

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-1-96-108>

Протеомный анализ плазмы крови как инструмент для персонализированной диагностики аденокарциномы легкого

Д.Н. Коробков¹, А.С. Кононихин², С.Д. Семенов^{2,3}, Е.Л. Кордзая⁴, А.Г. Бржозовский², А.Е. Бугрова^{2,5}, Е.Ю. Васильева^{4,6}, Д.Ю. Каннер¹, Е.Н. Николаев², А.А. Комиссаров^{4,6}

¹ГБУЗ г. Москвы «Московская городская онкологическая больница № 62 Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 143515 Московская обл., п. Истра, 27;

²АНОО ВО «Сколковский институт науки и технологий»; Россия, 121205 Москва, территория инновационного центра «Сколково», Большой бульвар, 30 стр. 1;

³ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)»; Россия, 117303 Москва, ул. Керченская, 1а, корп. 1;

⁴ГБУЗ «Городская клиническая больница им. И.В. Давыдовского Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 109240 Москва, ул. Яузская, 11/6;

⁵ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук»; Россия, 119334 Москва, ул. Косыгина, 4;

⁶ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России; Россия, 127006 Москва, ул. Долгоруковская, 4

Контакты: Алексей Александрович Комиссаров komissarovlexa@yandex.ru, Евгений Николаевич Николаев e.nikolaev@skoltech.ru

Введение. Рак легкого занимает 2-е место по частоте заболеваемости и 1-е место по смертности среди других онкологических патологий. Несмотря на значительный успех в диагностике и лечении опухолей, 5-летняя выживаемость при данной патологии на протяжении многих лет составляет всего 19 %, что в значительной степени связано с поздним выявлением заболевания. Кроме того, развитие метастазов снижает показатели 5-летней выживаемости до 6 %.

Цель исследования – проанализировать протеом плазмы крови здоровых добровольцев и пациентов с аденокарциномой легкого (АКЛ) как одной из наиболее распространенных форм рака легкого для идентификации белков, являющихся потенциальными биомаркерами данной патологии и наличия отдаленных метастазов.

Материалы и методы. В исследование включены 30 здоровых добровольцев и 30 пациентов с диагностированной АКЛ. С применением жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии в сочетании с методом мониторинга множественных реакций мы проанализировали представленность широкого спектра белков в плазме крови участников исследования. Полученные данные оценены с помощью современных методов биологической статистики, в том числе с использованием алгоритмов машинного обучения.

Результаты. На основании результатов количественного анализа 118 белков плазмы крови в экспериментальных группах мы предложили панель из 12 значимых белков, являющихся специфическими маркерами АКЛ. Дополнительно идентифицированы 3 белка, позволяющие предсказывать наличие отдаленных метастазов у пациентов с АКЛ. Классификаторы, построенные на основании данных панелей белков, позволяют различать пациентов с АКЛ и здоровых лиц, а также выявлять метастазы у больных АКЛ с чувствительностью и специфичностью более 90 %.

Заключение. Полученные данные могут быть использованы для разработки новых тестов для скрининга АКЛ и прогнозирования исходов заболевания на основании протеома плазмы крови. После дополнительной валидации и внедрения в клиническую практику эти тесты будут способствовать ранней диагностике АКЛ и, как следствие, повышению выживаемости пациентов.

Ключевые слова: масс-спектрометрия, белок, биомаркер, протеомика, рак легкого, аденокарцинома легкого, метастазы

Для цитирования: Коробков Д.Н., Кононихин А.С., Семенов С.Д. и др. Протеомный анализ плазмы крови как инструмент для персонализированной диагностики аденокарциномы легкого. Успехи молекулярной онкологии 2025;12(1):96–108.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-1-96-108>

Proteomic analysis of blood plasma as a tool for personalized diagnosis of lung adenocarcinoma

D.N. Korobkov¹, A.S. Kononikhin², S.D. Semenov^{2,3}, H.L. Kordzaya⁴, A.G. Brzhozovskiy², A.E. Bugrova^{2,5}, E.Yu. Vasilieva^{4,6}, D.Yu. Kanner¹, E.N. Nikolaev², A.A. Komissarov^{4,6}

¹Moscow City Oncological Hospital No. 62, Moscow Healthcare Department; 27 Istra, Moscow Region 143515, Russia;

²Skolkovo Institute of Science and Technology; Bld. 1, 30 Bolshoy Bul'var, Moscow 121205, Russia;

³Moscow Institute of Physics and Technology; Bld. 1, 1a Kerchenskaya St., Moscow 117303, Russia;

⁴Moscow City Clinical Hospital named after I.V. Davydovsky, 11/6 Yauzskaya St., Moscow 109240, Russia;

⁵Emanuel Institute for Biochemical Physics, Russian Academy of Science; 4 Kosygina St., Moscow 119334, Russia;

⁶Russian University of Medicine; 4 Dolgorukovskaya St., Moscow 127006, Russia

Contacts: Alexey Aleksandrovich Komissarov komissarovlexa@yandex.ru, Evgeniy Nikolaevich Nikolaev e.nikolaev@skoltech.ru

Introduction. Lung cancer ranks second in incidence and first in mortality among other oncological pathologies. Despite significant success in the diagnosis and treatment of tumors, the five-year survival rate for lung cancer is only 19 % and has not improved significantly in recent decades, which is mainly associated with late detection of the disease. In addition, the development of metastases reduces the five-year survival rate to 6 %.

Aim. To analyze the plasma proteome of healthy volunteers and patients with lung adenocarcinoma (LAC), as one of the most common forms of lung cancer, to identify proteins that are potential biomarkers of LAC and of the presence of distant metastases.

Materials and methods. The study included 30 healthy donors and 30 patients with diagnosed LAC. Using a combination of liquid chromatography and tandem mass spectrometry in combination with the method of multiple reactions monitoring, we analyzed the representation of a wide range of proteins in the blood plasma of the study participants. The data obtained were analyzed using modern methods of biological statistics, including machine learning algorithms.

Results. Based on the quantitative analysis of 118 proteins in blood plasma between the experimental groups, we proposed a panel of 12 significant proteins that are specific markers of LAC. Additionally, we identified three proteins that predict the presence of distant metastases among patients with LAC. Classifiers developed based on these protein panels make it possible to distinguish between patients with LAC and healthy controls, as well as to detect the presence of metastases among patients with LAC, with sensitivity and specificity of more than 90 %.

Conclusion. The data obtained can be used to develop new tests for LAC screening and predicting disease outcomes based on the blood plasma proteome. After additional validation and implementation into clinical practice, these tests can contribute to the early diagnosis of LAC and, as a result, increase patient survival.

Keywords: mass spectrometry, protein, biomarker, proteomics, lung cancer, lung adenocarcinoma, metastases

For citation: Korobkov D.N., Kononikhin A.S., Semenov S.D. et al. Proteomic analysis of blood plasma as a tool for personalized diagnosis of lung adenocarcinoma. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2025;12(1):96–108. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-1-96-108>

ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным мировой статистики в настоящее время рак легкого (РЛ) занимает 2-е место по частоте заболеваемости и 1-е место по смертности среди других онкологических патологий [1, 2]. В Российской Федерации РЛ составляет около 11 % всех вновь диагностированных онкологических заболеваний (~60 тыс. случаев в год) и ежегодно уносит жизнь приблизительно 50 тыс. человек [3]. Примечательно, что в 15 % случаев РЛ выявляют у людей, которые никогда не курили, а в 50 % — у тех, кто бросил курить. При этом 5-летняя выживаемость при РЛ на протяжении долгого времени составляет всего 19 %, что в значительной степени связано с диагностикой заболевания на поздних стадиях. Кроме того, развитие метастазов снижает показатели 5-летней выживаемости до 6 %.

