НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

УДК 616.62 – 006.6 – 073.524 – 076.5:576.385.3

ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ TUBB3 В ТКАНИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ: ПОРОГ ГИПЕРЭКСПРЕССИИ МАРКЁРА 50% ДЛЯ СТРАТИФИКАЦИИ РИСКА ПРИ I СТАДИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Мария Александровна Свентицкая[2], Татьяна Анатольевна Богуш[1], Анна Николаевна Гришанина[1], Елена Александровна Богуш[2], Владислав Юрьевич Кирсанов[2], Александр Михайлович Щербаков[1], Алексей Ли[1], Михаил Яковлевич Мельников[3]

[1] Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия
[2] Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Москва, Россия
[3] Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Автор, ответственный за переписку: Татьяна Анатольевна Богуш, tatbogush@mail.ru

Аннотация. Проведен иммунофлуоресцентный анализ экспрессии TUBB3 в ткани I и III стадии немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ, n = 65). Показано, что уровень TUBB3 50% обладает дискриминационной способностью для прогнозирования исхода заболевания, при этом ROC-анализ подтвердил, что показатель TUBB3 ≥50% позволяет стратифицировать пациентов с I стадией НМРЛ в группу агрессивного течения заболевания. Гиперэкспрессия в опухоли TUBB3 ≥50% может служить дополнительным ориентиром при выборе тактики ведения радикально оперированных пациентов с I стадией НМРЛ – «лечить или наблюдать».

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, I стадия, стратификация, TUBB3, проточная цитометрия

DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2026-67-6-473-481

Благодарность. Часть работы выполнена в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова «Кинетика и механизм фотохимических, криохимических и каталитических процессов и создание новых материалов и технологий на базе молекулярно-организованных систем» АААА-А21-121011590090-7.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Федеральная научно-техническая программа развития генетических технологий на 2019-2030 годы, Соглашение № 075-15-2025-493 от 30.05.2025).

Для цитирования: Свентицкая М.А., Богуш Т.А., Гришанина А.Н., Богуш Е.А., Кирсанов В.Ю., Щербаков А.М., Ли А., Мельников М.Я. Иммунофлуоресцентная оценка экспрессии TUBB3 в ткани немелкоклеточного рака легкого методом проточной цитометрии: порог гиперэкспрессии маркёра 50% для стратификации риска при I стадии заболевания // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2026. Т. 67. № 6. С. 473–481.

© Свентицкая М.А., Богуш Т.А., Гришанина А.Н., Богуш Е.А., Кирсанов В.Ю., Щербаков А.М., Ли А., Мельников М.Я., 2026

ORIGINAL ARTICLE

IMMUNOFLUORESCENT ASSESSMENT OF TUBB3 EXPRESSION IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER TISSUE BY FLOW CYTOMETRY: A 50% MARKER HYPEREXPRESSION THRESHOLD FOR RISK STRATIFICATION IN STAGE I DISEASE

Maria A. Sventitskaya[2], Tatiana A. Bogush[1], Anna N. Grishanina[1], Elena A. Bogush[2], Vladislav Yu. Kirsanov[2], Alexander M. Scherbakov[1], Alexey Lee[1], Mikhail Ya. Melnikov[3]

[1] N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia
[2] Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia
[3] Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Correspondence author: Tatiana Anatolievna Bogush, tatbogush@mail.ru

Abstract. An immunofluorescence analysis of TUBB3 expression was performed in stage I and III non-small cell lung cancer (NSCLC, $n = 65$) tissue. A TUBB3 level of 50% was shown to have discriminatory power for predicting disease outcome, while ROC analysis confirmed that a TUBB3 level of ≥50% allows stratification of patients with stage I NSCLC into an aggressive disease group. Tumor TUBB3 overexpression of ≥50% can serve as an additional guideline for choosing the treatment or observation strategy for radically resected patients with stage I NSCLC.

Keywords: non-small cell lung cancer, stage I, risk stratification, TUBB3, flow cytometry

Acknowledgements. Part of the work was carried out within the framework of the state assignment of the Lomonosov Moscow State University “Kinetics and mechanism of photochemical, cryochemical and catalytic processes and creation of new materials and technologies based on molecular-organized systems” AAAA-A21-121011590090-7.

