матки (РТМ) [13, 14]. Систематических исследований перестроек генов тирозинкиназ в неколоректальных опухолях с микросателлитной нестабильностью до сих пор не проводилось.

Комплексный анализ транслокаций обычно требует применения дорогостоящей технологии РНК-секвенирования следующего поколения (next generation sequencing, NGS) [2]. Ранее мы разработали эффективную скрининговую методику для обнаружения транслокаций *ALK*, *ROS1*, *RET* и *NTRK1-3*, которая включает в себя анализ несбалансированной экспрессии 5'/3'-концов этих генов [15, 16]. Когда ген не затронут перестройкой, количество транскриптов, в которые входит киназный домен, и предшествующая киназному домену последовательность гена, остается одинаковым (сбалансированная экспрессия). Перестройки *ALK*, *ROS1*, *RET* и *NTRK1-3* обычно приводят к слиянию фрагмента гена, содержащего киназный домен, с активно транскрибируемым геном-партнером. В этом случае экспрессия части гена, содержащей киназный домен, повышается, по сравнению с экспрессией участков, расположенных перед точкой разрыва (несбалансированная экспрессия). Такой подход, в сочетании с идентификацией конкретных вариантов перестроек *ALK*, *ROS1*, *RET* и *NTRK1-3*, позволяет эффективно выявлять известные и заподозрить присутствие новых или более редких типов транслокаций.

## Материалы и методы

Присутствие микросателлитной нестабильности было проанализировано в 21 521 образце РТК, в 2 692 случаях рака желудка (РЖ) и в 932 случаях рака эндометрия, направленных на молекулярно-генетический анализ в НМИЦ им. Н.Н. Петрова в период 2013–2023 гг. В большинстве РТК и в части РЖ были протестированы мутации в онкогенах *KRAS*, *NRAS* и *BRAF* [17].

Кроме того, тестирование MSI было проведено для 795 образцов рака шейки матки, 229 холангиокарцином, 465 опухолей яичников и 774 опухолей поджелудочной железы. В 2013–2021 гг. анализ MSI в значительной степени основывался на использовании одного маркера BAT26, учитывая доказательства его высокой точности для обнаружения MSI [18]. В 2022–2023 гг. этот анализ был заменен стандартным тестом MSI с использованием 5 маркеров (BAT25, BAT26, NR21, NR22 и NR24). При использовании пентаплексной панели опухоли классифицировались как MSI-положительные при наличии отклонений длины в двух или более маркерах [19]. Детекция MSI проводилась методом капиллярного электрофореза на системе генетического анализа GenomeLab GeXP (Beckman Coulter, США) или на приборе Nanophore-05 (Syntol, Россия).

Перестройки с участием генов *ALK*, *ROSI*, *RET* и *NTRK1-3* были проанализированы в 1 284 опухолях с позитивным статусом MSI. Методы поиска транслокаций в вышеуказанных генах описаны ранее [15, 16]. Вкратце, архивные образцы опухолевых тканей подвергались ручной микродиссекции и стандартной процедуре фенол-хлороформной экстракции нуклеиновых кислот с последующей реакцией обратной транскрипции. Качество кДНК контролировалось при помощи ПЦР-амплификации фрагмента гена «домашнего хозяйства» *SDHA*; образцы с показателем порогового цикла (Ct, Cycle threshold) выше 35 считались непригодными для дальнейшего анализа. Тест на несбалансированную экспрессию 5'/3'-концов генов *ALK*, *ROSI*, *RET*, *NTRK1*, *NTRK2* и *NTRK3* и вариант-специфическая ПЦР для наиболее распространенных типов транслокаций, затрагивающих гены *ALK* (4 варианта), *ROSI* (10 вариантов), *RET* (11 вариантов), проводились методом ПЦР с TaqMan-зондами [15, 16]. Реакции ПЦР выполнялись на приборах CFX-96 Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США). Смесь для ПЦР содержала 1 мкл образца кДНК, 1 × GeneAmp ПЦР буфер I (Applied Biosystems, США), 250 мкМ каждого dNTP, 200 нМ каждого праймера и зонда, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub> и 1 ед. полимеразы TaqM (АлкорБио, Россия) в общем объеме 20 мкл. Реакции ПЦР начинались с активации фермента (95 °C, 10 мин.) и включали 40 циклов амплификации (95 °C — 15 сек., 58 °C — 1 мин.).

Образцы с несбалансированной экспрессией, которые не имели перестроек, обнаруживаемых с помощью ПЦР, были исследованы методом РНК-секвенирования нового поколения. РНК-NGS выполнялось с использованием таргетной панели QIAseq RNA-Scan Targeted Panel (Qiagen, Hilden, Германия), дизайн которой направлен на обнаружение перестроек в 6 генах (*ALK*, *ROSI*,

*RET*, *NTRK1*, *NTRK2*, *NTRK3*). NGS проводили на приборах Illumina MiSeq или NextSeq 550, анализ полученных NGS-данных выполнялся биоинформатическим пакетом STAR-Fusion (V.1.4.0). Статистический анализ проводился с использованием точного критерия Фишера.

