



© А.С. Мартянов^{1,2}, Г.А. Янус^{1,2}, Е.Ш. Кулигина¹, А.С. Портянко³,
 А.В. Того^{1,2}, Е.Н. Имянитов^{1,2,4}

Применение циркулирующих опухолевых РНК в жидкостной биопсии: ранняя первичная неинвазивная диагностика аденокарцином легкого

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 учреждение «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова», аг. Лесной, Минский район, Республика Беларусь

⁴Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

© Aleksandr S. Martianov^{1,2}, Grigory A. Yanus^{1,2}, Ekaterina S. Kuligina¹, Anna S. Portyanko³,
 Alexandr V. Togo^{1,2}, Evgeny N. Imyanitov^{1,2,4}

Circulating Tumor RNA-Based Liquid Biopsy for Primary Noninvasive Diagnosis of Pulmonary Adenocarcinoma

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

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

³N.N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Lesnoy, the Republic of Belarus

⁴North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, the Russian Federation

Жидкостная биопсия является относительно новым и очень востребованным методом неинвазивного анализа опухолеспецифических генетических aberrаций. Наибольшее признание в клинической практике получил поиск мутаций, ассоциированных с резистентностью к таргетной терапии, в препаратах циркулирующих опухолевых ДНК (цОДНК) из крови больных раком легкого; в этом случае «положительный» результат теста служит основанием для смены терапевтического агента. В качестве экспериментального подхода жидкостную биопсию пытаются приспособить для решения и других насущных задач, таких как раннее выявление рака или мониторинг течения заболевания, однако эти разработки сталкиваются с техническими сложностями. Дело в том, что многие неоплазмы, особенно на ранних этапах, не выделяют в кровь ДНК в количестве, достаточном для молекулярного тестирования. Исследование циркулирующих РНК-маркеров (цОРНК) не является типичным подходом, однако теоретически именно таким образом можно преодолеть указанную проблему жидкостной биопсии: отсутствие ДНК-маркера в объеме крови, взятой на анализ. В самом деле, в отличие от хромосом ядерного генома, транскрипты генерируются опухолевой клеткой во множестве копий и таким образом должны быть обильнее представлены в биологических жидкостях организма. Предполагается, что неинвазивная РНК-диагностика способна дублировать различные задачи, стоящие перед жидкостной биопсией на основе ДНК-анализа. В частности, РНК-маркеры позволяют прямо или косвенно оценить статус мишеней для таргетной терапии. В некоторых случаях, таких как выявление транскриптов химерных генов — продуктов клинически значимых транслокаций, цОРНК-диагностика явно превосходит воз-

Liquid biopsy has emerged as a novel and highly promising method for the non-invasive analysis of tumor-specific genetic alterations. In clinical practice, the most widely adopted application involves screening circulating tumor DNA (ctDNA) for mutations associated with resistance to targeted therapy. For lung adenocarcinoma patients, a positive ctDNA test result often warrants a change in therapeutic agent. Liquid biopsy is being explored for other critical applications, including early cancer detection and disease monitoring. However, these efforts face significant technical challenges. A key limitation is that many tumors, particularly in early stages, release insufficient amounts of DNA into the bloodstream for reliable molecular analysis. Circulating tumor RNA (ctRNA) represents a less conventional but theoretically compelling alternative. This suggests that RNA-based diagnostics could address the central limitation of ctDNA analysis: the scarcity of tumor-derived DNA in blood samples. Unlike nuclear DNA, RNA transcripts are continuously produced by tumor cells in high copy numbers, potentially offering greater abundance in biological fluids. Non-invasive RNA diagnostics may replicate the capabilities of DNA-based liquid biopsy. For instance, RNA markers enable direct or indirect evaluation of therapeutic target status. In certain scenarios, such as detecting chimeric gene transcripts from clinically significant translocations, ctRNA analysis clearly outperforms ctDNA-based methods. The tumor transcriptome encompasses a large number of functional and structural categories, different in their chemical stability, representation in blood and across biological fluids, including mRNA, microRNA, long non-coding RNA, and circular RNA. Tumor-derived RNA circulates in plasma incorporated into nucleoprotein complexes, extracellular vesicles, platelets, or circulating tumor cells. This biological diversity has led to

возможности анализа цоДНК. Опухолевый транскриптом подразделяется на большое количество функциональных и структурных категорий, различных по своей химической устойчивости, представленности в крови и в иных биологических жидкостях: мРНК, микроРНК, длинные некодирующие РНК, кольцевые РНК и т.д. Опухолевые РНК могут циркулировать в плазме как часть нуклеопротеидных комплексов, внеклеточных везикул, в составе тромбоцитов и циркулирующих опухолевых клеток. Поэтому в области жидкостной биопсии на основе РНК-маркеров существует колоссальное разнообразие подходов, препятствующее стандартизации методик и внедрению в клиническую практику. Лишь в отдельных случаях результаты новаторских работ оказываются валидированы независимыми клиническими исследованиями. В рамках данного обзора охарактеризованы различные направления жидкостной биопсии на основе РНК-маркеров при раке легкого.

Ключевые слова: жидкостная биопсия; циркулирующая опухолевая РНК; прогностический маркер; предиктивный маркер; рак легкого; микроРНК

Для цитирования: Мартянов А.С., Янус Г.А., Кулигина Е.Ш., Портянко А.С., Того А.В., Имянитов Е.Н. Применение циркулирующих опухолевых РНК в жидкостной биопсии: ранняя первичная неинвазивная диагностика аденокарцином легкого. *Вопросы онкологии*. 2025; 71(4): 939-948.-DOI: 10.37469/0507-3758-2025-71-4-OF-1910

✉ Контакты: Кулигина Екатерина Шотовна, kate.kuligina@gmail.com

Введение

Жидкостная биопсия различных новообразований — быстроразвивающееся направление современной онкологии: достаточно сказать, что за 2022 г. появилось без малого 2 000 публикаций, индексируемых базой Pubmed и касающихся данной тематики. Щадящий характер процедуры забора материала, возможность одновременно анализировать множественные очаги поражения, динамическое наблюдение за эволюцией опухолевых клонов, малоинвазивный мониторинг и своевременная диагностика рецидивов — все эти преимущества анализа циркулирующих опухолевых ДНК (цоДНК) оказались очень востребованными для нужд молекулярной диагностики. Однако по мере внедрения в клиническую практику выяснилось, что не все ожидания, возлагаемые на жидкостную биопсию, в полной мере оправдались. В рамках исследований по ранней детекции неоплазм были разработаны сверхчувствительные методы цоДНК-диагностики, которые к настоящему моменту уже достигли предельных показателей аналитических параметров: чувствительности и специфичности выявления опухолеспецифических мутаций. Вместе с тем оказалось, что малые по размеру карциномы не всегда выделяют в кровь достаточное количество ДНК, чтобы в стандартном объеме плазмы, получаемом при заборе крови, оказался хоть один опухолевый геном; а некоторые неоплазмы, по неизвестным причинам, вообще не секретируют цоДНК [1, 2]. С этим связано смещение интереса исследовате-

а proliferation of RNA-based liquid biopsy approaches, complicating standardization and clinical implementation. To date, only a limited number of pioneering studies have undergone independent clinical validation. This review characterizes the current landscape of RNA-based liquid biopsy in lung cancer.