В связи с этим актуальным направлением современных биомедицинских исследований является создание малоинвазивных методов исследования и скрининга

пациентов с РЛ. Результаты подобных исследований могут стать основой для разработки новых эффективных подходов для ранней диагностики РЛ. В настоящее время основным методом оценки состояния легких при диспансеризации является проведение флюорографического исследования, которое выявляет новообразования на поздних стадиях. Компьютерная томография — обнадеживающий, но довольно дорогой и ресурсозатратный метод диагностики и потому не может быть использована при проведении массовой диспансеризации населения; к тому же она часто дает ложноположительные результаты [4]. Таким образом, сегодня крайне востребованы исследования, направленные на разработку новых подходов к диагностике РЛ и оценке состояния пациентов.

Достижения последних лет в области молекулярной биологии привели к созданию высокопроизводительных методов, позволяющих анализировать сотни и тысячи биологически активных молекул в одном образце.

Эти методы лежат в основе так называемых омиксных технологий, которые представляют собой подходы к детекции широкого спектра молекул, включая ДНК, РНК, белки и их производные [5]. Данные технологии позволяют получить детальную характеристику биологических образцов за относительно короткое время и с низкими трудозатратами, что делает их ценным инструментом для современных биомедицинских исследований.

В норме в организме человека управление физиологическими процессами и органами со стороны регуляторной системы во многом осуществляется через кровь. Кроме того, ряд патологических процессов, в частности онкологические и инфекционные заболевания, способны оказывать влияние на ее состав. Все это позволяет рассматривать кровь (и ее компоненты) как универсальный информационный центр, из которого можно получать данные о состоянии организма, например, исследуя ее с помощью омиксных технологий. Белки в живых организмах выполняют широкий спектр функций, часто выступая главными участниками или регуляторами физиологических процессов, причем как в норме, так и при патологиях. В связи с этим протеомный анализ крови и других биологических жидкостей с использованием масс-спектрометрии уже нашел применение в нескольких областях медицины. Он применяется для оценки токсикологического действия лекарственных препаратов [6], определения концентрации гормонов и белков иммунной системы [7, 8], а также для выявления наследственных патологий у новорожденных [9]. Кроме того, результаты ряда исследований показали, что масс-спектрометрический анализ протеома крови может служить основой для разработки методов диагностики различных заболеваний человека [10]. Благодаря малоинвазивному, быстрому и безопасному забору кровь может быть удобным диагностическим образцом, используемым в персонализированных приборах мониторинга состояния организма (так называемая жидкая биопсия) [11, 12]. Забор такой пробы может быть осуществлен даже в очень тяжелых случаях и повторен через короткие интервалы времени. Таким образом, количественные измерения белкового профиля (протеома) крови с помощью масс-спектрометрии могут стать удобным инструментом для разработки новых эффективных методов диагностики РЛ и отслеживания течения заболевания.

В настоящей работе методом таргетной (целевой) высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС) на основе мониторинга множественных реакций (MRM) проведен мультиплексный анализ 118 белков в плазме крови 30 здоровых добровольцев и 30 пациентов с аденокарциномой легкого (АКЛ). В результате исследования предложена панель из 12 белков плазмы крови, рассматриваемая как специфичная белковая сигнатура АКЛ. С использованием этой панели разработан классификатор, позволяющий выявлять пациентов

с АКЛ с 95 % точностью. Кроме того, разработана панель из 3 белков плазмы, являющихся потенциальными маркерами отдаленных метастазов у пациентов с АКЛ. Представленность двух из них в плазме крови пациентов с АКЛ позволяет выявить метастатическое поражение с чувствительностью и специфичностью более 90 %.

Цель исследования — проанализировать протеом плазмы крови здоровых добровольцев и пациентов с АКЛ как одной из наиболее распространенных форм рака легкого для идентификации белков, являющихся потенциальными биомаркерами данной патологии и наличия отдаленных метастазов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Участники исследования и исследуемые образцы.

В исследование включены 30 пациентов с АКЛ, которые получали лечение в Московской городской онкологической больнице № 62, а также 30 здоровых добровольцев, наблюдавшихся в консультативно-диагностическом центре на базе Городской клинической больницы им. И.В. Давыдовского (г. Москва). Всем участникам проведены физикальный осмотр, инструментальное обследование, а также выполнен забор венозной крови с последующим выделением и криоконсервацией плазмы. Диагноз АКЛ устанавливали на основании данных компьютерной томографии органов грудной клетки и иммуногистохимического исследования биопсийного материала. Критериями включения в группу здоровых добровольцев являлось отсутствие онкологических заболеваний (как в момент включения, так и в анамнезе), вируса иммунодефицита человека и острых вирусных заболеваний.

Характеристика участников исследования представлена в табл. 1.

Протеомный анализ плазмы крови. Десять мкл плазмы крови растворяли в буфере, содержащем 7,2 М мочевины, 16 мМ дитиотреитола (ДТТ) и 240 мМ TrisHCl (pH 8,0), и инкубировали 30 мин при 37 °С для денатурации белков и восстановления –SH групп цистеинов. Для алкилирования добавляли 40 мМ йодацетамида и инкубировали 30 мин при комнатной температуре в темноте. Для трипсинолиза добавляли трипсин (Trypsin gold, Promega, США) в соотношении фермент – белок 1:25 и инкубировали образцы в течение ночи (18 ч) при 37 °С. В конце гидролиз тормозили подкислением среды 1,0 % муравьиной кислоты (FA), pH ≤2. Расчетная концентрация полученной пептидной смеси в гидролизате составляла 1 мкг/мкл.

Протеомный анализ проводили с использованием ВЭЖХ-МС в режиме мониторинга множественных реакций (MRM). Для количественного анализа использовали набор синтетических меченных стабильными изотопами пептидных стандартов (SIS), который добавляли в каждую пробу-гидролизат в качестве внутреннего стандарта для измерения соответствующих белков плазмы крови. Для анализа 10 мкл каждого образца наносили для разделения на колонку Zorbax

Таблица 1. Характеристика участников исследования

Table 1. Characteristics of the study participants

Параметр Parameter	Пациенты с аденокарциномой легкого (n = 30) Patients with lung adenocarcinoma (n = 30)	Здоровые добровольцы (n = 30) Healthy volunteers (n = 30)	p
Число мужчин, n (%) Number of males, n (%)	23 (77)	13 (43)	0,017
Возраст (межквартильный размах), лет Age (interquartile range), years	61,9 (55,6–68,9)	52,3 (46,5–59,2)	0,020
Курящие, n (%) Smokers, n (%)	22 (73)	6 (20)	<0,001
Индекс массы тела (межквартильный размах), кг/м ² Body mass index (interquartile range), kg/m ²	25,8 (23,0–29,0)	25,8 (22,9–28,8)	0,834
Дебют заболевания, n (%) Disease onset, n (%)	17 (57)	–	–
Стадия заболевания, n (%): Disease stage, n (%):			
I	1 (3)	–	–
II	1 (3)	–	–
III	13 (44)	–	–
IV	15 (50)	–	–
Метастазы, n (%) Metastases, n (%)	16 (53)	–	–
Иммунотерапия в анамнезе, n (%) History of immunotherapy, n (%)	11 (37)	–	–
Лучевая терапия в анамнезе, n (%) History of radiotherapy, n (%)	7 (23)	–	–

Примечание. Жирным шрифтом обозначены значения уровня достоверности $p < 0,05$.