## Результаты

### Анализ MSI

Микросателлитная нестабильность была обнаружена в 1230/21521 (5,7 %) РТК, 123/2692 (4,6 %) РЖ, 185/932 (19,8 %) случаях рака тела матки (РТМ), 16/795 (2 %) карциномах шейки матки (РШМ), 10/465 (2,2 %) случаях рака яичников (РЯ), 7/774 (0,9 %) опухолях поджелудочной железы (РПЖ) и 4/229 (1,7 %) холангиокарциномах (ХКЦ) (рис. 1). Частота MSI в этих типах опухолей хорошо согласуется с ранее опубликованными данными [1]. Поскольку в нашем исследовании использовались результаты как одномаркерного тестирования BAT26, так и пентаплексной панели (BAT25, BAT26, NR21, NR22 и NR24), мы оценили различия между этими двумя методами и то, как они могут повлиять на результаты. Оценка статуса BAT26 в 958 РТК, 108 РЖ и 160 РТМ, в которых по данным пентаплексного анализа была обнаружена MSI, показала, что только 8 из 1 226 опухолей имели нормальный статус BAT26. Эти результаты свидетельствуют о том, что методология тестирования MSI не оказала существенного влияния на результаты.

### Анализ генных перестроек

Для исследования генных перестроек было доступно 1 355 образцов РНК, полученных из опухолей с микросателлитной нестабильностью (1044 РТК, 112 РЖ, 166 РТМ, 16 РШМ, 5 ХК, 7 РПЖ и 5 РЯ). Часть образцов (71/1355, 5,2 %) не прошли контроль качества РНК (54/1044 (5,2 %) РТК, 4/112 (3,7 %) РЖ, 9/166 (5,7 %) РТМ, 3/16 (18,7 %) РШМ и 1/5 (25 %) ХК). В 1 284 MSI-позитивных образцах (990 РТК, 108 РЖ, 157 РТМ, 13 РШМ, 7 РПЖ, 5 РЯ и 4 ХК) с удовлетворительным качеством РНК был проведен поиск химерных транскриптов *ALK*, *ROSI*, *RET*, *NTRK1*, *NTRK2* и *NTRK3*.

Процедура скрининга включала одновременное определение несбалансированной экспрессии 5'/3'-концов генов и использование вариант-специфической ПЦР для диагностики распространенных типов транслокаций. Во всех опухолях с перестройками, затрагивающими гены *ALK* и *NTRK2*, был обнаружен дисбаланс экспрессии. Вместе с тем чувствительность оценки экспрессии 5'/3'-концов оказалась ниже в отношении транслокаций генов *RET*, *NTRK1* и *NTRK3*: 7/25 (28 %), 3/42 (7,1 %) и 4/22 (18,2 %)

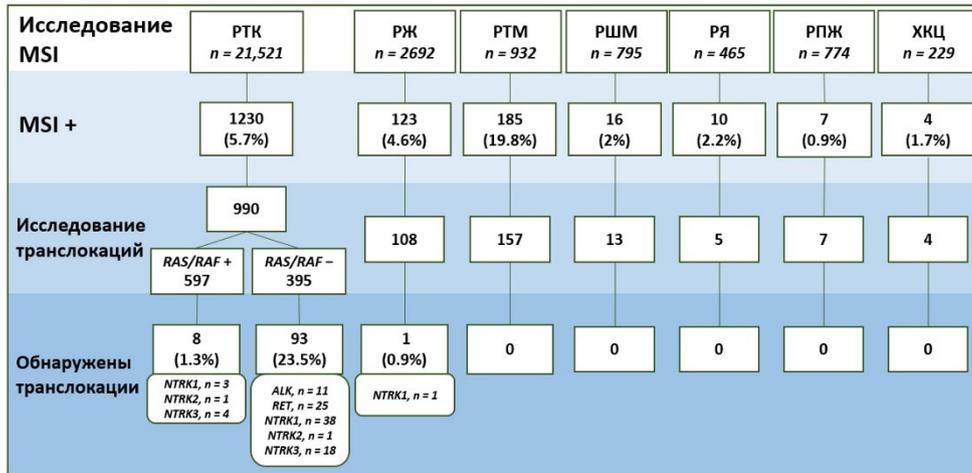


Рис. 1. Схема анализа транслокаций в опухолях с микросателлитной нестабильностью. РТК, рак толстой кишки; РЖ, рак желудка; РТМ, рак тела матки; РШМ, рак шейки матки; РЯ, рак яичников; РПЖ, рак поджелудочной железы; ХКЦ, холангиокарциномы; RAS/RAF +, образцы с мутациями в генах KRAS, NRAS or BRAF; RAS/RAF -, KRAS/NRAS/BRAF негативные образцы  
 Fig. 1. Flowchart of gene rearrangement analysis in MSI-positive samples. Colorectal cancer (CRC); gastric cancer (GC); Cancer of the corpus uteri (CCU); cervical cancer (CC); ovarian cancer (OC); pancreatic cancer (PC); cholangiocarcinomas (CCA). RAS/RAF +: CRCs harbouring mutations in KRAS, NRAS or BRAF oncogenes. RAS/RAF -: KRAS/NRAS/BRAF wild-type CRCs

образцов с перестройками этих генов, соответственно, демонстрировали сбалансированную экспрессию.