Keywords: liquid biopsy; circulating tumor RNA; prognostic marker; predictive marker; lung cancer; microRNA

For Citation: Aleksandr S. Martianov, Grigory A. Yanus, Ekaterina S. Kuligina, Anna S. Portyanko, Alexandr V. Togo, Evgeny N. Imyaninov. Circulating tumor RNA-based liquid biopsy for primary noninvasive diagnosis of pulmonary adenocarcinoma. *Voprosy Onkologii = Problems in Oncology*. 2025; 71(4): 939-948.-DOI: 10.37469/0507-3758-2025-71-4-OF-1910

лей в области поиска альтернативных аналитов и методических подходов, которые могут сделать жидкостную биопсию более надежным и универсальным инструментом. Двигаться предлагается в нескольких направлениях:

- оптимизация обстоятельств и методов забора материала (поиск физиологического максимума экскреции ДНК, обеспечение необычно большого объема исследуемой крови ультрафильтрующими устройствами, терапевтические интервенции для увеличения концентрации цоДНК) [3, 4];

- использование «неканонических» биологических жидкостей помимо крови, актуальных для отдельных локализаций первичной опухоли или метастатического очага [5, 6];

- детекция «нестандартных» биомаркеров: циркулирующих внеклеточных везикул, а также их содержимого; активированных опухолью тромбоцитов и измененных экспрессионных профилей лейкоцитов крови, циркулирующих опухолевых клеток, аномальных паттернов метилирования циркулирующих ДНК, свободных бесклеточных мРНК и микроРНК и т. д. [7].

Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) — локализация, в отношении которой накоплен наибольший практический опыт применения жидкостной биопсии. Так, в рутинную практику внедрено определение в плазме крови мутации *EGFR T790M*. Ее появление связано с приобретением *EGFR*-мутантными неоплазмами резистентности к *EGFR*-ингибиторам первого и второго поколения (эрлотиниба, gefitiniba, афатиниба и др.); при этом *T790M*-позитивные

новообразования уязвимы для новой генерации ингибиторов *EGFR* (осимертиниба). Жидкостная биопсия позволяет обойтись без инвазивной процедуры «традиционной» биопсии легкого, но, к сожалению, не всегда является информативной, т.к. зачастую даже крупная опухоль не выделяет в кровь достаточное для анализа количество циркулирующих фрагментов опухолевого генома. В рамках данного обзора мы обсуждаем возможности применения биомаркеров на основе циркулирующих РНК для увеличения чувствительности и специфичности жидкостной биопсии, уделяя особое внимание немелкоклеточному раку легкого.

Общая характеристика циркулирующих РНК опухолевого происхождения

В отличие от ДНК ядерного генома, отдельные молекулы РНК во множестве продуцируются каждой опухолевой клеткой в течение ее жизни. Циркулирующие опухолевые РНК (цоРНК) представлены различными категориями молекул:

- кодирующей мРНК ядерного и митохондриального генома, на основе которой осуществляется синтез белка;
- структурными компонентами рибосом и сплайсосом (рРНК, мяРНК);
- тРНК, транспортирующими отдельные аминокислоты при трансляции;
- короткими интерферирующими РНК, несущими регуляторные функции (микроРНК, пиРНК); не вполне изученными длинными некодирующими и кольцевыми (циркулярными) молекулами РНК.

Паттерны экспрессии ряда РНК (онкогенов, несущих активирующие мутации; регуляторных микроРНК, задействованных в опухолевой трансформации; транскриптов, свойственных ткани происхождения опухоли и др.) обладают опухолевой специфичностью. Следовательно, подобные опухолеспецифичные РНК, высвобождаемые в кровь, и иные биологические жидкости наравне с цоДНК вполне могут быть использованы для детекции новообразований, мониторинга активности опухолевого процесса и для анализа его клинически значимых свойств. Затруднение состоит в том, что РНК представляет собой весьма нестойкий класс биополимеров. Хотя работы, указывающие на присутствие свободно циркулирующей в периферической крови опухолевой мРНК, появились давно, подобные феномены нередко относили к лабораторным артефактам [8]. До недавних пор считалось, что вне клетки «свободная» РНК очень быстро подвергается деградации РНКазами. Исключение, как полагали, составляют микроРНК и кольцевые РНК, устойчивые к этим фермен-

там из-за своей конструкции. Прочие категории транскриптов (в т.ч. транскрипты белок-кодирующих генов) для того, чтобы циркулировать в плазме в сохранном виде, по-видимому, должны быть защищены от ферментативного гидролиза нуклеопротеидными комплексами, быть упакованными в мембранные микровезикулы или адсорбироваться тромбоцитами крови. Вместе с тем недавние исследования указывают на то, что повышенная эфемерность мРНК относительно других представителей «мира РНК» несколько преувеличена. Например, прямое сравнение периода полужизни различных категорий транскриптома при комнатном хранении образца крови показало сопоставимую устойчивость микроРНК и мРНК: $16,4$ и $16,42 \pm 4,2$ ч для мРНК и микроРНК соответственно, а также $24,56 \pm 5,2$ и $17,46 \pm 3,0$ ч для кольцевых РНК и длинных некодирующих РНК [9]. Вероятно, определенную предвзятость в суждения по данному вопросу вносит и тот общеизвестный факт, что внутриклеточная деградация мРНК — это жестко регулируемый биологически значимый процесс. Внутри клетки период полужизни белок-кодирующих транскриптов мРНК действительно очень небольшой: зачастую — несколько часов, а иногда он измеряется минутами [10]. Следует, впрочем, отметить, что ранние данные все же свидетельствуют о необычно высокой стабильности, по крайней мере, отдельных микроРНК. К сожалению, подобные методологические работы немногочисленны и представления о «живучести» разных категорий циркулирующих РНК опухолевого происхождения до сих пор не вполне аргументированы.