Note. Significance level $p < 0.05$ is highlighted in bold.

Eclipse Plus с обращенной фазой (RP-UHPLC) ($2,1 \times 150$ мм, диаметр частиц 1,8 мкм; Agilent, США) с использованием ВЭЖХ-системы ExionLC™ (ThermoFisher Scientific, США). Пептиды разделяли при скорости потока 0,4 мл/мин в течение 60 мин с помощью многоступенчатого градиента. Параметры для ВЭЖХ-МС-анализа адаптированы и оптимизированы на основе результатов предыдущих исследований [13].

Статистический анализ данных. Количественный анализ данных ВЭЖХ-МС проводили с использованием программного обеспечения Skyline Quantitative Analysis (версия 20.2.0.343). Статистический анализ и визуализацию данных выполняли с помощью Python (3.7.3) с применением пакетов SciPy, Seaborn, Matplotlib, Pandas и Scikit-learn.

Значимые различия в концентрациях белков в группах пациентов оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни, поправки на множественные сравнения с применением метода Бенджамини–Хохберга, а также коэффициента d Коэна. Для визуализации многомерных данных использовали метод главных компонент (PCA).

В качестве классификационной модели применяли модель логистической регрессии как с L1-регуляризацией (регрессия LASSO), так и без нее. Важность признаков рассчитывали как модуль веса признака, нормированный нормой L2. Перед проведением анализа данные были логарифмированы по основанию 2, отсутствующие значения заполнены значениями из нормального распределения, параметры которого определялись по соответствующим подвыборкам.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По сравнению со здоровыми добровольцами ($n = 30$) пациенты с АКЛ ($n = 30$) были значимо старше. Также в группе АКЛ мужчин и курящих было больше, чем в группе контроля (см. табл. 1), что ожидаемо, поскольку данные параметры являются общеизвестными факторами риска развития РЛ [14].

Помимо клинических данных участников исследования мы проанализировали представленность широкого спектра белков в плазме периферической крови с помощью метода таргетной (целевой) ВЭЖХ-МС на основе мониторинга MRM [15] с использованием SIS.

Таблица 2. Белки плазмы крови, дифференциально представленные в экспериментальных группах

Table 2. Plasma proteins differentially abundant in the experimental groups

Белок Protein	Коэффициент d Коэна Cohen's d	Представленность белка в плазме* Protein abundance in plasma*		p	q**
		Аденокарцинома легкого (n = 30) Lung adenocarcinoma (n = 30)	Контроль (n = 30) Control (n = 30)		
α -1-кислый гликопротеин (A1AG1) α -1-acid glycoprotein (A1AG1)	1,43	9,72 (9,44–10,26)	10,52 (10,13–11,14)	$4,58 \times 10^{-6}$	$8,92 \times 10^{-5}$
α -1-антитрипсин (A1AT) α -1 antitrypsin (A1AT)	1,85	11,91 (11,77–12,10)	12,47 (12,31–12,64)	$5,08 \times 10^{-8}$	$2,97 \times 10^{-6}$
Богатый лейцином α -2-гликопротеин (A2GL) Leucin-rich α -2 glycoprotein	2,12	5,46 (5,29–5,82)	6,68 (6,14–7,17)	$1,10 \times 10^{-8}$	$1,29 \times 10^{-6}$
Цитидин-дезаминаза APOBEC-3F (ABC3F) Cytidine deaminase APOBEC-3F (ABC3F)	0,83	7,42 (7,20–7,58)	7,69 (7,50–7,83)	$2,15 \times 10^{-3}$	$8,13 \times 10^{-3}$
Аполипопротеин В-100 (АРОВ) Apolipoprotein B-100 (APOB)	0,81	4,95 (4,14–5,22)	5,56 (5,00–6,04)	$3,58 \times 10^{-3}$	$1,16 \times 10^{-2}$
Антиген CD44 CD44 antigen	1,05	1,57 (1,35–1,80)	1,99 (1,68–2,16)	$2,25 \times 10^{-4}$	$1,55 \times 10^{-3}$
Фактор I системы комплемента (CFAI) Complement factor I (CFAI)	1,09	5,22 (5,00–5,47)	5,53 (5,43–5,64)	$8,14 \times 10^{-5}$	$8,65 \times 10^{-4}$
β -Ала-Нис дипептидаза (CNDP1) β -Ala-His dipeptidase (CNDP1)	-1,02	2,31 (2,11–2,58)	1,90 (1,69–2,15)	$1,78 \times 10^{-4}$	$1,39 \times 10^{-3}$
Фактор C2 системы комплемента (CO2) Complement factor C2 (CO2)	0,98	2,85 (2,67–3,08)	3,19 (3,02–3,37)	$4,10 \times 10^{-4}$	$2,35 \times 10^{-3}$
Фактор C5 системы комплемента (CO5) Complement factor C5 (CO5)	0,86	5,72 (5,50–5,90)	5,93 (5,69–6,09)	$3,76 \times 10^{-3}$	$1,16 \times 10^{-2}$
Фактор C8 системы комплемента, α -цепь (CO8A) Complement factor C8, α chain (CO8A)	0,86	5,41 (5,22–5,58)	5,71 (5,52–5,85)	$6,03 \times 10^{-4}$	$2,82 \times 10^{-3}$
Фактор C8 системы комплемента, β -цепь (CO8B) Complement factor C8, β chain (CO8B)	1,17	2,88 (2,77–3,07)	3,30 (3,06–3,52)	$5,60 \times 10^{-5}$	$6,55 \times 10^{-4}$
Фактор C9 системы комплемента (CO9) Complement factor C9 (CO9)	1,55	4,75 (4,26–4,95)	5,49 (5,12–5,72)	$2,78 \times 10^{-7}$	$1,08 \times 10^{-5}$
C-реактивный белок (CRP) C-reactive protein (CRP)	1,03	2,17 (1,28–3,53)	4,16 (2,54–6,08)	$1,06 \cdot 10^{-3}$	$4,27 \cdot 10^{-3}$
Цистатин С (CYTC) Cystatin C (CYTC)	0,94	3,57 (3,39–3,66)	3,82 (3,62–3,93)	$3,87 \times 10^{-4}$	$2,35 \times 10^{-3}$
Фиколин-2 (FCN2) Ficolin 2 (FCN2)	0,81	1,46 (1,01–1,83)	2,16 (1,58–2,40)	$2,89 \times 10^{-3}$	$9,95 \times 10^{-3}$
Гемопексин (HEMO) Hemopexin (HEMO)	1,13	10,75 (10,60–10,86)	11,03 (10,80–11,14)	$1,63 \times 10^{-4}$	$1,36 \times 10^{-3}$
Ингибитор протеазы C1 плазмы (IC1) Plasma protease C1 inhibitor (IC1)	1,52	7,50 (7,36–7,65)	7,88 (7,65–8,07)	$6,49 \times 10^{-7}$	$1,90 \times 10^{-5}$
Белок-2, связывающий инсулиноподоб- ный фактор роста (IGFBP2) Insulin-like growth factor binding protein 2 (IGFBP2)	1,23	1,55 (1,09–1,90)	2,34 (1,96–2,55)	$2,96 \times 10^{-5}$	$4,33 \times 10^{-4}$