Дисбаланс экспрессии 5'/3'-фрагментов генов рецепторных тирозинкиназ наблюдался в 88 опухолях (ALK: 11; RET: 18; NTRK1: 39; NTRK2: 2; NTRK3: 18). При помощи вариант-специфической ПЦР перестройки были идентифицированы в 55/88 (62,5 %) образцах. Из оставшихся 33 случаев с несбалансированной экспрессией, но без выявленных вариантов перестроек, 19 были проанализированы с помощью NGS. Оставшиеся случаи не были включены в NGS-анализ, поскольку гистологический материал был возвращен в первичные медицинские учреждения после завершения тестирования MSI и оказался недоступен для повторного выделения РНК. При помощи NGS во всех 19 опухолях были идентифицированы варианты транслокаций: SPTBNI::ALK (S7;A20) (n = 2), ETV6::NTRK2 (E5;N15) (n = 2), TPR::NTRK1 (T21;N10) (n = 2), TPR::NTRK1 (T21;N12) (n = 2) и по одной NCOA4::RET (N9del501;R12), STRN::ALK (S3;A20), STRN::ALK (S5;ins53A20), RBBP8::ALK (R8;A20), TPR::NTRK1 (T15;N10), TPR::NTRK1 (T20;N11), ZKSCAN1::NTRK1 (Z3;N12), LMNA::NTRK1 (L9ins44;del74N11), LMNA::NTRK1 (L12del266;N12), EML4::NTRK3 (E6;N14), GPHN::NTRK3 (G11;N14). Эти данные позволяют предположить, что большинство из оставшихся 14 опухолей, которые не были доступны для NGS, также содержат редкие перестройки генов тирозинкиназ.

Таким образом, в 89 опухолях с микросателлитной нестабильностью были идентифицированы варианты транслокаций (ALK: 9, RET: 21, NTRK1: 39, NTRK2: 2, NTRK3: 18) (рис. 1, рис. 2). Кроме того, ещё 14 опухолей имели

несбалансированную экспрессию 5'/3'-концов (ALK: 2, RET: 4, NTRK1: 4, NTRK3: 4), что с высокой вероятностью указывает на наличие перестроек в перечисленных генах.

#### Паттерн перестройки генов в различных категориях опухолей с MSI

В опухолях с MSI частота транслокаций составила 102/990 (10,3 %) для колоректальных опухолей и 1/108 (0,9 %) для карцином желудка. В исследование вошло 395 случаев РТК без мутаций в генах KRAS/NRAS/BRAF; в 80 (20,6 %) из этих опухолей были обнаружены химерные транскрипты (ALK: 9; RET: 21; NTRK1: 34; NTRK2: 1; NTRK3: 15). Кроме того, 13 KRAS/NRAS/BRAF-негативных РТК продемонстрировали дисбаланс экспрессии 5'/3'-концов для одного из этих генов (ALK: 2, RET: 4, NTRK1: 4, NTRK3: 3), однако варианты слияния не удалось идентифицировать по техническим причинам. В общей сложности 93/395 (23,5 %) случаев рака толстой кишки без мутаций KRAS/NRAS/BRAF, содержали транслокации (ALK: 11; RET: 25; NTRK1: 38; NTRK2: 1; NTRK3: 18).

Необходимо отметить, что в 8/597 (1,3 %) случаях РТК с активирующими мутациями в генах KRAS, NRAS или BRAF были обнаружены перестройки генов киназ (рис. 2, табл. 1). Кроме того, опухоль желудка с перестройкой TPM3::NTRK1 (T8;N10) также одновременно содержала мутацию p.G12C в онкогене KRAS.

Активирующие мутации в генах пути MAPK обычно являются взаимоисключающими, поэтому сочетание активирующих транслокаций и мутаций KRAS/NRAS/BRAF представляется интересным феноменом. Такое сочетание может быть обнаружено как при наличии разных клонных клонов, содержащих эти молекулярные нарушения, так и в результате одновременного