Детекция свободной циркулирующей мРНК

Мнение о недолговечности свободно циркулирующей в крови мРНК долгое время служило абсолютным препятствием на пути ее использования в качестве аналита при жидкостной биопсии, однако в последние несколько лет это ограничение поставлено под вопрос рядом исследований. В частности, зафиксировано постоянное присутствие в плазме крови различных тканеспецифичных транскриптов и изменение их концентрации при патологических процессах (нейроглиальные транскрипты у лиц с болезнью Альцгеймера, транскрипты, специфичные для гепатоцитов при жировой дистрофии печени, и т.д.) [11]. В работе Larson и соавт. [12] была продемонстрирована возможность детекции соответствующих тканеспецифичных транскриптов в плазме пациентов с раком легкого (РЛ) и раком молочной железы (РМЖ). Оказалось, что при условии строгого соблюдения техники забора и хранения биоматериала, а также устранения

«шума» (транскриптов клеток гемопоэтического происхождения, рРНК и митохондриальных РНК) RNAseq выявляет около 20 циркулирующих транскриптов, которые позволяют отличить образцы пациентов от образцов, взятых у здоровых людей. Были обнаружены отдельные мРНК, которые дифференциально экспрессировались в опухолях и в плазме от больных различными подтипами рака. Как и ожидалось, на возможность детекции транскрипта в плазме влиял не только суммарный объем опухоли, но и интенсивность экспрессии соответствующего гена. Наконец, экспрессионный профиль плазмы в данной работе качественно не отличался от экспрессионного профиля экзосом [12]. На самом деле, возможно, нет необходимости прилагать усилия к селекции для анализа транскриптов исключительно опухолевого происхождения. «Реактивные» изменения в транскриптоме иммунных клеток, прослеживаемые в пуле свободно циркулирующих мРНК, тоже могут помочь выявить онкологических больных [13].

В характеристику «опухолевого» транскриптома плазмы также вносят вклад экспрессионные особенности стромы, эндотелиоцитов, привлеченных в опухолевый очаг макрофагов, и т.д. В таких случаях при анализе динамики концентрации транскриптов после циторедуктивной операции желательнее все же дифференцировать вероятный источник происхождения мРНК и делать поправку на уровень резидуальной подпопковой экспрессии РНК-маркеров [14].

Интересными представляются попытки выявить в крови пациентов транскрипты крупных повторяющихся элементов генома (прежде всего, ретротранспозонов LINE-1), которые почти не подлежат транскрипции в норме, но начинают экспрессироваться и восстанавливать свои мобильные свойства в различных опухолях [15]. Здесь, впрочем, исследования наталкиваются на гетерогенность опухолей даже одной и той же локализации в отношении степени активации мобильных генетических элементов. Для НМРЛ, к примеру, это явление в наибольшей степени характерно для *KRAS G12C*-позитивных неоплазм [16].

Важная черта жидкостной биопсии на основе анализа транскриптома плазмы — это отсутствие необходимости априорного знания о мутационном статусе «материнской» опухоли. Поэтому потенциально, за счет расширения панели РНК-маркеров, можно решать такие задачи, как ранняя детекция опухоли, уточнение сомнительного радиологического диагноза, мониторинг опухолевого процесса «в реальном времени» даже в отсутствие типичных «драйверных» мутаций. В этом плане показательна недавняя работа, доказавшая возможность динамической оценки отве-

та на лечение, выявления скрытых очагов опухоли, прогностически значимого «молекулярного стадирования» меланомы на основании анализа всего четырех опухолеспецифичных мРНК в плазме, без учета мутационного статуса меланом [14]. Хотя опыт применения циркулирующих опухолевых мРНК (цомРНК) для мониторинга опухолевого роста невелик, имеются сообщения о сопоставимом потенциале цодНК и цомРНК в роли аналита для решения задач такого рода. В данном исследовании было обнаружено, что уровень циркулирующей в плазме мРНК PD-L1 коррелирует с экспрессией этой иммунной молекулы в опухолевом очаге, а также с ответом на иммунотерапию [17].

Поиск клинически значимых микромутаций в генах *EGFR*, *KRAS*, *BRAF* в рамках жидкостной биопсии, как правило, базируется на анализе цодНК, но с тем же успехом этот тест можно выполнять и на уровне транскриптов. В других случаях использование в роли аналита цомРНК имеет явные преимущества. Так, например, детекция хромосомных перестроек, таких как транслокации *ALK*, *ROS1*, *RET*, *NTRK*, на уровне ДНК затруднен изменчивостью точек разрыва при образовании химерных генов. Обнаружение химерных транскриптов технически гораздо проще. В недавней работе анализировались циркулирующие гибридные транскрипты, ассоциированные с транслокацией *ALK* — их удалось выявлять у 30 % больных с *ALK*-позитивным НМРЛ до начала лечения [18]. Другое исследование дало еще более оптимистичную оценку чувствительности данного теста — удалось выявить до 77,8 % «плазма-позитивных» случаев среди хемонаивных больных и пациентов с прогрессированием *ALK*-позитивных неоплазм [19]. Важно подчеркнуть, что в обеих работах, РНК-тест намного опережал по чувствительности анализ цодНК.

Свободно циркулирующие микроРНК и другие некодирующие транскрипты

МикроРНК — особый класс коротких цепочек олигорибонуклеотидов (19–24 н), основная функция которых состоит в посттранскрипционной регуляции экспрессии. В типичном случае зрелая микроРНК входит в состав РНК-индуцируемого комплекса выключения гена (*RNA-induced silencing complex*, RISC) и может связываться с различными мРНК, имеющими в своем составе нуклеотидную последовательность, комплементарную активному участку данной микроРНК. Кроме этого классического способа функционирования, микроРНК могут участвовать и в регуляции транскрипции, взаимодействовать с различными белками вне

комплекса RISC. Описаны случаи, когда связывание микроРНК с мРНК способствовало, наоборот, активации трансляции [20]. В настоящее время известно более 3 000 микроРНК, причем экспрессия многих из них ткане- и опухоеспецифична [21]. Существуют онкогенные и антионкогенные микроРНК, а также микроРНК, значение которых для канцерогенеза меняется на противоположное в зависимости от посттранскрипционных химических модификаций [22] или в зависимости от опухолевой локализации (например, *miR-146a-5p* [23]).

Считается, что микроРНК очень устойчивы к изменению условий среды и практически не поддаются воздействию РНКаз. Это происходит вследствие того, что микроРНК образуют чрезвычайно стабильные рибонуклеопротеидные комплексы с компонентами RISC. Они могут активно секретироваться клеткой, а могут высвобождаться из нее в ходе клеточной гибели; микроРНК выявляются во всех биологических жидкостях, как в свободном виде, так и в составе внеклеточных везикул. Неудивительно, что в самом скором времени после открытия роли микроРНК их постарались использовать в качестве маркеров для детекции и мониторинга опухолевого процесса. Тем не менее, годы последующего интенсивного изучения пока не привели к созданию диагностических методик, общепризнанных научным сообществом. За период 2012–2020 гг. было предложено не менее 14 панелей микроРНК (от 2 до 34 маркеров) для раннего выявления НМРЛ, мониторинга ответа на лечение, дифференциальной диагностики узлов, выявляемых у курильщиков при помощи низкодозной КТ [24]. Однако лишь отдельные маркерные микроРНК (*miR-let-7b-5p*, *miR-214-3p*, *miR-126*, *miR-140-5p*, *miR-142-3p*, *miR-148a-3p*, *miR-17*, *miR-30b-5p*, *miR-30c-5p*, *miR-486-5p*, *miR-92a-3p*, *miR-566*, *miR-let-7a-5p*) удалось валидировать хотя бы дважды, независимыми исследованиями [25–27]. Помимо этого, технологические затруднения, связанные с выделением микроРНК, и сложность стандартизации методик оценки экспрессии этих биомаркеров также препятствуют внедрению микроРНК-диагностики в рутинную практику. Возможный прорыв в данном направлении ожидают в связи с разработкой новых сверхчувствительных методик детекции микроРНК [28].