Financial Support. The research was carried out with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Federal Scientific and Technical Program for the Development of Genetic Technologies for 2019-2030, Agreement No. 075-15-2025-493 dated 05.30.2025).

For citation: Sventitskaya M.A., Bogush T.A., Grishanina A.N., Bogush E.A., Kirsanov V.Yu., Scherbakov A.M., Lee A., Melnikov M.Ya. Immunofluorescent assessment of TUBB3 expression in non-small cell lung cancer tissue by flow cytometry: a 50% marker hyperexpression threshold for risk stratification in stage I disease // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. 2. Chemistry. 2026. T. 67. № 6. S. 473–481.

Несмотря на то, что хирургическая резекция остается стандартом лечения при I стадии немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), риск прогрессирования заболевания после операции остается значительным. Согласно литературным данным, частота рецидивов у пациентов с I стадией НМРЛ может достигать 30% и даже при полной резекции опухоли возврат болезни наблюдается у значительной части пациентов [1–3]. В исследовании на когорте из 570 пациентов с I стадией НМРЛ общая частота рецидивов составила 12,5%, однако в подгруппе с мутацией *KRAS G12V* она достигала 37,5%, что подчеркивает гетерогенность прогноза даже в пределах I стадии и необходимость поиска дополнительных маркёров стратификации [3].

Клинико-морфологические характеристики, традиционно используемые для принятия решения о послеоперационной терапии, не позволяют достоверно определить, какие пациенты с I стадией НМРЛ нуждаются в адъювантной терапии, а какие могут оставаться под динамическим

наблюдением. Согласно действующим клиническим рекомендациям, адъювантная химиотерапия при I стадии НМРЛ не рекомендуется. Исследования показывают, что такие факторы, как висцеральная плевральная инвазия, высокая степень злокачественности и лимфоваскулярная инвазия ассоциированы с повышенным риском рецидива [4, 5]. Однако даже комбинация этих признаков, в том числе с показателем диссеминации опухолевых клеток в воздушные пространства (STAS), не позволяет с уверенностью выделить группу пациентов, которым адъювантная терапия принесет пользу [4, 6].

В последние годы в литературе активно обсуждается необходимость поиска новых прогностических ориентиров, способных более точно стратифицировать пациентов с ранними стадиями НМРЛ. Особое внимание уделяется молекулярным маркерам и генетическим сигнатурам, которые могут помочь в принятии решения о назначении адъювантной терапии [7–10], а обновленные клинические рекомендации подчеркивают важность тестирования опухолевых маркёров для оптимизации лечения [11]. Несмотря на многолетние исследования, вопрос о том, какие пациенты с I стадией НМРЛ получают наибольшую пользу от адъювантной химиотерапии, остается открытым, и исследования продолжаются. В частности, в исследовании с включением 4061 пациента с I стадией НМРЛ было установлено, что показатель STAS является независимым фактором неблагоприятного прогноза [12].

Параллельно ведутся активные поиски белковых маркеров, которые могли бы дополнить или заменить гистологические критерии. Ряд исследований продемонстрировал прогностическую значимость отдельных белков (HDGF, ADAM9, E-cadherin, N-cadherin, FAK) при I стадии НМРЛ с использованием иммуногистохимии (ИГХ) [13, 14].

Особый интерес как потенциальный прогностический маркёр при НМРЛ представляет TUBB3 (β-тубулин III класса). Этот белок не экспрессируется в нормальных эпителиальных клетках, его появление в опухолевых клетках свидетельствует об обратной дифференцировке и приобретении агрессивных свойств. Кроме того, TUBB3 известен как ключевой медиатор резистентности к таксанам, а недавние исследования с использованием *genome-wide in vivo* CRISPR-скрининга показали, что TUBB3 регулирует PD-L1 через EMT-связанный транскрипционный фактор SNAI1, формируя единую регуляторную сеть, ассоциированную с агрессивностью и иммунным уклонением [15]. Иными словами, вклад TUBB3 в агрессивность и лекарственную резистентность эпителиальных опухолей является хрестоматийным фактом, безусловно доказанным в фундаментальных исследованиях на культурах клеток, тогда как данные о прогностической значимости TUBB3 в трансляционных исследованиях немногочисленны и противоречивы [16]. В частности, крупное исследование с участием 1149 пациентов не выявило предиктивной значимости TUBB3, но продемонстрировало его прогностическую роль [17].