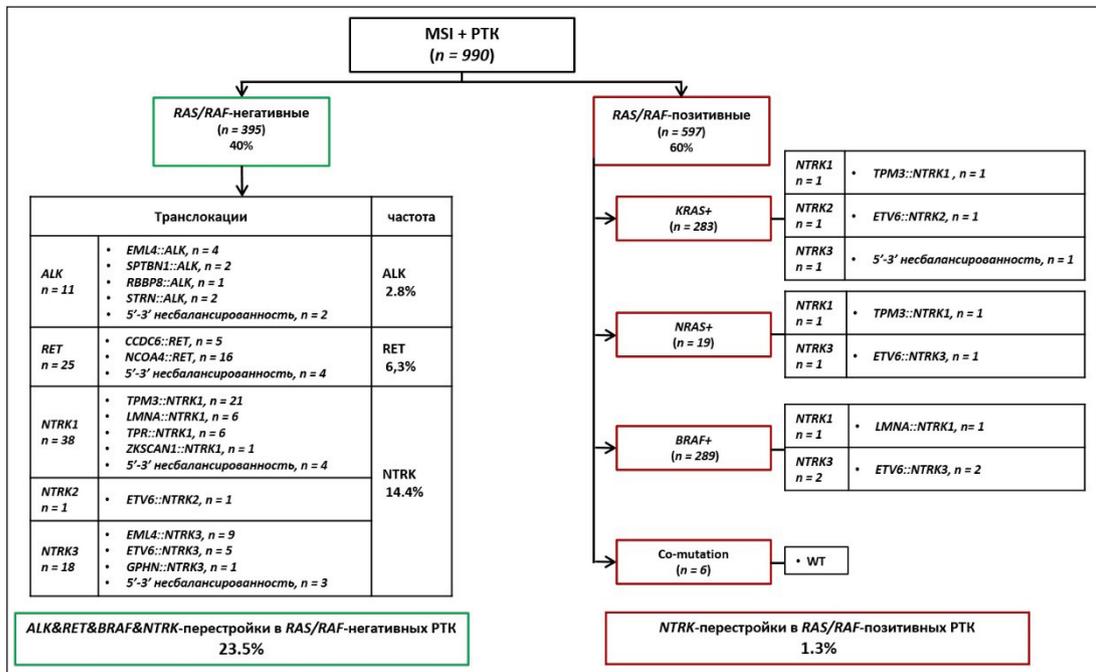


Рис. 2. Спектр выявленных транслокаций в PTK с микросателлитной нестабильностью. RAS/RAF, статус мутаций KRAS/NRAS/BRAF  
Fig. 2. Spectrum of gene rearrangements in MSI-positive colorectal cancer samples. RAS/RAF - KRAS/NRAS/BRAF mutation status

Таблица 1. Характеристика групп MSI-позитивных случаев, в которых обнаружены транслокации

MSI-H опухоли тестированные на наличие транслокаций	рак толстой кишки		рак желудка		
	990		108		
Исследование транслокаций, количество образцов	MSI+101 (10,2 %)	MSI-888 (89,7 %)	MSI+1 (0,9 %)	MSI-107 (99,1 %)	
Пол	Ж	60 (59,4 %)	474 (53,4 %)	1 (100 %)	55 (51,4 %)
	М	41 (40,6 %)	414 (46,6 %)	0	52 (48,6 %)
Возраст, лет	диапазон	28–86	20–90	-	34–87
	медиана	67	64	-	68
	< 40	3 (3 %)	82 (9,2 %)	0	4 (3,7 %)
	41–50	1 (1 %)	118 (13,3 %)	0	11 (10,3 %)
	51–60	21 (20,8 %)	152 (17,1 %)	0	15 (14 %)
	61–70	44 (43,6 %)	294 (33,1 %)	0	34 (31,8 %)
	> 70	32 (31,7 %)	242 (27,3 %)	1 (100 %)	43 (40,2 %)

Table 1. Clinical characteristics of MSI-positive tumors with gene fusions

Total MSI-positive tumors tested for gene fusions	Colorectal cancers		Gastric cancers		
	990		108		
Gene fusions study, Number of samples	MSI+101 (10.2 %)	MSI-888 (89.7 %)	MSI+1 (0.9 %)	MSI-107 (99.1 %)	
Gender	F	60 (59.4 %)	474 (53.4 %)	1 (100 %)	55 (51.4 %)
	M	41 (40.6 %)	414 (46.6 %)	0	52 (48.6 %)
Age, years	range	28–86	20–90	-	34–87
	median	67	64	-	68
	< 40	3 (3 %)	82 (9.2 %)	0	4 (3.7 %)
	41–50	1 (1 %)	118 (13.3 %)	0	11 (10.3 %)
	51–60	21 (20.8 %)	152 (17.1 %)	0	15 (14 %)
	61–70	44 (43.6 %)	294 (33.1 %)	0	34 (31.8 %)
	> 70	32 (31.7 %)	242 (27.3 %)	1 (100 %)	43 (40.2 %)

**Таблица 2. Оценка фракции опухолевых клеток с мутациями в генах KRAS/BRAF в MSI-положительных опухолях**

ID	Диагноз	Мутация	% капель с мутацией в цкПЦР	Транслокация	% опухолевых клеток по морф. оценке
C1274	РТК	<i>BRAF V600E</i>	17,5 %	<i>ETV6::NTRK3 (E5;N15)</i>	30 %
B4561	РТК	<i>KRAS A146T</i>	21 %	<i>ETV6::NTRK2 (E5;N15)</i>	50 %
C7527	РЖ	<i>KRAS G12C</i>	30,9 %	<i>TPM3::NTRK1 (T8;N10)</i>	30 %
C3231	РТК	<i>BRAF V600E</i>	5 %	<i>LMNA::NTRK1 (L8;N12)</i>	30 %
D5144	РТК	<i>KRAS G12D</i>	18 %	<i>Unbalanced NTRK3</i>	30 %
P29082	РТК	<i>NRAS Q61K</i>	22 %	<i>TPM3::NTRK1 (T8;N12)</i>	нет информации

**Table 2. Evaluation of the fraction of KRAS/BRAF-mutated cells in MSI-positive tumors**

ID	Diagnosis	Mutation	% drops with mutation in ddPCR	Fusion	% tumor cells by morphologic evaluation
C1274	CRC <sup>1</sup>	<i>BRAF V600E</i>	17.5 %	<i>ETV6::NTRK3 (E5;N15)</i>	30 %
B4561	CRC	<i>KRAS A146T</i>	21 %	<i>ETV6::NTRK2 (E5;N15)</i>	50 %
C7527	GC <sup>2</sup>	<i>KRAS G12C</i>	30.9 %	<i>TPM3::NTRK1 (T8;N10)</i>	30 %
C3231	CRC	<i>BRAF V600E</i>	5 %	<i>LMNA::NTRK1 (L8;N12)</i>	30 %
D5144	CRC	<i>KRAS G12D</i>	18 %	<i>Unbalanced NTRK3</i>	30 %
P29082	CRC	<i>NRAS Q61K</i>	22 %	<i>TPM3::NTRK1 (T8;N12)</i>	no information

<sup>1</sup>CRC — colorectal cancer; <sup>2</sup>GC — gastric cancer.