В качестве альтернативного подхода продолжают появляться работы, направленные на поиски диагностически значимых сигнатур на базе анализа всего пула циркулирующих микроРНК. Так, в недавнем крупном исследовании, включившем более 3 000 больных РЛ и онкологически здоровых контролей, для дифференциации групп была использована панель

из 15 диагностически значимых микроРНК; чувствительность этой сигнатуры оказалась равной 82,8 %, а специфичность — 93,5 %. Анализ подгруппы больных РЛ на ранних стадиях (I–II стадии) продемонстрировал чувствительность 76,3 % и специфичность 97,5 % [29]. Другое исследование (> 3 500 участников) обнаружило удивительно высокие аналитические показатели (99 % чувствительность и специфичность) для панели всего лишь из двух микроРНК-маркеров, ранее не упоминавшихся в качестве диагностически значимых локусов для НМРЛ (*miR-1268b*, *miR-6075*) [30]. Еще одно крупное исследование японского консорциума, посвященное ранней детекции различных опухолевых локализаций, показало, что для достижения приемлемой точности (90 %) требуется анализ больших панелей микроРНК-маркеров, включающих не менее 100 позиций [31]. Недавний метаанализ 80 работ, посвященных использованию микроРНК-маркеров для жидкостной биопсии при НМРЛ, подтвердил относительно высокую чувствительность и специфичность *miR-10*, *miR-19*, *miR-20*, *miR-21*, *miR-146*, а также комбинации из трех маркеров (*miR-210*, *miR-31* и *miR-21*) [32].

Еще одна категория некодирующей РНК, относительно устойчивой в биологических средах организма — это кольцевые молекулы РНК, специфический подтип длинных некодирующих РНК. Последние представляют собой транскрипты длиной более 200 п.н., функции которых чрезвычайно разнообразны: регуляция конформации хроматина, процессов транскрипции, сплайсинга, трансляции и локализации белков; некоторые из них могут участвовать в ответе на повреждение ДНК, передаче сигналов от цитокинов, метаболизме глюкозы и др. [33].

Кольцевые РНК первоначально считались продуктами ошибочного сплайсинга, лишены биологической функции. Они и в самом деле возникают при сшивании между собой 5' и 3' концов фрагмента линейного транскрипта в ходе созревания мРНК: образуется кольцевая молекула, включающая в себя один или несколько экзонов/интронов. Однако генерация кольцевых РНК неслучайна, зачастую они стабильно продуцируются определенными типами клеток, в т.ч. опухолевыми, и способны выполнять ряд функций, основной из которых является регулируемое временное депонирование микроРНК [7]. Подобные молекулы могут также контролировать процесс альтернативного сплайсинга и экспрессию «канонических» линейных транскриптов локуса, из которого они происходят сами; связываться с белками, депонируя их, стабилизируя белковые комплексы или даже маркируя белки, подлежащие протеасомной деградации [34].

Ряд кольцевых РНК (например, *circCDR1-AS*, *circHIPK3*, *circFNDC3B*, *circPCMTD1*, *circRHOBTB3*, *circFAM13B*, *circMAN1A2*) вовлечены в молекулярный патогенез НМРЛ, и часть из них можно выявить в плазме больных [35]. Так, в исследовании, включавшем 231 пациента с РЛ и 41 здорового донора, обнаружение в плазме высокой концентрации кольцевой РНК *hsa_circ_0000190* позволило разделить пациентов от здоровых лиц с чувствительностью 90 и специфичностью 90,2 % (для опухолей I–II стадии эти показатели составили 81,5 и 97,6 % соответственно). Оказалось, что динамика уровня *hsa_circ_0000190* в плазме отражает ответ на противоопухолевую терапию НМРЛ, причем изначальный высокий уровень данной молекулы являлся неблагоприятным прогностическим маркером [36]. *Hsa_circ_0000190* обладает сайтами связывания для ряда антионкогенных микроРНК (*miR-767-5p*, *miR-382-5p*, *miR-382-3p*, *miR-1299*, *miR-142-5p*), ее экспрессия ассоциирована с активацией каскада *EGFR-RAS-MAPK* и повышением продукции растворимого PD-L1 [37, 36]. Надо отметить, что независимая верификация диагностической значимости *hsa_circ_0000190* пока не проведена. Небольшое пилотное исследование указало на еще одну кандидатную молекулу — *CircFOXPI*, чьими мишенями служат микроРНК *miR-370-3p* и *miR-18a-5p* [38]. Существуют попытки использования комбинаций кольцевых РНК для неинвазивного выявления НМРЛ, например, детекция гиперэкспрессии в плазме *circ_0005962* и *circ_0086414* указывала на наличие у донора НМРЛ с 77,8 %-ной чувствительностью и 72,2 % специфичностью, при этом экспрессия *circ_0086414* сильнее повышалась у пациентов с EGFR-позитивными опухолями [39]. Кольцевые РНК могут косвенно свидетельствовать о наличии в опухоли клинически значимых мутаций: так, клетки НМРЛ с транслокацией *ALK* служат источником циркулирующего кольцевого транскрипта химерного гена *F-circEA*. В пионерской работе, посвященной *F-circEA*, данный транскрипт удалось выявить в плазме 83 % пациентов с вариантом 3b-транслокации *EML4-ALK* (но не с иными вариантами транслокации) [40]. Обнаружение гиперэкспрессии кольцевой РНК *circ_0082002* (*circMET*) в плазме указывало на амплификацию/повышенную экспрессию *MET* в опухолях [41]. К сожалению, у пациентов с утратой 14 экзона в гене *MET* данный маркер авторами исследования не оценивался. Интересная категория работ касается выявления предикторов эффективности/длительности ответа на таргетную терапию у пациентов с соответствующими мутационными мишенями. Так, рост концентрации *circ_0109320* в плазме больных EGFR-позитивным НМРЛ оказался связан

с увеличенным временем без прогрессирования на фоне терапии гефитинибом [42].