Окончание табл. 2

End of table 2

Белок Protein	Коэффициент d Козна Cohen's d	Представленность белка в плазме* Protein abundance in plasma*		p	q**
		Аденокарцинома легкого (n = 30) Lung adenocarcinoma (n = 30)	Контроль (n = 30) Control (n = 30)		
Плазменный ингибитор сериновых протеиназ (IPSP) Plasma serine proteinase inhibitor (IPSP)	-0,98	5,85 (5,63–6,00)	5,53 (5,25–5,80)	$3,56 \times 10^{-4}$	$2,31 \times 10^{-3}$
Каллистатин (KAIN) Kallistatin (KAIN)	-0,96	3,26 (3,09–3,48)	3,02 (2,92–3,28)	$1,03 \times 10^{-3}$	$4,27 \times 10^{-3}$
Липополисахарид-связывающий белок (LBP) Liposaccharide-binding protein (LBP)	1,14	4,57 (4,12–4,79)	5,04 (4,91–5,83)	$1,25 \times 10^{-4}$	$1,12 \times 10^{-3}$
L-селектин (LYAM1) L-selectin (LYAM1)	-0,99	6,00 (5,90–6,19)	5,74 (5,57–6,04)	$5,56 \times 10^{-4}$	$2,82 \times 10^{-3}$
Лизоцим С (LYSC) Lysozyme C (LYSC)	1,26	3,73 (3,55–3,88)	4,27 (3,97–4,51)	$6,05 \times 10^{-6}$	$1,01 \times 10^{-4}$
Маннозсвязывающая лектин-ассоциированная сериновая протеаза 2 (MASP2A) Mannose-binding lectin-associated serine protease 2 (MASP2A)	0,85	6,07 (5,11–6,40)	6,55 (6,18–6,96)	$2,82 \times 10^{-3}$	$9,95 \times 10^{-3}$
Маннозсвязывающий лектин (MBL2) Mannose-binding lectin (MBL2)	1	4,52 (3,71–5,17)	5,58 (4,84–6,22)	$4,22 \times 10^{-4}$	$2,35 \times 10^{-3}$
Нейропилин 2 (NRP2) Neuropilin 2 (NRP2)	0,92	6,94 (6,80–7,16)	7,24 (7,06–7,45)	$9,49 \times 10^{-4}$	$4,27 \times 10^{-3}$
Фосфатидилинозитол-гликанспецифическая фосфолипаза D (PHLD) Phosphatidylinositol-glycan-specific phospholipase D (PHLD)	-0,89	4,85 (4,64–5,04)	4,64 (4,25–4,83)	$2,56 \times 10^{-3}$	$9,36 \times 10^{-3}$
Пластин L (PLSL) Plastin L (PLSL)	0,99	2,96 (2,81–3,19)	3,13 (3,04–3,55)	$1,03 \times 10^{-3}$	$4,27 \times 10^{-3}$
Пропердин (PROP) Properdin (PROP)	1	6,75 (6,51–6,86)	7,06 (6,84–7,25)	$5,69 \times 10^{-4}$	$2,82 \times 10^{-3}$
Витамин К-зависимый гликопротеин S (PROS) Vitamin K-dependent glycoprotein S (PROS)	1,25	5,22 (4,97–5,36)	5,48 (5,37–5,58)	$3,36 \times 10^{-5}$	$4,37 \times 10^{-4}$
Ретинолсвязывающий белок 4 (RET4) Retinol-binding protein 4 (RET4)	-0,83	6,93 (6,86–7,26)	6,71 (6,47–7,04)	$1,76 \times 10^{-3}$	$6,88 \times 10^{-3}$
Сывороточный амилоидный белок A1 (SAA1) Serum amyloid protein A1 (SAA1)	0,95	2,51 (1,59–3,62)	3,70 (3,18–8,19)	$5,87 \times 10^{-4}$	$2,82 \times 10^{-3}$
Тенасцин-Х (TENX) Tenascin X (TENX)	1,45	4,95 (4,68–5,44)	5,96 (5,49–6,56)	$3,57 \times 10^{-6}$	$8,35 \times 10^{-5}$
Тетранектин (TETN) Tetranectin (TETN)	-0,97	8,40 (8,31–8,63)	8,22 (7,90–8,42)	$3,76 \times 10^{-3}$	$1,16 \times 10^{-2}$
Цинк-α-2-гликопротеин (ZA2G) Zinc α 2 glycoprotein (ZA2G)	1,1	4,99 (4,74–5,15)	5,25 (5,09–5,36)	$2,19 \times 10^{-4}$	$1,55 \times 10^{-3}$

*Представленность белков указана в относительных единицах, рассчитанных на основании статистической обработки масс-спектрометрических данных, в виде медианы (межквартильного интервала). **Значение достоверности p с поправкой на множественные сравнения с помощью процедуры Бенджамини–Хохберга.

*Protein abundance is presented in relative units calculated based on statistical processing of mass spectrometry data as median (interquartile range).

**Significance level p adjusted for multiple comparisons using the Benjamini-Hochberg procedure.

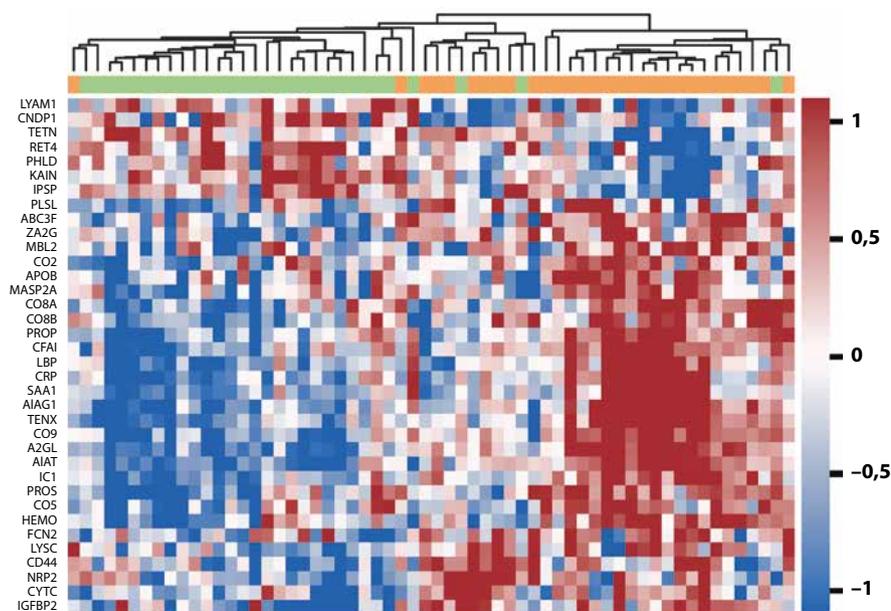


Рис. 1. Потенциальные белковые маркеры аденокарциномы легкого. Иерархическая кластеризация панели из 36 белков, дифференциально представленных в плазме крови здоровых добровольцев (обозначены зеленым цветом) и пациентов с аденокарциномой легкого (обозначены оранжевым цветом). Для каждого белка рассчитана относительная представленность среди всех участников исследования с помощью процедуры нормализации Z-score. Полученные значения Z-score в относительных единицах представлены в виде тепловой карты

Fig. 1. Potential protein markers of lung adenocarcinoma. Hierarchical clustering of a panel of 36 proteins present in the blood of healthy volunteers (green) and patients with lung adenocarcinoma (orange). Relative abundance among all study participants was calculated using Z-score normalization procedure. The calculated Z-score values in relative units are presented as a heatmap

По результатам ВЭЖХ-МС-анализа в плазме крови были количественно определены 118 белков, являющихся представителями разных функциональных групп. С целью поиска специфических биомаркеров АКЛ мы провели статистический анализ полученных данных и выявили 36 белков, показавших наиболее значимую разницу в представленности между пациентами с АКЛ и здоровыми добровольцами ($p < 0,05$; коэффициент d Коэна $> 0,8$) (табл. 2). Кластерный анализ по профилю представленности данных белков в плазме крови позволяет с довольно высокой эффективностью распределить участников исследования по соответствующим экспериментальным группам (рис. 1).