**Таблица 3. Частота транслокаций в MSI-положительных случаях РТК в зависимости от возраста пациентов**

Когорты	MSI-H рак толстой кишки (все случаи)		MSI-H рак толстой кишки с мутациями <i>RAS/RAF</i>		MSI-H рак толстой кишки без мутаций <i>RAS/RAF</i>	
	Транслокации / всего образцов	Стат. значимость	Транслокации / всего образцов	Стат. значимость	Транслокации / всего образцов	Стат. значимость
<= 50	3/195 (1,5 %)	<b>p = 0,0002</b>	3/482 (0,6 %)	<b>p = 0,0072</b>	1/79 (1,3 %)	<b>p = 0,0006</b>
> 50	97/795 (12,2 %)		5/115 (4,3 %)		92/316 (29,1 %)	
всего	101/990 (10,2 %)		8/597 (1,3 %)		93/395 (23,5 %)	

**Table 3. Frequency of gene rearrangements in MSI-positive CRC patients of different age**

Groups	Colorectal cancers MSI+ (total)		Colorectal cancers MSI+ with <i>RAS/RAF</i> mutations		Colorectal cancers MSI+ without <i>RAS/RAF</i> mutations	
	Cases with fusions / Total number of cases	Statistical significance	Cases with fusions / Total number of cases	Statistical significance	Cases with fusions / Total number of cases	Statistical significance
<= 50	3/195 (1.5 %)	<b>p = 0.0002</b>	3/482 (0.6 %)	<b>p = 0.0072</b>	1/79 (1.3 %)	<b>p = 0.0006</b>
> 50	97/795 (12.2 %)		5/115 (4.3 %)		92/316 (29.1 %)	
Total	101/990 (10.2 %)		8/597 (1.3 %)		93/395 (23.5 %)	

появления двух мутаций в одной и той же клетке. Мы оценили фракцию мутаций *KRAS/BRAF* в этих опухолях с помощью цифровой капельной ПЦР (табл. 2). Полученные данные в большинстве случаев в значительной степени согласуются с результатами морфологической оценки опухолевого материала, что позволяет предположить, что мутации *KRAS/BRAF* вероятно присутствуют во всех опухолевых клетках. Примечательно, что все, кроме одной, описанные выше опухоли с перестройками тирозинкиназ показали несбалансированную экспрессию 5'/3'-концов затронутого гена; этот дисбаланс

не мог бы быть обнаружен, если бы только незначительная фракция опухолевых клеток несла транслокацию (табл. 2).

Присутствие транслокаций в РТК с MSI ассоциировалось с более старшим возрастом (табл. 1). У больных старше 50 лет частота транслокаций была значительно выше (97/795 (12,2 %)), чем у более молодых пациентов (3/195 (1,5 %) OR 8,894 95 % ДИ (2,788–28,372), p = 0,0002)). Эта разница была особенно выражена в группе РТК без мутаций *KRAS/NRAS/BRAF* (92/316 (29,1 %) против 1/79 (1,3 %) OR 32,036 95 % ДИ (4,391–233,750) p = 0,0006; табл. 3).

## Обсуждение

В данном исследовании была выполнена систематическая оценка перестроек тирозинкиназ *ALK*, *ROS1*, *RET* и *NTRK1-3* в MSI-положительных опухолях различных локализаций. Мы подтвердили, что транслокации *ALK*, *RET* и *NTRK1-3* часто встречаются в *KRAS/NRAS/BRAF*-негативных РТК, особенно у пациентов старше 50 лет. Они также могут обнаруживаться в колоректальных опухолях с мутациями в генах пути RAS/RAF, и в MSI-позитивных новообразованиях других органов.

Результаты работы согласуются с недавним исследованием Мэдисона и соавт. [11], в котором было продемонстрировано, что возникновение генных перестроек в РТК объясняется мутагенным эффектом выделяемого микробиотой бутирата и последующим образованием 8-оксогуанина, в контексте дефицита репарации неспаренных оснований. Эти данные объясняют значительную разницу в частоте генных перестроек между колоректальными и неколоректальными злокачественными новообразованиями. Вместе с тем мы обнаружили умеренную частоту транслокаций тирозинкиназ также и в опухолях желудка. Этот факт позволяет предположить, что клетки с микросателлитной нестабильностью могут приобретать транслокации даже при отсутствии влияния кишечных микробов.