Помимо кольцевых РНК, в качестве маркеров могут рассматриваться и иные длинные некодирующие РНК. Интересна недавняя работа, в которой аномальная экспрессия различных длинных некодирующих транскриптов выявлялась даже в конденсате выдыхаемых водяных паров у больных НМРЛ [43].

РНК-маркеры в составе внеклеточных везикул

Наиболее распространенным видом неинвазивного анализа транскриптома опухоли являются исследования РНК-маркеров, заключенных в мембранные пузырьки — везикулы. Внеклеточные везикулы подразделяют на три основные категории, различные по размеру и биологическому происхождению: экзосомы (30–200 нм), микровезикулы (100–1000 нм), апоптотические тельца (> 1 000 нм) [44]. Созревание экзосом происходит внутри клетки, микровезикулы — результат выпячивания мембраны клетки с последующим «отшнуровыванием» пузырька с частью цитоплазмы. Наконец, апоптотические тельца — продукт программируемой гибели клетки. Все три указанные категории циркулирующих бесклеточных элементов содержат нуклеиновые кислоты. Несмотря на различный биогенез, четкую границу между экзосомами и микровезикулами провести сложно, как на уровне функциональных различий, так и на уровне детекции [45]. Эти элементы, по-видимому, выполняют функцию передачи межклеточных сигналов. Хотя поглощение экзосом может иметь и неспецифический характер, на мембране экзосомы имеются специализированные интегринные белки, позволяющие нацелить экзосому на преимущественное слияние с определенным типом клеток. Экзосомы способны проходить через мембрану некоторых клеток транзитом, не высвобождая содержимое; они встречаются во всех биологических жидкостях организма. Помимо наличия на их мембране и в цитоплазме белковых цитокинов, они могут содержать все известные категории РНК в своем составе, в т.ч. регуляторные микроРНК и мРНК.

Для выделения экзосом и микровезикул из крови применяют методики, основанные на ультрацентрифугировании, фильтрации, иммунопреципитации, прохождении через различные сортирующие микрофлюидные устройства и т.д. [46]. Несмотря на все усилия по стандартизации, методическое разнообразие, по-видимому, все еще затрудняет сопоставление результатов, полученных различными исследовательскими группами.

До сих пор не вполне ясно, насколько велика физиологическая роль экзосомного сигналинга в патогенезе опухолей. Установлено, что раковые клетки секретируют значительное количество экзосом/микровезикул, содержащих опухолеспецифичные транскрипты. В частности, экзосомы, выделенные *in vitro* устойчивыми к гефитинибу клетками, передают свойство резистентности гефитиниб-чувствительным клеткам [47].

Есть ряд работ, в рамках которых клинически значимые транслокации выявлялись за счет изучения транскриптома внеклеточных везикул. Так, по некоторым данным, чувствительность теста, основанного на определении химерных транскриптов *ALK* в экзосомах при помощи количественной или цифровой капельной ПЦР (ddPCR), составляет 50 %. Более того, у 98 % пациентов, демонстрировавших объективный ответ на кризотиниб или стабилизацию заболевания, в экзосомальной РНК перестают выявляться транслокации [48]. Еще одна работа продемонстрировала возможность проследить ответ *EGFR*-позитивного НМРЛ на таргетную терапию с помощью анализа экзосомальных транскриптов *EGFR*: в этих препаратах обнаруживались не только исходные активирующие мутации *EGFR*, но и мутация резистентности T790M; представленность мутантных транскриптов коррелировала с клиническим течением заболевания у 80 % пациентов [49]. В данном эксперименте эффективность детекции мутаций в РНК экзосом была выше, чем в циркулирующей опухолевой ДНК. Существуют работы, в которых сочетался анализ мутации T790M в гене *EGFR* в цоДНК, а также в РНК и ДНК экзосом — утверждается, что аналитические показатели комбинированного теста (92 % — чувствительность, 89 % — специфичность) превышают таковые для однокомпонентных подходов [50].

В экзосомах выявляют и специфичные для опухоли некодирующие РНК. В качестве примера можно привести длинную некодирующую РНК *RP5-977B1*, детекция которой в экзосомах позволила отличить больных НМРЛ I–II стадии от здоровых лиц и пациентов с туберкулезом легких с чувствительностью 80,5–81,8 % и специфичностью 75,3–77,5 % (в данное исследование вошло несколько сотен пациентов и онкологически здоровых лиц). Кроме того, высокая экспрессия *RP5-977B1* оказалась маркером плохого прогноза. Важно, что данная молекула в основном переносится экзосомами, почти не встречаясь в сыворотке крови в свободном виде [51]. Представляет интерес находка китайских исследователей, выяснивших, что экзосомальная экспрессия кольцевой РНК *circ_0002130* ассоциирована с резистентностью к осимертинибу: лишь ничтожная доля пациентов с вы-

сокой экспрессией этого маркера ответила на терапию [52]. Предположительно, роль данного транскрипта связана с инактивацией микроРНК *miR-498*. По результатам другого исследования, известная длинная некодирующая РНК *HOTTIP* оказалась хорошим экзосомальным маркером для мониторинга ответа НМРЛ на лечение и раннего выявления рецидивов [53]. Нужно, наконец, отметить, что экзосомы опухолевого происхождения могут в избытке обнаруживаться не только в крови, но и в мокроте, бронхоальвеолярной лаважной жидкости (смыве) и т.д. [54].

РНК-маркеры в клетках, циркулирующих в кровяном русле

Ранние работы по жидкостной биопсии рассматривали появление в крови цоРНК в качестве возможного суррогата детекции циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) [55]. На данный момент для целенаправленной изоляции ЦОК разработаны и одобрены специальные методы, например, с помощью иммуномагнитной системы CellSearch, распознающей эпителиальные клетки по маркеру EpCAM. Однако количественная ПЦР тканеспецифичных транскриптов все же иногда используется для приблизительного подсчета численности ЦОК в крови, а этот параметр, как известно, является универсальным неблагоприятным прогностическим маркером, в т.ч. и для НМРЛ [56]. В ЦОК, по определению, сохраняется опухолевый транскриптом, поэтому принципиально все клинически значимые мутации в циркулирующих клетках НМРЛ можно определять, анализируя соответствующие транскрипты, однако примеров таких работ практически не существует.