Для оптимизации панели белков, являющихся специфическими биомаркерами АКЛ, мы применили метод логистической регрессии с L1-регуляризацией (LASSO). Оптимальное значение параметра регуляризации определялось с помощью поиска по сетке (Grid Search) при процедуре кросс-валидации (число фолдов равно 4), проведенной на тренировочной части данных (75 % выборки). Результаты применения алгоритма показали, что более точно пациентов с АКЛ выявляет панель из 12 белков. Мы проконтролировали, чтобы отобранные белки являлись достоверными маркерами АКЛ независимо от клинических параметров, показавших статистически значимые различия между экспериментальными группами, а именно от пола, возраста и курения (рис. 2, а). Разработанная панель белков обеспечивает довольно высокую точность выявления пациентов с АКЛ, что видно при ее анализе с использованием

метода главных компонент (РСА-анализ) (рис. 2, б). Классификатор, построенный на базе этой панели, демонстрирует высокие показатели качества как на тренировочных (75 % выборки) (рис. 2, в), так и на тестовых (25 % выборки) данных (рис. 2, г).

Таким образом, масс-спектрометрический анализ протеома плазмы крови позволил сформировать панель из 12 потенциальных белков-биомаркеров, которые могут довольно эффективно выявлять наличие АКЛ в нашей когорте.

Далее оценена возможность использования масс-спектрометрического анализа протеома плазмы крови для выявления метастатического поражения у пациентов с АКЛ. Для этого мы сравнили белковый профиль плазмы крови пациентов с отдаленными метастазами и без них. Выявлено, что 19 белков демонстрируют статистически значимые ($p < 0,05$; коэффициент d Коэна $> 0,8$) различия между группами, однако после корректировки на множественные сравнения только 1 белок сохраняет достоверность ($q < 0,05$), а 2 демонстрируют различия на уровне тенденции ($q < 0,10$) (табл. 3). Эти белки были включены в дальнейший анализ.

На основании представленности в плазме крови 3 вышеупомянутых белков, а также их различных комбинаций мы сконструировали классификаторы, позволяющие предсказывать наличие отдаленных метастазов у пациентов с АКЛ. В связи с относительно небольшим размером выборки для оценки качества разработанных моделей проведено множественное раз-

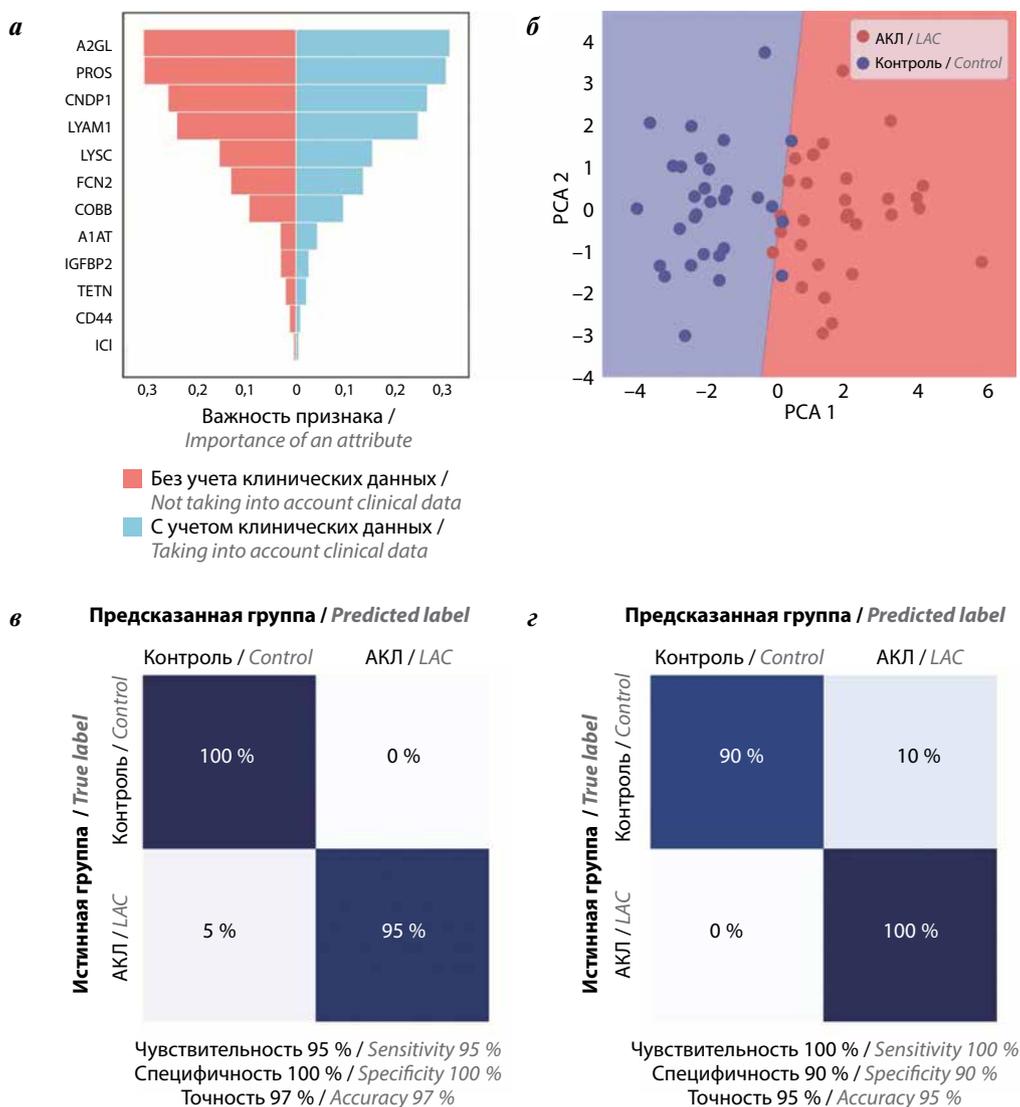


Рис. 2. Характеристики оптимизированной панели белков плазмы крови для выявления пациентов с аденокарциномой легкого (АКЛ): а – влияние клинических данных на коэффициенты математической модели для панели из 12 белков – специфических маркеров АКЛ; б – эффективность разделения участников исследования на экспериментальные группы с помощью разработанной панели белков; в – показатели качества классификатора для выявления пациентов с АКЛ на тренировочных данных (75 % выборки); г – показатели качества классификатора для выявления пациентов с АКЛ на тестовых данных (25 % выборки)

Fig. 2. Characteristics of the optimized serum protein panel for identification of patients with lung adenocarcinoma (LAC): а – effect of clinical data on the mathematical model coefficients for a panel of 12 proteins – LAC specific markers; б – effectiveness of division of the study participants into experimental groups using the developed protein panel; в – quality measures of the classifier for identification of patients with LAC using training data (75 % of the sample); г – quality measures of the classifier for identification of patients with LAC using test data (25 % of the sample)

деление выборки на тренировочные (75 % выборки) и тестовые (25 % выборки) данные, после чего проанализированы метрики разработанных классификаторов (500 итераций для каждого классификатора). Результаты анализа показали, что наиболее точно

выявлять отдаленные метастазы у пациентов с АКЛ позволяет классификатор, учитывающий уровни белков IC1 и НАВР2 в плазме крови (рис. 3). Средние чувствительность и специфичность данного классификатора составляют более 90 % (табл. 4).