Наше исследование подтверждает, что изменения в генах пути MAPK, как правило, являются взаимоисключающими. Действительно, активации одного участника этого молекулярного каскада, например, рецепторной тирозинкиназы или онкогена *KRAS*, обычно достаточно для запуска сигнального пути. Более того, упомянутые выше генетические изменения обычно считаются относительно эквивалентными с точки зрения фенотипических последствий [7]. Интересно, что несмотря на это, частота мутаций конкретных генов значительно отличается между MSI-позитивными и MSI-негативными РТК. Колоректальные карциномы с микросателлитной нестабильностью имеют примерно в 2 раза более низкую частоту мутаций *KRAS*, но приблизительно в 4 раза более высокую частоту мутаций *BRAF*, по сравнению с MSI-негативными опухолями [7, 17]. Более того, перестройки генов киназ распространены в РТК с MSI, но исключительно редки в MSI-негативных колоректальных карциномах [11]. В целом кумулятивная частота активации каскада MAPK схожа в РТК с фенотипом MSI и без него: в 691/990 (67,9 %) MSI-позитивных РТК, проанализированных в этом исследовании, обнаружены изменения в генах пути MAPK (рис. 2), что почти идентич-

но оценкам, полученным для MSI-негативных колоректальных карцином [17]. Явных генетических изменений в этом сигнальном каскаде в оставшихся 30–40 % РТК обнаружено не было, что заслуживает дальнейшего изучения [7]. Обращает внимание тот факт, что мы обнаружили несколько случаев, где генетические изменения произошли одновременно в двух разных онкогенах. В предыдущих исследованиях были описаны подобные наблюдения [17, 20, 21]. Надежно дифференцировать сочетанное возникновение нескольких активирующих каскад MAPK событий в одной и той же клетке можно при помощи секвенирования отдельных клеток [22]. В этой работе мы использовали ddPCR для анализа фракции клеток с мутацией *KRAS/BRAF*, и предполагаем, что эти мутации не являются субклональными (табл. 2). В двух образцах РТК было обнаружено сочетание мутации *BRAF V600E* и транслокации *NTRK*. Эти опухоли представляют особый интерес с клинической точки зрения, поскольку они обладают тремя потенциальными мишенями для высокоэффективного лечения: MSI для иммунотерапии, замена *BRAF V600E* для комбинированного ингибирования EGFR/BRAF и активация *NTRK* для использования ингибиторов TRK [4, 7, 12].

В исследовании было обнаружено, что перестройки генов у больных с РТК старше 50 лет встречаются чаще, чем у более молодых пациентов. Этот возрастной порог также разделяет спорадические случаи РТК с микросателлитной нестабильностью, возникшей как следствие гиперметилирования промотора *MLH1*, и наследственные, обусловленные биаллельной инактивацией генов MMR [3, 4, 7].

Спектр транслокаций в опухолях с микросателлитной нестабильностью имеет некоторые характерные особенности. Варианты *NTRK1-3* относительно часто встречаются в некоторых детских опухолях и саркомах, но крайне редко обнаруживаются в распространенных типах рака [23, 24]. Тем не менее перестройки *NTRK1-3* являются наиболее частыми видами транслокаций, наблюдаемых в MSI-позитивных карциномах. В рамках исследования были выявлены слияния генов *TPM3::NTRK1*, *EML4::NTRK3* и *ETV6::NTRK3*, которые составляют большинство транслокаций генов *NTRK1-3* и при других типах опухолей [24]. В карциномах легкого чаще всего встречаются перестройки генов *ALK* и *RET*. На долю нескольких частых вариантов транслокаций *ALK* при раке легкого приходится более 90 % всех перестроек [25], однако в нашем исследовании были обнаружены только четыре такие перестройки (*EML4::ALK*). Аналогичным образом, слияния *KIF5B::RET* составляют более

70 % изменений *RET* при раке легких [16], но ни в одной MSI-позитивной опухоли с транслокацией *RET* этого варианта обнаружено не было.

Выполненное исследование имеет некоторые ограничения. В частности, из-за отсутствия сведений о выживаемости пациентов мы не смогли оценить влияние наличия генных перестроек на исход заболевания. Выявление MSI основывалось на стандартном протоколе ПЦР. Этот подход надежно выявляет крайне выраженную микросателлитную нестабильность, но он может пропустить подмножество карцином с дефицитом репарации неспаренных оснований, которые имеют низкую скорость пролиферации клеток и, следовательно, низкое количество мутаций в мононуклеотидных последовательностях [5]. Несоответствие между иммуногистохимической (ИГХ) оценкой белков MMR и ПЦР-анализом MSI в основном наблюдается для опухолей, локализованных за пределами желудочно-кишечного тракта [5]. Поэтому, учитывая преимущественное возникновение транслокаций в РТК, крайне маловероятно, что такие опухоли с дефицитом MMR, но стабильными микросателлитами будут иметь перестройки, активирующие MAPK-путь.

В нашем исследовании в 33 образцах с несбалансированной экспрессией 5'/3'-концов тирозинкиназ не удалось идентифицировать известные перестройки при помощи вариант-специфической ПЦР. Только 19 из этих опухолей были доступны для NGS, и в каждой из них обнаружилось редкие варианты химерных транскриптов. Весьма вероятно, что большинство из оставшихся 14 опухолей (*ALK*: 2; *RET*: 4; *NTRK1*: 4, *NTRK3*: 4) также содержат необычные типы перестроек в упомянутых генах. Также следует учесть, что применение ингибиторов *ALK* и *NTRK* не обязательно основано на идентификации конкретных вариантов транслокации, поскольку одобренным методом анализа этих генов является FISH. В целом методика оценки несбалансированной экспрессии 5'/3'-фрагментов характеризуется низкой долей ложноположительных результатов, т. е. практически все опухоли, идентифицированные этим методом, действительно имеют перестройки соответствующих генов [15, 16]. В связи с этим в некоторых обстоятельствах результаты анализа несбалансированной экспрессии 5'/3'-концов тирозинкиназ сами по себе могут быть достаточным основанием для назначения терапии. В то же время опухоли с транслокациями генов *RET*, *NTRK1* и *NTRK3* в ряде случаев не демонстрируют детектируемой несбалансированной экспрессии 5'/3'-концов, что может быть связано со сравнимыми уровнями экспрессии таргетного гена и гена-партнера. Исследование дисбаланса

экспрессии концов гена помогает обнаруживать случаи с редкими вариантами перестроек, но допустимо к использованию в сочетании с дополняющими вариант-специфическими исследованиями.