Достаточно новое направление — анализ транскриптома тромбоцитов, «обученных» опухолью (*tumor-educated platelets*). Несмотря на то, что тромбоциты представляют собой безъядерные производные мегакариоцитов, аппарат трансляции в них остается интактным и остаточные транскрипты цитоплазмы достаточно долго служат матрицей для синтеза белка. Помимо собственных транскриптов мегакариоцитарного происхождения, тромбоциты способны захватывать свободные экзогенные цоРНК, а также РНК экзосом. В транскриптоме тромбоцитов, взятых от онкологических пациентов, обнаруживаются различные транскрипты опухолевого происхождения и могут наблюдаться изменения в сплайсинге некоторых «собственных» мРНК. Так, одно из первых исследований в этом направлении показало большую чувствительность определения химерных транскриптов *EML4-ALK* в тромбоцитах, 22/34 (65 %) по сравнению с анализом свободно циркулирующих транскрип-

тов плазмы, 3/14 (21 %). Неожиданно выяснилось, что у пациентов с *ALK*-позитивным статусом тромбоцитов ответ на кризотиниб оказался необычно краткосрочным [57].

Существуют работы, в которых в качестве маркера для ранней диагностики НМРЛ избраны отдельные мРНК [58], небольшие панели РНК тромбоцитов [59] или экспрессионные профили. К числу последних относится пионерское исследование 2015 г., в котором разработанный авторами классификатор насчитывал более 1 000 РНК, а опухоли различных локализаций (в т.ч. НМРЛ) выявлялись с чувствительностью 97 и специфичностью 94 % [60]. Более новая версия теста, основанная на анализе 881 транскрипта, была недавно протестирована на крупной когорте больных НМРЛ различных стадий [61].

Эффективность анализа транскриптома тромбоцитов для различных опухолевых локализаций сильно различается, при этом значительная часть трудностей связана не с техническими нюансами, а с проблемой интерпретации полученных результатов. В этой связи современной альтернативой классическим биостатистическим методам является привлечение различных алгоритмов машинного обучения и/или нейросетей [60, 61].

Заключение

РНК-маркеры, используемые в целях жидкостной биопсии, чрезвычайно разнообразны по структуре, размеру, биологическим и функциональным свойствам; к числу потенциально пригодных аналитов относятся как свободно циркулирующие в крови РНК, так и «защищенные» транскрипты, находящиеся в составе клеток и внеклеточных везикул. Неудивительно, что в данной области существует большое разнообразие методик преаналитической обработки материала, экстракции РНК, оценки экспрессии, секвенирования, с трудом поддающихся стандартизации. Несмотря на значительные перспективы применения РНК-маркеров для жидкостной биопсии, ни один из них на данный момент не получил широкого признания. Примеры независимой валидации диагностической ценности каких-либо единичных цоРНК или РНК-панелей, а также успешного повторного применения «кандидатных» молекул в роли биомаркеров пока остаются редкостью. К исключениям относятся попытки анализа транскриптов генов-мишеней таргетных препаратов, применяемых для лечения НМРЛ с драйверными мутациями (*EGFR*). Важно подчеркнуть, что отдельные цоРНК-тесты могут превосходить по своим аналитическим показателям соответствующие стандартные варианты жидкостной биопсии на основе

цоДНК; в первую очередь это касается детекции циркулирующих химерных транскриптов, ассоциированных с клинически значимыми транслокациями (например, *ALK*). Очевидно, что быстрое накопление данных в этом направлении не может не привести к их дальнейшей систематизации и появлению методов неинвазивной РНК-диагностики, все же пригодных для рутинного клинического использования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Финансирование

Исследование было поддержано грантом Российского научного фонда № 23-45-10038.

Funding

This research was supported by the Russian Science Foundation (Grant No. 23-45-10038).

Участие авторов

Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE.

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

The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria.

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

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Bettgowda C., Sausen M., Leary R.J., et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med*. 2014; 6: 224ra224.-DOI: 10.1126/scitranslmed.3007094.
2. Kuligina E.S., Meerovich R., Zagorodnev K.A., et al. Content of circulating tumor DNA depends on the tumor type and the dynamics of tumor size, but is not influenced significantly by physical exercise, time of the day or recent meal. *Cancer Genet*. 2021; 256-257: 165-178.-DOI: 10.1016/j.cancergen.2021.05.014.
3. Kuligina E., Moiseyenko F., Belukhin S., et al. Tumor irradiation may facilitate the detection of tumor-specific mutations in plasma. *World J Clin Oncol*. 2021; 12(12): 1215-1226.-DOI: 10.5306/wjco.v12.i12.1215.
4. Downs B.M., Hoang T.M., Cope L. Increasing the capture rate of circulating tumor DNA in unaltered plasma using passive microfluidic mixer flow cells. *Langmuir*. 2023; 39(9): 3225-3234.-DOI: 10.1021/acs.langmuir.2c02919.
5. Tong F., Tang G., Wang X. Characteristics of human and microbiome RNA profiles in saliva. *RNA Biol*. 2023; 20(1): 398-408.-DOI: 10.1080/15476286.2023.2229596.
6. Tsakonas G., Tadigotla V., Chakraborty S.K., et al. Cerebrospinal fluid as a liquid biopsy for molecular characterization of brain metastasis in patients with non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2023; 182: 107292.-DOI: 10.1016/j.lungcan.2023.107292.