По нашему мнению, которое разделяют многие исследователи, причиной этого является непригодность полуколичественного субъективного иммуногистохимического метода (ИГХ) для подобного рода оценок, которые требуют точности в определении дискриминационного уровня любого молекулярного маркёра для нахождения его прогностической значимости. Неопределенность ИГХ анализа привела к тому, что границы позитивности и деления на разные уровни экспрессии даже для рутинно используемых в клинической практике опухолевых маркёров четко не определены вплоть до настоящего времени [16].

Альтернативой полуколичественного ИГХ-анализа является количественный иммунофлуоресцентный метод, ассоциированный с проточной цитометрией, который позволяет объективно оценить процентное содержание клеток, экспрессирующих тот или иной маркёр, и установить статистически обоснованные пороговые значения для выявления группы повышенного риска. Китайский консенсус 2024 г. признал высокий потенциал проточной цитометрии для тканевых образцов солидных опухолей, но отметил, что внедрение этого метода в лабораторную практику требует времени и дополнительных усилий [18].

В настоящей работе проведен межгрупповой и внутригрупповой анализ показателей экспрессии TUBB3 в ткани НМРЛ при I и III стадии заболевания в целях определения уровня гиперэкспрессии TUBB3, информативного для стратификации риска агрессивности I стадии НМРЛ. С учетом представленных выше фактов, исследование проведено количественным иммунофлуоресцентным методом, ассоциированным с проточной цитометрией.

Материал и методы

В работе проведен количественный иммунофлуоресцентный анализ, ассоциированный

с проточной цитометрией, уровня экспрессии белка цитоскелета TUBB3 в ткани хирургических образцов немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) при I и III стадии заболевания (n = 65). Образцы опухолей фиксировали в 4%-м растворе формальдегида (ПанЭко, Россия) pH 7,4. Не менее чем через 48 ч фиксации каждый образец подвергали многоступенчатой процедуре подготовки одноклеточной суспензии, пригодной для работы на проточном цитометре [19].

Иммунофлуоресцентное окрашивание проводили с использованием 100 мкл суспензии с концентрацией 200 тыс. кл/мл. Клетки инкубировали с первичными антителами в течение 1 ч при комнатной температуре. После отмывки клеток 20-кратным объемом 0,5%-го раствора бычьего сывороточного альбумина (БСА) («ПанЭко», Россия) к клеткам добавляли вторичные антитела и инкубировали в течение 1,5 ч при 4 °C. Для удаления из анализа дебриса, эритроцитов и клеточных агрегатов суспензию клеток в течение 15 мин инкубировали с красителем ДНК Hoechst 33258 (Sigma, США) в концентрации 1,2 мкг/мл, после чего дважды отмывали 20-кратным объемом 0,5%-го раствора БСА.

В работе использованы первичные кроличьи моноклональные антитела, специфичные к TUBB3 (клон EP1569Y, Abcam, Великобритания) в конечном разведении 1:400. В качестве вторичных использовали антикроличьи антитела, конъюгированные с флуоресцентным красителем DyLight650 (ab98510, Abcam, Великобритания) в конечном разведении 1:25.

Для контроля активности антител в каждой серии экспериментов использовали референсную клеточную линию MCF-7 аденокарциномы протоков молочной железы человека (Биобанк НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, Россия).

Флуоресценцию измеряли на проточном цитометре Navios (Beckman Coulter, США). Сигнал флуоресценции красителей DyLight650 и Hoechst 33258 регистрировали в каналах FL-6 и FL-9 соответственно. Для контроля состава анализируемой популяции одноклеточной суспензии и включения в анализ только ядросодержащих клеток использовано двойное гейтирование: по FSC/SSC (исключение дебриса и агрегатов) и по окрашиванию ДНК красителем Hoechst 33258 (исключение безъядерных элементов: эритроцитов, дебриса).

В работе оценен уровень экспрессии TUBB3 – количество специфически флуоресцирующих клеток (%) относительно контроля (инкубация клеток только с вторичными антителами), рассчитанный в программе FlowJo 10.0 (США).