## Заключение

Исследование перестроек *ALK*, *RET*, *NTRK1*, *NTRK2* и *NTRK3* имеет особую актуальность для колоректальных карцином с MSI, у которых отсутствуют мутации в генах *KRAS*, *NRAS* и *BRAF*. Транслокации с участием упомянутых тирозинкиназ встречаются, хотя и значительно реже, также при MSI-позитивных опухолях других локализаций. Присутствие транслокаций ассоциировано с более старшим возрастом пациентов. Спектр вовлечённых тирозинкиназ и их партнёров отличается большим разнообразием, поэтому использование косвенных методов, таких как иммуногистохимия или флуоресцентная гибридизация *in situ*, может привести к неоднозначным результатам. В то время как РНК-NGS является золотым стандартом для обнаружения транслокаций, представленный в нашем исследовании подход к диагностике перестроек может стать экономически эффективной альтернативой в случае ограниченного доступа к технологии массового параллельного секвенирования.

### Благодарности

Авторы выражают благодарность А.Г. Иевлевой за помощь в редактировании статьи.

### Acknowledgements

The authors are grateful to A.G. Ievleva for her assistance in the editing of the article.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

### Соблюдение правил биоэтики

Все процедуры с вовлечением больных были проведены в соответствии с Хельсинкской декларацией по правам человека в редакции 2013 г. Протокол исследования был рассмотрен и одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (протокол заседания № 16 от 21.09.2023).

### Compliance with the rules of bioethics

All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the Declaration of Helsinki (2013). The research protocol was reviewed and approved by the local Ethics Committee of the N.N. Petrov NMRC of Oncology (Protocol No. 16, dated 21.09.2023).

### Финансирование

Работа была поддержана грантом РФФИ [24-45-02035].

### Funding

This work was supported by the Russian Science Foundation [Grant No 24-45-02035].

*Участие авторов*

Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработке концепции статьи, получении и анализе фактических данных, написании и редактировании текста статьи, проверке и утверждении текста статьи.