Таблица 3. Белки плазмы крови, статистически значимо различающиеся по представленности между пациентами с аденокарциномой легкого с отдаленными метастазами и без них

Table 3. Serum proteins with significantly different abundance in patients with lung adenocarcinoma and distant metastases and without them

Белок Protein	Коэффициент d Cohen's d	Представленность белка в плазме* Plasma protein abundance*		p	q**
		Наличие метастазов (n = 16) Presence of metastases (n = 16)	Отсутствие метастазов (n = 14) Absence of metastases (n = 14)		
α-1-антитрипсин (A1AT) α-1 antitrypsin (A1AT)	1,19	12,34 (12,22–12,40)	12,56 (12,51–12,77)	1,82 × 10⁻³	9,95 × 10 ⁻²
Гиалуронан-связывающий белок 2 (HABP2) Hyaluronan-binding protein 2 (HABP2)	1,27	3,81 (3,51–3,85)	3,95 (3,85–4,08)	2,55 × 10⁻³	9,94 × 10 ⁻²
Ингибитор протеазы C1 плазмы (IC1) Serum C1 protease inhibitor (IC1)	1,80	7,65 (7,61–7,76)	8,05 (7,91–8,26)	2,33 × 10⁻⁴	2,73 × 10⁻²

*Представленность белков указана в относительных единицах, рассчитанных на основании статистической обработки масс-спектрометрических данных, в виде медианы (межквартильного интервала). **Значение достоверности p с поправкой на множественные сравнения с помощью процедуры Бенджамини–Хохберга.

Примечание. Жирным шрифтом обозначены значения уровней достоверности p и q < 0,05.

*Protein abundance is presented in relative units calculated based on statistical processing of mass spectrometry data as median (interquartile range).

**Significance level p adjusted for multiple comparisons using the Benjamini-Hochberg procedure.

Note. Significance levels p and q < 0.05 are highlighted in bold.

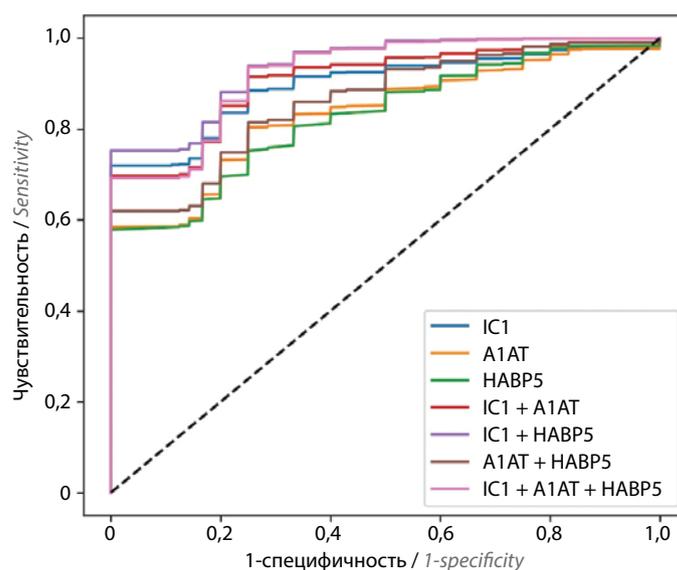


Рис. 3. Сравнение ROC-кривых различных моделей логистических регрессий для выявления метастазов у пациентов с аденокарциномой легкого. Представлены усредненные ROC-кривые для индивидуальных белков и их комбинаций

Fig. 3. Comparison of ROC curves of various logistic regression models for identification of metastases in patients with lung adenocarcinoma. Averaged ROC curves of individual proteins and their combinations are presented

Таблица 4. Характеристики ROC-кривых моделей логистических регрессий для выявления метастазов у пациентов с аденокарциномой легкого на основании протеомики плазмы крови

Table 4. Characteristics of ROC curves of logistic regression models for identification of metastases in patients with lung adenocarcinoma based on plasma protein proteomics

Классификатор Classifier	AUC	Чувствительность, % Sensitivity, %	Специфичность, % Specificity, %
IC1	0,90 ± 0,10	0,89 ± 0,13	0,91 ± 0,12
A1AT	0,83 ± 0,12	0,82 ± 0,16	0,90 ± 0,13
НАВР2	0,83 ± 0,12	0,78 ± 0,20	0,89 ± 0,16
IC1 + A1AT	0,91 ± 0,09	0,93 ± 0,10	0,91 ± 0,11
IC1 + НАВР2	0,94 ± 0,07	0,94 ± 0,10	0,91 ± 0,12
A1AT + НАВР2	0,86 ± 0,11	0,84 ± 0,17	0,89 ± 0,14
IC1 + A1AT + НАВР2	0,92 ± 0,08	0,94 ± 0,10	0,91 ± 0,12

Примечание. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартное отклонение для 500 ROC-кривых по каждому классификатору. AUC – площадь под ROC-кривой. Жирным шрифтом выделен классификатор, наиболее эффективно выявляющий наличие отдаленных метастазов у пациентов с аденокарциномой легкого.

Note. Data are presented as mean ± standard deviation for 500 ROC curves for each classifier. AUC – area under ROC curve. Classifier most effectively identifying the presence of distant metastases in patients with lung adenocarcinoma is highlighted in bold.

ОБСУЖДЕНИЕ

Диагностика и лечение ряда заболеваний человека, в том числе онкологических, зачастую сопряжены с инвазивными процедурами, которые имеют серьезные побочные эффекты. Внедрение в клиническую практику современных технологий позволяет осуществлять своевременную раннюю диагностику онкологической патологии, а также проводить подбор персонализированной терапии, тем самым способствуя повышению эффективности терапии и показателей выживаемости пациентов. В этом контексте в последнее время набирает популярность концепция жидкой биопсии, основанная на анализе представленности в крови или других биологических жидкостях специфических онкологических маркеров. Преимуществами данного подхода являются неинвазивность процедуры забора образца и относительно низкая стоимость его анализа по сравнению с такими методами, как иммуногистохимический анализ, компьютерная томография с контрастированием, магнитно-резонансная томография и др. Несмотря на наличие технологий и инструментов для реализации этой концепции, на сегодняшний день ее применение в клинической практике весьма ограничено. В первую очередь это обусловлено отсутствием валидированных биомаркеров онкологических заболеваний. В связи с этим поиск данных биомаркеров является актуальным направлением современных биомедицинских исследований.

В настоящее время РЛ занимает 2-е место по частоте заболеваемости и 1-е место по смертности среди других онкологических патологий. Выделяют 2 подтипа данной

опухоли: немелкоклеточный и мелкоклеточный РЛ. Немелкоклеточный РЛ является наиболее распространенным подтипом: на его долю приходится 80–90 % всех случаев РЛ. Наиболее часто выявляемым гистологическим типом этого рака является АКЛ [16].

В данной работе в рамках концепции жидкой биопсии мы проанализировали представленность широкого спектра белков в плазме крови пациентов с АКЛ и здоровых добровольцев с целью идентификации биомаркеров АКЛ. Для этого мы применили таргетный протеомный анализ с использованием наиболее надежного подхода на базе ВЭЖХ-МС в режиме MRM и набора изотопно-меченных пептидных стандартов для количественного измерения 118 белков плазмы крови. Выбранные белки охватывают широкий спектр потенциальных биомаркеров заболеваний, включая аутоиммунные, сердечно-сосудистые и онкологические патологии [13].