7. Zhao X., Zhong Y., Wang X., et al. Advances in circular RNA and its applications. *Int J Med Sci.* 2022; 19(6): 975-985.-DOI: 10.7150/ijms.71840.
8. Kopreski M.S., Benko F.A., Kwak L.W., Gocke C.D. Detection of tumor messenger RNA in the serum of patients with malignant melanoma. *Clin Cancer Res.* 1999; 5(8): 1961-5.
9. Wang C., Liu H. Factors influencing degradation kinetics of mRNAs and half-lives of microRNAs, circRNAs, lncRNAs in blood in vitro using quantitative PCR. *Sci Rep.* 2022; 12(1): 7259.-DOI: 10.1038/s41598-022-11339-w.
10. Sharova L.V., Sharov A.A., Nedorezov T., et al. Database for mRNA half-life of 19 977 genes obtained by DNA microarray analysis of pluripotent and differentiating mouse embryonic stem cells. *DNA Res.* 2009; 16(1): 45-58.-DOI: 10.1093/dnares/dsn030.
11. Vorperian S.K., Moufarrej M.N., Tabula Sapiens Consortium, Quake S.R. Cell types of origin of the cell-free transcriptome. *Nat Biotechnol.* 2022; 40(6): 855-861.-DOI: 10.1038/s41587-021-01188-9.
12. Larson M.H., Pan W., Kim H.J., et al. A comprehensive characterization of the cell-free transcriptome reveals tissue- and subtype-specific biomarkers for cancer detection. *Nat Commun.* 2021; 12(1): 2357.-DOI: 10.1038/s41467-021-22444-1.
13. Chen S., Jin Y., Wang S., et al. Cancer type classification using plasma cell-free RNAs derived from human and microbes. *Elife.* 2022; 11: e75181.-DOI: 10.7554/eLife.75181.
14. Albrecht L.J., Höwner A., Griewank K., et al. Circulating cell-free messenger RNA enables non-invasive pan-tumour monitoring of melanoma therapy independent of the mutational genotype. *Clin Transl Med.* 2022; 12(11): e1090.-DOI: 10.1002/ctm2.1090.
15. Reggiardo R.E., Maroli S.V., Peddu V., et al. Profiling of repetitive RNA sequences in the blood plasma of patients with cancer. *Nat Biomed Eng.* 2023; 7(12): 1627-35.-DOI: 10.1038/s41551-023-01081-7.
16. Khojah R., Reggiardo R.E., Ozen M., et al. Extracellular RNA signatures of mutant KRAS(G12C) lung adenocarcinoma cells. *bioRxiv.* 2022.-DOI: 10.1101/2022.02.23.481574.
17. Raez L.E., Danenberg K., Sumarriva D., et al. Using cfRNA as a tool to evaluate clinical treatment outcomes in patients with metastatic lung cancers and other tumors. *Cancer Drug Resist.* 2021; 4(4): 1061-1071.-DOI: 10.20517/cdr.2021.78.
18. Heeke S., Benzaquen J., Vallee A., et al. Detection of ALK fusion transcripts in plasma of non-small cell lung cancer patients using a novel RT-PCR based assay. *Ann Transl Med.* 2021; 9(11): 922.-DOI: 10.21037/atm-20-7900.
19. Hasegawa N., Kohsaka S., Kurokawa K., et al. Highly sensitive fusion detection using plasma cell-free RNA in non-small-cell lung cancers. *Cancer Sci.* 2021; 112(10): 4393-4403.-DOI: 10.1111/cas.15084.
20. Dragomir M.P., Knutsen E., Calin G.A. Classical and noncanonical functions of miRNAs in cancers. *Trends Genet.* 2022; 38(4): 379-394.-DOI: 10.1016/j.tig.2021.10.002.
21. Huang H.Y., Lin Y.C., Cui S., et al. miRTarBase update 2022: an informative resource for experimentally validated miRNA-target interactions. *Nucleic Acids Res.* 2022; 50(D1): D222-D230.-DOI: 10.1093/nar/gkab1079.
22. Wang C., Ding M., Xia M., et al. A five-miRNA panel identified from a multicentric case-control study serves as a novel diagnostic tool for ethnically diverse non-small-cell lung cancer patients. *EBioMedicine.* 2015; 2(10): 1377-85.-DOI: 10.1016/j.ebiom.2015.07.034.
23. Iacona J.R., Lutz C.S. miR-146a-5p: Expression, regulation, and functions in cancer. *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2019; 10(4): e1533.-DOI: 10.1002/wrna.1533.
24. Dama E., Colangelo T., Fina E., et al. Biomarkers and lung cancer early detection: State of the art. *Cancers (Basel).* 2021; 13(15): 3919.-DOI: 10.3390/cancers13153919.
25. Sozzi G., Boeri M., Rossi M., et al. Clinical utility of a plasma-based miRNA signature classifier within computed tomography lung cancer screening: a correlative MILD trial study. *J Clin Oncol.* 2014; 32(8): 768-73.-DOI: 10.1200/JCO.2013.50.4357.
26. Wozniak M.B., Scelo G., Muller D.C., et al. Circulating MicroRNAs as non-invasive biomarkers for early detection of non-small-cell lung cancer. *PLoS One.* 2015; 10(5): e0125026.-DOI: 10.1371/journal.pone.0125026.
27. Ying L., Du L., Zou R., et al. Development of a serum miRNA panel for detection of early stage non-small cell lung cancer. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2020; 117(40): 25036-25042.-DOI: 10.1073/pnas.2006212117.
28. Chen C., Wang J., Lu D., et al. Early detection of lung cancer via biointerference-free, target microRNA-triggered core-satellite nanocomposites. *Nanoscale.* 2022; 14(22): 8103-8111.-DOI: 10.1039/d1nr07670a.
29. Fehlmann T., Kahraman M., Ludwig N., et al. Evaluating the use of circulating microRNA profiles for lung cancer detection in symptomatic patients. *JAMA Oncol.* 2020; 6(5): 714-723.-DOI: 10.1001/jamaoncol.2020.0001.
30. Asakura K., Kadota T., Matsuzaki J., et al. A miRNA-based diagnostic model predicts resectable lung cancer in humans with high accuracy. *Commun Biol.* 2020; 3(1): 134.-DOI: 10.1038/s42003-020-0863-y.
31. Matsuzaki J., Kato K., Oono K., et al. Prediction of tissue-of-origin of early stage cancers using serum miRNomes. *JNCI Cancer Spectr.* 2023; 7(1): pkac080.-DOI: 10.1093/jncics/pkac080.
32. Yi M., Liao Z., Deng L., et al. High diagnostic value of miRNAs for NSCLC: quantitative analysis for both single and combined miRNAs in lung cancer. *Ann Med.* 2021; 53(1): 2178-2193.-DOI: 10.1080/07853890.2021.2000634.
33. Mattick J.S., Amaral P.P., Carninci P., et al. Long non-coding RNAs: definitions, functions, challenges and recommendations. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2023; 24(6): 430-447.-DOI: 10.1038/s41580-022-00566-8.
34. Choi S.S., Kim S.E., Oh S.Y., Ahn Y.H. Clinical implications of circulating circular RNAs in lung cancer. *Biomedicine.* 2022; 10(4): 871.-DOI: 10.3390/biomedicine10040871.
35. Zhao S., Li S., Liu W., et al. Circular RNA signature in lung adenocarcinoma: A MiOncoCirc database-based study and literature review. *Front Oncol.* 2020; 10: 523342.-DOI: 10.3389/fonc.2020.523342.
36. Luo Y.H., Yang Y.P., Chien C.S., et al. Circular RNA hsa_circ_0000190 facilitates the tumorigenesis and immune evasion by upregulating the expression of soluble PD-L1 in non-small-cell lung cancer. *Int J Mol Sci.* 2021; 23(1): 64.-DOI: 10.3390/ijms23010064.
37. Ishola A.A., Chien C.S., Yang Y.P., et al. Oncogenic circRNA C190 promotes non-small cell lung cancer via modulation of the EGFR/ERK pathway. *Cancer Res.* 2022; 82(1): 75-89.-DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-21-1473.
38. Luo Y., Zhang Q., Lv B., et al. CircFOXPI: A novel serum diagnostic biomarker for non-small cell lung cancer. *Int J Biol Markers.* 2022; 37(1): 58-65.-DOI: 10.1177/17246008211073151.