*Authors' contributions*

All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition and analysis of data for the work, drafting and revising the work, and final approval of the version to be published.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Shia J. The diversity of tumours with microsatellite instability: molecular mechanisms and impact upon microsatellite instability testing and mismatch repair protein immunohistochemistry. *Histopathology*. 2021; 78(4): 485-497.-DOI: <https://doi.org/10.1111/his.14271>.
- Wang J., Li R., Li J., et al. Comprehensive analysis of oncogenic fusions in mismatch repair deficient colorectal carcinomas by sequential DNA and RNA next generation sequencing. *J Transl Med*. 2021; 19(1): 433.-DOI: <https://doi.org/10.1186/s12967-021-03108-6>.
- Gallon R., Gawthorpe P., Phelps R.L., et al. How should we test for lynch syndrome? A review of current guidelines and future strategies. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(3): 406.-DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers13030406>.
- Taieb J., Svrcek M., Cohen R., et al. Deficient mismatch repair/microsatellite unstable colorectal cancer: Diagnosis, prognosis and treatment. *Eur J Cancer*. 2022; 175: 136-157.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2022.07.020>.
- Eso Y., Shimizu T., Takeda H., et al. Microsatellite instability and immune checkpoint inhibitors: toward precision medicine against gastrointestinal and hepatobiliary cancers. *J Gastroenterol*. 2020; 55(1): 15-26.-DOI: <https://doi.org/10.1007/s00535-019-01620-7>.
- Jin Z., Sinicrope F.A. Mismatch repair-deficient colorectal cancer: building on checkpoint blockade. *J Clin Oncol*. 2022; 40(24): 2735-2750.-DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.21.02691>.
- Imyanitov E., Kuligina E. Molecular testing for colorectal cancer: Clinical applications. *World J Gastrointest Oncol*. 2021; 13(10): 1288-1301.-DOI: <https://doi.org/10.4251/wjgo.v13.i10.1288>.
- Vaňková B., Vaněček T., Ptáková N., et al. Targeted next generation sequencing of MLH1-deficient, MLH1 promoter hypermethylated, and BRAF/RAS-wild-type colorectal adenocarcinomas is effective in detecting tumors with actionable oncogenic gene fusions. *Genes Chromosomes & Cancer*. 2020; 59(10): 562-568.-DOI: <https://doi.org/10.1002/gcc.22861>.
- Bocciarelli C., Caumont C., Samaison L., et al. MSI-High RAS-BRAF wild-type colorectal adenocarcinomas with MLH1 loss have a high frequency of targetable oncogenic gene fusions whose diagnoses are feasible using methods easy-to-implement in pathology laboratories. *Hum Pathol*. 2021; 114: 99-109.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2021.05.006>.
- Singh H., Li Y.Y., Spurr L.F., et al. Molecular characterization and therapeutic targeting of colorectal cancers harboring receptor tyrosine kinase fusions. *Clin Cancer Res*. 2021; 27(6): 1695-1705.-DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-4073>.
- Madison R.W., Hu X., Ramanan V., et al. Clustered 8-oxo-guanine mutations and oncogenic gene fusions in microsatellite-unstable colorectal cancer. *JCO Precis Oncol*. 2022; 6: e2100477.-DOI: <https://doi.org/10.1200/PO.21.00477>.
- Okano S., Yamashiro Y., Onagi H., et al. Tyrosine kinase alterations in colorectal cancer with emphasis on the distinct clinicopathological characteristics. *Histopathology*. 2023; 83(5): 733-742.-DOI: <https://doi.org/10.1111/his.15015>.
- Kurnit K.C., Westin S.N., Coleman R.L. Microsatellite instability in endometrial cancer: New purpose for an old test. *Cancer*. 2019; 125(13): 2154-2163.-DOI: <https://doi.org/10.1002/cncr.32058>.
- Puliga E., Corso S., Pietrantonio F., et al. Microsatellite instability in gastric cancer: between lights and shadows. *Cancer Treat Rev*. 2021; 95: 102175.-DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2021.102175>.
- 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>.
- 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>.
- Zhou X.P., Hoang J.M., Li Y.J., et al. Determination of the replication error phenotype in human tumors without the requirement for matching normal DNA by analysis of mononucleotide repeat microsatellites. *Genes Chromosomes & Cancer*. 1998; 21: 101-107.-DOI: [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-2264\(199802\)21:2<101::aid-gcc4>3.0.co;2-4](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-2264(199802)21:2<101::aid-gcc4>3.0.co;2-4).
- Suraweera N., Duval A., Reperant M., et al. Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR. *Gastroenterology*. 2002; 123: 1804-1811.-DOI: <https://doi.org/10.1053/gast.2002.37070>.
- Afrăsânie V.A., Gafton B., Marinca M.V., et al. The coexistence of RAS and BRAF mutations in metastatic colorectal cancer: a case report and systematic literature review. *J Gastrointest Liver Dis*. 2020; 29(2): 251-256.-DOI: <https://doi.org/10.15403/jgld-1003>.
- Uchida S., Kojima T., Sugino T. Frequency and clinicopathological characteristics of patients with KRAS/BRAF double-mutant colorectal cancer: an in silico study. *Pathol Oncol Res*. 2022; 28: 1610206.-DOI: <https://doi.org/10.3389/pore.2022.1610206>.
- Mustachio L.M., Roszik J. Single-cell sequencing: current applications in precision onco-genomics and cancer therapeutics. *Cancers (Basel)*. 2022; 14(3): 657.-DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers14030657>.
- O'Haire S., Franchini F., Kang, Y.J., et al. Systematic review of NTRK 1/2/3 fusion prevalence pan-cancer and across solid tumours. *Sci Rep*. 2023; 13: 4116.-DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31055-3>.
- Romanko A.A., Mulkidjan R.S., Tiurin V.I., et al. Cost-efficient detection of NTRK1/2/3 gene fusions: single-center analysis of 8075 tumor samples. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(18): 14203.-DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241814203>.
- Fois S.S., Paliogiannis P., Zinellu A., et al. Molecular epidemiology of the main druggable genetic alterations in non-small cell lung cancer. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(2): 612.-DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22020612>.

Поступила в редакцию / Received / 21.11.2024

Прошла рецензирование / Reviewed / 13.12.2024

Принята к печати / Accepted for publication / 19.12.2024

## Сведения об авторах / Author's information / ORCID

Евгения Станиславовна Сaitова / Evgenia S. Saitova / ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0008-4027-1223>, SPIN: 3857-3270.

Фёдор Альбертович Загребин / Fyodor A. Zagrebin / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8890-6311>, SPIN: 3140-2440.

Римма Сергеевна Мулкиджан / Rimma S. Mulkidjan / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8357-9326>, SPIN: 6511-3610.

Елена Васильевна Преображенская / Elena V. Preobrazhenskaya / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7800-013X>, SPIN: 4813-0480.

Марина Евгеньевна Симонова / Marina E. Simonova / ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0006-7690-5537>.

Алван Хамангаба / Alvan Hamangaba / ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0002-4255-3319>.

Екатерина Андреевна Отраднава / Ekaterina A. Otradnova / ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0003-0158-1820>, SPIN: 9861-0730.

Михаил Григорьевич Бубнов / Mikhail G. Bubnov / ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0006-8329-4519>.

Каримат Амирхановна Асадулаева / Karimat A. Asadulaeva / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4203-6306>.

Дарья Евгеньевна Мартыненко / Daria E. Martynenko / ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-7127-900X>.

Владислав Ильич Тюрин / Vladislav I. Tyurin / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0157-5952>, SPIN: 8627-6407.

Александр Сергеевич Мартянов / Alexander S. Martianov / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7690-8328>, SPIN: 8627-6407.

Дарья Михайловна Терина / Daria M. Terina / ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0009-8174-1524>.

Анна Дмитриевна Шестакова / Anna D. Shestakova / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0649-9693>.

Евгений Наумович Имянитов / Evgeny N. Imyanitov / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4529-7891>, SPIN: 1909-7323.