Из проанализированных 118 белков плазмы 36 показали статистически значимое различие в представленности между пациентами с АКЛ и здоровыми донорами. Из них наиболее точно определять наличие АКЛ в исследуемой выборке позволяет панель из 12 белков. Результаты анализа функции выявленных потенциальных биомаркеров АКЛ показали, что примерно 44 % белков принадлежали к системе комплемента или являлись протеазами и их ингибиторами, а остальные относились к белкам межклеточных контактов и адгезии, белкам острой фазы, белкам-транспортерам и др.

Полученные нами результаты согласуются с данными литературы. Так, в последнее время активно

исследуется роль системы комплемента в прогрессии злокачественных опухолей. Установлено, что многие опухоли характеризуются активацией системы комплемента, а белки данной системы сильно экспрессируются в опухолевом микроокружении [17, 18]. Результаты ряда работ продемонстрировали вклад протеаз в прогрессию опухолей за счет активации ряда белков, участвующих в ангиогенезе, иммунном ответе и воспалении [19]. Кроме того, для подавляющего большинства белков, которые обнаружены в нашем исследовании как потенциальные маркеры АКЛ, показана ассоциация с развитием и прогрессией ряда опухолей [20–23]. Ассоциация гликопротеина S, зависящего от витамина К (PROS), с онкологическими заболеваниями впервые обнаружена в нашем исследовании. Преимуществом настоящей работы перед аналогичными работами, в которых анализировались индивидуальные белки или белки одной функциональной группы, является то, что в ней оценена представленность в плазме крови свыше 100 белков, обладающих разными функциями. Как следствие, итоговая панель, состоящая из 12 белков, предложенная нами в качестве специфического белкового профиля АКЛ, включает белки разных функциональных групп, что отражает комплексное влияние опухоли на различные физиологические процессы организма. Сочетание разных белков в рамках одной панели позволяет не только достичь высоких показателей чувствительности и специфичности, но и способствует большей устойчивости панели к естественным флуктуациям в представленности белков в популяции [13].

С помощью реализованного в рамках данного исследования подхода, помимо специфического белкового профиля АКЛ, мы также обнаружили маркеры наличия отдаленных метастазов у пациентов с данной опухолью. Как нами было показано, пациенты с отдаленными метастазами в легких, печени, костях и мозге характеризуются повышенными уровнями в плазме крови α -1-антитрипсина (А1АТ), гиалуронан-связывающего белка 2 (НАВР2) и ингибитора протеазы С1 плазмы (IC1). Примечательно, что все 3 белка принадлежат к одной функциональной группе: НАВР2 является сериновой протеазой, в то время как А1АТ и IC1 — ингибиторами различных протеаз, в том числе сериновых. Ранее потенциальная вовлеченность данных белков в формирование и прогрессию онкологических заболеваний продемонстрирована результатами ряда работ. Так, с использованием линий клеток человека и мышинных моделей АКЛ показано, что протеаза НАВР2 является важным регулятором прогрессирования опухоли, в 2 раза ускоряя ее рост и на порядок повышая метастатический потенциал [24]. Кроме того, обнаружено, что белок А1АТ способствует выживанию

клеток немелкоклеточного РЛ и увеличивает их резистентность *in vitro* [25]. Повышение уровня IC1 в сыворотке крови ранее выявлено у пациентов с немелкоклеточным РЛ [26].

Таким образом, полученные нами данные согласуются с результатами других работ и демонстрируют, что информация относительно белков НАВР2 и А1АТ, полученная *in vitro* и/или *in vivo* на грызунах, может быть верной и для человека, а белок IC1 не только является биомаркером РЛ, но и, возможно, вовлечен в метастазирование. В совокупности эти сведения указывают на значительную роль протеаз и их ингибиторов как в прогрессии опухоли, так и в формировании отдаленных метастазов, что, с одной стороны, позволяет рассматривать их как потенциальные диагностические и прогностические маркеры, а с другой — как терапевтические мишени. Однако эти вопросы требуют дополнительных исследований на независимых выборках.