Статистический анализ проводили с использованием GraphPad Prism 10.4.0 (GraphPad Software, США). Количественные показатели представлены в виде медианы и межквартильного интервала (M [Q1; Q3]), так как распределение значений экспрессии TUBB3 отличалось от нормального (критерий Шапиро–Уилка, $p < 0,05$). Для сравнения двух независимых групп использовали U-критерий Манна–Уитни и двусторонний точный критерий Фишера. Общую выживаемость оценивали методом Каплана–Майера и лог-ранк тестом.

Дискриминационную способность показателя экспрессии TUBB3 и оптимальное пороговое значение, разделяющее пациентов на группы с благоприятным и неблагоприятным прогнозами (временная точка – 60 мес.), определяли с помощью ROC-анализа. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

В настоящей работе проведен подгрупповой анализ полученных нами данных об ассоциации уровня экспрессии TUBB3 ≥ 50% с общей выживаемостью пациентов смешанной по стадиям болезни когорты 120 пациентов с НМРЛ [20], чтобы оценить информативность этого иммунофлуоресцентного порога гиперэкспрессии TUBB3 для стратификации риска агрессивности I стадии заболевания. Исследование проведено на 65 хирургических образцах НМРЛ I (n = 25) и III (n = 40) стадий заболевания, полученных в ходе хирургических операций в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Клинико-морфологические характеристики заболевания представлены на рис. 1, А.

Корректность сформированных групп пациентов для проведения сравнительного анализа Каплана–Майера ассоциации показателей уровня экспрессии TUBB3 в опухоли при I и III стадиях НМРЛ с агрессивностью течения болезни подтверждена при оценке общей пятилетней выживаемости пациентов (рис. 1, Б).

Выявлены высоко значимые различия в выживаемости между этими группами сравнения. Медиана общей выживаемости в группе I стадии НМРЛ не достигнута, а в группе III стадии составила 21,0 мес. Пятилетняя выживаемость в группе I стадии достигла 62%, тогда как в группе III стадии – только 19%. Различия высоко значимы

А

Характеристики заболевания	Число пациентов (%)	
	I стадия $n = 25$	III стадия $n = 40$
Возраст, годы*	62,6±9,7	57,4±9,5
пол		
мужчины	84	87,5
женщины	16	12,5
статус курильщика		
курят	64	75
не курят	24	10
нет данных	12	15
гистотип опухоли		
аденокарцинома	64	32,5
плоскоклеточный рак	36	67,5
дифференцировка		
G1 + G2	60	42,5
G3 + G4	20	47,5
нет данных	20	10

Б

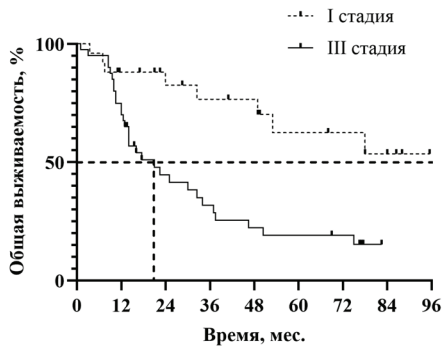


Рис. 1. Клинико-морфологические характеристики заболевания и анализ общей выживаемости пациентов в группах сравнения I vs III стадии немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ): А – клинико-морфологическая характеристика пациентов с I стадией ($n = 25$) и III стадией ($n = 40$) НМРЛ (* – M ± SD); Б – анализ Каплана–Майера общей выживаемости пациентов с I vs III стадии НМРЛ: пунктирная линия – медиана выживаемости

(лог-ранк тест: $\chi^2 = 11,6$; $p = 0,0007$). Отношение рисков (HR) в группе пациентов с I по сравнению с III стадией НМРЛ составило 0,3 (95% ДИ: 0,2–0,6), что соответствует снижению риска наступления летального исхода почти в 3,5 раза у пациентов при I стадии заболевания. Этот результат подтверждает корректность включенных в исследование групп пациентов с НМРЛ для проведения дальнейшего межгруппового и внутригруппового сравнительного анализа.

Прямое сравнение медиан показателей уровня экспрессии TUBB3 в опухоли при I и III стадиях НМРЛ показало (рис. 2, А), что при III стадии заболевания медиана уровня экспрессии TUBB3 выше – 41% vs 35% и имеет пограничный уровень статистической значимости ($p = 0,05$).