39. Liu X.X., Yang Y.E., Liu X., et al. A two-circular RNA signature as a noninvasive diagnostic biomarker for lung adenocarcinoma. *J Transl Med.* 2019; 17(1): 50.-DOI: 10.1186/s12967-019-1800-z.
40. Tan S., Gou Q., Pu W., et al. Circular RNA F-circEA produced from EML4-ALK fusion gene as a novel liquid biopsy biomarker for non-small cell lung cancer. *Cell Res.* 2018; 28(6): 693-695.-DOI: 10.1038/s41422-018-0033-7.
41. Bersani F., Picca F., Morena D., et al. Swarm intelligence-enhanced detection of non-small-cell lung cancer using tumor-educated platelets. *Cancer Cell.* 2017; 32(2): 238-252. e9.-DOI: 10.1016/j.ccell.2017.07.004.
42. Liu Y.T., Han X.H., Xing P.Y., et al. Circular RNA profiling identified as a biomarker for predicting the efficacy of Gefitinib therapy for non-small cell lung cancer. *J Thorac Dis.* 2019; 11(5): 1779-1787.-DOI: 10.21037/jtd.2019.05.22.
43. Vardarlı A., Ozgur S., Goksel T., et al. Conversion of specific lncRNAs to biomarkers in exhaled breath condensate samples of patients with advanced stage non-small-cell lung cancer. *Front Genet.* 2023; 14: 1200262.-DOI: 10.3389/fgene.2023.1200262.
44. Gurung S., Perocheau D., Touramanidou L., Baruteau J. The exosome journey: from biogenesis to uptake and intracellular signalling. *Cell Commun Signal.* 2021; 19(1): 47.-DOI: 10.1186/s12964-021-00730-1.
45. Jeppesen D.K., Fenix A.M., Franklin J.L., et al. Reassessment of Exosome Composition. *Cell.* 2019; 177(2): 428-445.e18.-DOI: 10.1016/j.cell.2019.02.029.
46. Wang X., Xia J., Yang L., et al. Recent progress in exosome research: isolation, characterization and clinical applications. *Cancer Gene Ther.* 2023; 30(8): 1051-1065.-DOI: 10.1038/s41417-023-00617-y.
47. Wei S.L., Ye J.J., Sun L., et al. Exosome-derived circKIF20B suppresses gefitinib resistance and cell proliferation in non-small cell lung cancer. *Cancer Cell Int.* 2023; 23(1): 129.-DOI: 10.1186/s12935-023-02974-y.
48. Sánchez-Herrero E., Campos-Silva C., Cáceres-Martell Y., et al. ALK-fusion transcripts can be detected in extracellular vesicles (EVs) from nonsmall cell lung cancer cell lines and patient plasma: toward EV-based noninvasive testing. *Clin Chem.* 2022; 68(5): 668-679.-DOI: 10.1093/clinchem/hvac021.
49. Purcell E., Owen S., Prantzas E., et al. Epidermal growth factor receptor mutations carried in extracellular vesicle-derived cargo mirror disease status in metastatic non-small cell lung cancer. *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9: 724389.-DOI: 10.3389/fcell.2021.724389.
50. Castellanos-Rizaldos E., Grimm D.G., Tadigotla V., et al. Exosome-based detection of EGFR T790M in plasma from non-small cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2018; 24(12): 2944-2950.-DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-3369.
51. Min L., Zhu T., Lv B., et al. Exosomal lncRNA RP5-977B1 as a novel minimally invasive biomarker for diagnosis and prognosis in non-small cell lung cancer. *Int J Clin Oncol.* 2022; 27(6): 1013-1024.-DOI: 10.1007/s10147-022-02129-5.
52. Ma J., Qi G., Li L. A novel serum exosomes-based biomarker hsa_circ_0002130 facilitates osimertinib-resistance in non-small cell lung cancer by sponging miR-498. *Oncotargets Ther.* 2020; 13: 5293-5307.-DOI: 10.2147/OTT.S243214.
53. Han B., Marrades R.M., Viñolas N., et al. Monitoring HOT-TIP levels on extracellular vesicles for predicting recurrence in surgical non-small cell lung cancer patients. *Transl Oncol.* 2021; 14(8): 101144.-DOI: 10.1016/j.tranon.2021.101144.
54. He X., Park S., Chen Y., Lee H. Extracellular vesicle-associated miRNAs as a biomarker for lung cancer in liquid biopsy. *Front Mol Biosci.* 2021; 8: 630718.-DOI: 10.3389/fmolb.2021.630718.
55. Chen T.F., Jiang G.L., Fu X.L., et al. CK19 mRNA expression measured by reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) in the peripheral blood of patients with non-small cell lung cancer treated by chemo-radiation: an independent prognostic factor. *Lung Cancer.* 2007; 56(1): 105-114.-DOI: 10.1016/j.lungcan.2006.11.006.
56. Jin F., Zhu L., Shao J., et al. Circulating tumour cells in patients with lung cancer universally indicate poor prognosis. *Eur Respir Rev.* 2022; 31(166): 220151.-DOI: 10.1183/16000617.0151-2022.
57. Nilsson R.J., Karachaliou N., Berenguer J., et al. Rearranged EML4-ALK fusion transcripts sequester in circulating blood platelets and enable blood-based crizotinib response monitoring in non-small-cell lung cancer. *Oncotarget.* 2016; 7(1): 1066-75.-DOI: 10.18632/oncotarget.6279.
58. Dong X., Song X., Ding S., et al. Tumor-educated platelet SNORD55 as a potential biomarker for the early diagnosis of non-small cell lung cancer. *Thorac Cancer.* 2021; 12(5): 659-666.-DOI: 10.1111/1759-7714.13823.
59. Goswami C., Chawla S., Thakral D., et al. Molecular signature comprising 11 platelet-genes enables accurate blood-based diagnosis of NSCLC. *BMC Genomics.* 2020; 21(1): 744.-DOI: 10.1186/s12864-020-07147-z.
60. Best M.G., Sol N., Kooi I., et al. RNA-Seq of tumor-educated platelets enables blood-based pan-cancer, multiclass, and molecular pathway cancer diagnostics. *Cancer Cell.* 2015; 28(5): 666-676.-DOI: 10.1016/j.ccell.2015.09.018.
61. Antunes-Ferreira M., D'Ambrosi S., Arkani M., et al. Tumor-educated platelet blood tests for non-small cell lung cancer detection and management. *Sci Rep.* 2023; 13(1): 9359.-DOI: 10.1038/s41598-023-35818-w.

Поступила в редакцию / Received / 27.10.2023

Прошла рецензирование / Reviewed / 18.11.2023

Принята к печати / Accepted for publication / 21.12.2023

Сведения об авторах / Author information / ORCID

Александр Сергеевич Мартынов / Aleksandr S. Martianov / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7690-8328>.

Григорий Аркадьевич Янус / Grigory A. Yanus / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9844-4536>.

Екатерина Шотовна Кулигина / Ekaterina Sh. Kuligina / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2396-6540>.

Анна Сергеевна Портянко / Anna S. Portyanko / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2399-117X>.

Александр Викторович Того / Alexandr V. Togo / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3830-8364>.

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