Настоящее исследование обладает рядом ограничений. В первую очередь, нужно оговориться, что в рамках нашего исследования не проанализированы генетические характеристики опухолей, в частности статусы TP53 и TTF-1. Кроме того, ограничением исследования является тот факт, что данные масс-спектрометрического анализа представленности белков в плазме крови получены в относительных единицах, а не в абсолютных концентрациях. Для пересчета необходимо подробно охарактеризовать SIS, что мы планируем осуществить в дальнейшем. Наконец, как уже упоминалось ранее, работа выполнена на относительно небольшой выборке. Для уточнения качества созданных классификаторов для выявления АКЛ и наличия отдаленных метастазов необходимо проанализировать данные большего числа пациентов. Тем не менее полученные данные и уровни их статистической значимости позволяют предположить, что обнаруженные закономерности довольно ярко выражены и потому могут быть выявлены даже на относительно небольшой выборке образцов и сохранять актуальность в других когортах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, данные сравнительного протеомного анализа плазмы крови пациентов с АКЛ и здоровых добровольцев позволяют выявить биомаркеры этой патологии. Мы предложили использовать панель из 12 белков, представляющих собой специфический белковый профиль АКЛ, а также панель из 3 белков, являющихся маркерами отдаленных метастазов. Однако применимость данных белковых панелей в клинической практике для скрининга АКЛ и прогнозирования исходов заболевания требует валидации на расширенных выборках пациентов и здоровых доноров.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Thandra K.C., Barsouk A., Saginala K. et al. Epidemiology of lung cancer. *Contemp Oncol (Pozn)* 2021;25(1):45–52. DOI: 10.5114/wo.2021.103829
2. Siegel R.L., Giaquinto A.N., Jemal A. Cancer statistics, 2024. *CA Cancer J Clin* 2024;74(1):12–49. DOI: 10.3322/caac.21820
3. Юркова Ю.П., Мерабишвили В.М., Левченко Е.В. Эпидемиология и выживаемость больных раком легкого, влияние COVID-19 (клинико-популяционное исследование). *Вопросы онкологии* 2022;68(5):576–88. DOI: 10.37469/0507-3758-2022-68-5-576-588
Yurkova Yu.P., Merabishvili V.M., Levchenko E.V. Epidemiology and survival of lung cancer patients, the impact of COVID-19 (clinical and population-based study). *Voprosy onkologii = Oncology Issues* 2022;68(5):576–88. (In Russ.). DOI: 10.37469/0507-3758-2022-68-5-576-588
4. Hammer M.M., Byrne S.C., Kong C.Y. Factors influencing the false positive rate in CT lung cancer screening. *Acad Radiol* 2022;29(Suppl 2):S18–22. DOI: 10.1016/j.acra.2020.07.040
5. Dai X., Shen L. Advances and trends in omics technology development. *Front Med (Lausanne)* 2022;9:911861. DOI: 10.3389/fmed.2022.911861
6. Baietto L., D'Avolio A., Ventimiglia G. et al. Development, validation, and routine application of a high-performance liquid chromatography method coupled with a single mass detector for quantification of itraconazole, voriconazole, and posaconazole in human plasma. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54(8):3408–13. DOI: 10.1128/AAC.01807-09
7. Van Der Gugten J.G., Wong S., Holmes D.T. Quantitation of insulin analogues in serum using immunoaffinity extraction, liquid chromatography, and tandem mass spectrometry. *Methods Mol Biol* 2016;1378:119–30. DOI: 10.1007/978-1-4939-3182-8_14
8. Sepiashvili L., Kohlhagen M.C., Snyder M.R. et al. Direct detection of monoclonal free light chains in serum by use of immunoenrichment-coupled MALDI-TOF mass spectrometry. *Clin Chem* 2019;65(8):1015–22. DOI: 10.1373/clinchem.2018.299461
9. Jeong J.S., Kim S.K., Park S.R. Amino acid analysis of dried blood spots for diagnosis of phenylketonuria using capillary electrophoresis-mass spectrometry equipped with a sheathless electrospray ionization interface. *Anal Bioanal Chem* 2013;405(25):8063–72. DOI: 10.1007/s00216-013-6999-6
10. Banerjee S. Empowering clinical diagnostics with mass spectrometry. *ACS Omega* 2020;5(5):2041–8. DOI: 10.1021/acsomega.9b03764
11. Lianidou E., Pantel K. Liquid biopsies. *Genes Chromosomes Cancer* 2019;58(4):219–32. DOI: 10.1002/gcc.22695
12. Heidrich I., Ackar L., Mossahebi Mohammadi P. et al. Liquid biopsies: potential and challenges. *Int J Cancer* 2021;148(3):528–45. DOI: 10.1002/ijc.33217
13. Kononikhin A.S., Starodubtseva N.L., Brzhozovskiy A.G. et al. Absolute quantitative targeted monitoring of potential plasma protein biomarkers: a pilot study on healthy individuals. *Biomedicines* 2024;12(10):2403. DOI: 10.3390/biomedicines12102403
14. De Groot P., Munden R.F. Lung cancer epidemiology, risk factors, and prevention. *Radiol Clin North Am* 2012;50(5):863–76. DOI: 10.1016/j.rcl.2012.06.006
15. Hoofnagle A.N., Becker J.O., Oda M.N. et al. Multiple-reaction monitoring-mass spectrometric assays can accurately measure the relative protein abundance in complex mixtures. *Clin Chem* 2012;58(4):777–81. DOI: 10.1373/clinchem.2011.173856
16. Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018;68(6):394–424. DOI: 10.3322/caac.21492
17. Revel M., Daugan M.V., Sautes-Fridman C. et al. Complement system: promoter or suppressor of cancer progression? *Antibodies (Basel)* 2020;9(4). DOI: 10.3390/antib9040057
18. Kolev M., Das M., Gerber M. et al. Inside-out of complement in cancer. *Front Immunol* 2022;13:931273. DOI: 10.3389/fimmu.2022.931273
19. Radisky E.S. Extracellular proteolysis in cancer: proteases, substrates, and mechanisms in tumor progression and metastasis. *J Biol Chem* 2024;300(6):107347. DOI: 10.1016/j.jbc.2024.107347
20. Yamamoto M., Takahashi T., Serada S. et al. Overexpression of leucine-rich alpha2-glycoprotein-1 is a prognostic marker and enhances tumor migration in gastric cancer. *Cancer Sci* 2017;108(10):2052–60. DOI: 10.1111/cas.13329
21. Shinozaki E., Tanabe K., Akiyoshi T. et al. Serum leucine-rich alpha-2-glycoprotein-1 with fucosylated triantennary N-glycan: a novel colorectal cancer marker. *BMC Cancer* 2018;18(1):406. DOI: 10.1186/s12885-018-4252-6
22. Wei L.F., Weng X.F., Huang X.C. et al. IGFBP2 in cancer: pathological role and clinical significance (Review). *Oncol Rep* 2021;45(2):427–38. DOI: 10.3892/or.2020.7892
23. Arellano-Garcia M.E., Li R., Liu X. et al. Identification of tetranectin as a potential biomarker for metastatic oral cancer. *Int J Mol Sci* 2010;11(9):3106–21. DOI: 10.3390/ijms11093106
24. Mirzapoiazova T., Mambetsariev N., Lennon F.E. et al. HABP2 is a novel regulator of hyaluronan-mediated human lung cancer progression. *Front Oncol* 2015;5:164. DOI: 10.3389/fonc.2015.00164
25. Janciauskiene S., Wrenger S., Gunzel S. et al. Potential roles of acute phase proteins in cancer: why do cancer cells produce or take up exogenous acute phase protein alpha1-antitrypsin? *Front Oncol* 2021;11:622076. DOI: 10.3389/fonc.2021.622076
26. Zeng X., Hood B.L., Zhao T. et al. Lung cancer serum biomarker discovery using label-free liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Thorac Oncol* 2011;6(4):725–34. DOI: 10.1097/JTO.0b013e31820c312e

Вклад авторов

Д.Н. Коробков: включение в исследование пациентов с аденокарциномой легкого, сбор клинических данных, написание текста статьи, редактирование;

А.С. Кононихин: проведение инструментальных исследований, анализ и систематизация экспериментальных данных, написание текста статьи, редактирование;

С.Д. Семенов: анализ и систематизация экспериментальных данных, статистическая обработка данных, написание текста статьи, редактирование;

Е.Л. Кордзя: включение в исследование здоровых добровольцев, сбор клинических данных;

А.Г. Бржозовский: анализ и статистическая обработка экспериментальных данных масс-спектрометрического анализа;

А.Е. Бугрова: проведение инструментальных исследований, анализ и систематизация экспериментальных данных;

Е.Ю. Васильева, Д.Ю. Каннер, Е.Н. Николаев: разработка концепции и дизайна исследования, написание текста статьи, редактирование;

А.А. Комиссаров: разработка концепции и дизайна исследования, интерпретация результатов исследования, написание текста статьи, редактирование.

Authors' contributions

D.N. Korobkov: inclusion of patients with lung adenocarcinoma in the study, collection of clinical data, article writing, editing;
A.S. Kononikhin: conducting instrumental research, analyzing and systematizing experimental data, article writing, editing;
S.D. Semenov: analysis and systematization of experimental data, statistical data processing, article writing, editing;
E.L. Kordzaya: inclusion of healthy volunteers in the study, collection of clinical data;
A.G. Brzhozovsky: analysis and statistical processing of experimental mass spectrometric analysis data;
A.E. Bugrova: instrumental research, analysis and systematization of experimental data;
E.Yu. Vasilyeva, D.Yu. Kanner, E.N. Nikolaev: development of the concept and design of the study, article writing, editing;
A.A. Komissarov: development of the research concept and design, interpretation of the research results, text writing, editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.С. Кононихин / A.S. Kononikhin: <https://orcid.org/0000-0002-2238-3458>
Е.Л. Кордзя / E.L. Kordzaya: <https://orcid.org/0000-0001-9146-7463>
Е.Ю. Васильева / E.Yu. Vasilyeva: <https://orcid.org/0000-0003-4111-0874>
Д.Ю. Каннер / D.Yu. Kanner: <https://orcid.org/0000-0002-0649-6452>
Е.Н. Николаев / E.N. Nikolaev: <https://orcid.org/0000-0001-6209-2068>
А.А. Комиссаров / A.A. Komissarov: <https://orcid.org/0000-0003-1018-5195>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование поддержано грантом Правительства Москвы на реализацию научно-практического проекта в медицине (проект № 2312-29/22).

Funding. This study was sponsored by the Moscow Center for Innovative Technologies in Healthcare (project No. 2312/29-22).

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Исследование одобрено Московским городским независимым этическим комитетом (протокол № 124 от 16.05.2023). Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава России от 19.06.2003 № 266.

Пациенты и здоровые доноры подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study was approved by the Moscow City Independent Ethics Committee (Protocol No. 124 dated 16.05.2023). The study was carried out in accordance with the Helsinki Declaration of the World Medical Association "Ethical principles of scientific medical research involving humans" as amended in 2000 and the "Rules of clinical practice in the Russian Federation", approved by Order of the Ministry of Health of Russia dated 16.05.2023 No. 266.

The patients and healthy donors signed an informed consent to participate in the study.