Принимая во внимание цель настоящего исследования – определить дискриминационный уровень экспрессии TUBB3 при I стадии НМРЛ, который позволил бы стратифицировать опухоли в группу агрессивного течения болезни, сходного с III стадией заболевания, проведен сравнительный анализ частот встречаемости опухолей с различными значениями показателей экспрессии TUBB3 у пациентов с I и III стадиями НМРЛ. Полученные результаты представлены на рис. 2, Б.

Видно, что вплоть до уровня экспрессии маркёра 45% различие между группами сравнения минимально и статистически не значимо ($p > 0,05$). Повышение частоты встречаемости опухолей при III стадии по сравнению I стадией НМРЛ регистрируется, начиная с диапазона значений уровня TUBB3 ≥ 45%, но достигает максимальной разницы и статистической значимости при уровне экспрессии TUBB3 ≥ 50% – 12% vs 37,5% ($p = 0,04$).

Для подтверждения информативности выявленного дискриминационного порога уровня экспрессии TUBB3 ≥ 50% как показателя агрессивности течения НМРЛ при I стадии заболевания проведен межгрупповой и внутригрупповой анализ общей выживаемости пациентов методом Каплана–Майера и относительного риска наступления летального исхода (HR) лог-ранк тестом. Результаты представлены в таблице.

При сравнении подгрупп «I стадия НМРЛ с экспрессией TUBB3 в опухоли ≥ 50%» vs «III стадия НМРЛ с любым показателем экспрессии TUBB3» различий в общей выживаемости пациентов не выявлено. Медиана продолжительности жизни в подгруппе пациентов с I стадией НМРЛ и уровнем экспрессии TUBB3 ≥ 50% составила 32,5 мес., что статистически незначимо отличается от этого показателя в общей группе III стадии заболевания – 21,0 мес. ($p = 0,7$). Отсутствуют и различия в риске наступления летального исхода (HR) между этими подгруппами (HR = 1,44; 95% ДИ: 0,3–7,7; $p = 0,61$). Таким образом, порог экспрессии TUBB3 ≥ 50% достоверно выделяет пациентов с I стадией НМРЛ, прогноз которых соответствует III стадии, т.е. гиперэкспрессия TUBB3 ≥ 50% «нивелирует» прогностическое

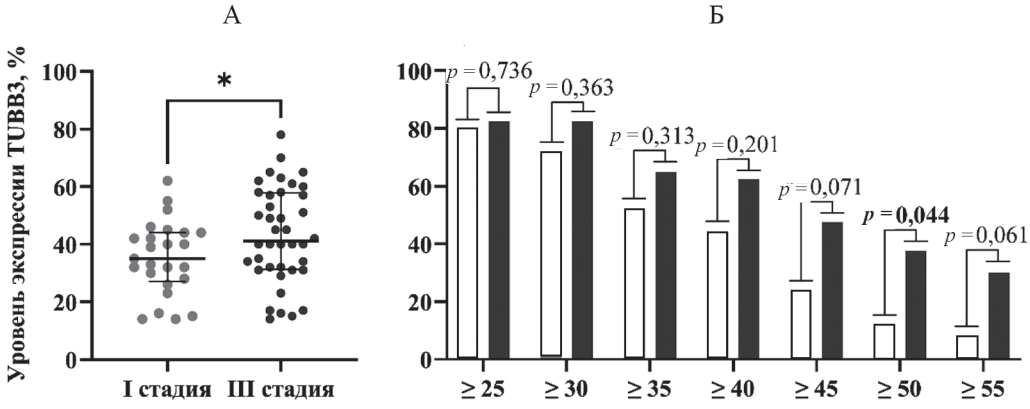


Рис. 2. Показатели экспрессии TUBB3 в опухоли у пациентов с I и III стадиями немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ): А – индивидуальные значения уровней экспрессии TUBB3 у пациентов с I стадией (n = 25) и III стадией (n = 40) НМРЛ; по оси абсцисс – стадия заболевания, по оси ординат – уровень экспрессии TUBB3 (%); * – уровень статистической значимости различий между медианами p = 0,05; горизонтальные линии на рисунке – медиана, верхний и нижний квартиль; Б – сравнение частоты встречаемости разных уровней экспрессии TUBB3 в диапазоне от 25 до 55% в группах пациентов с I vs III стадией НМРЛ; над столбцами указана статистическая значимость (точный тест Фишера) различий внутри подгрупп сравнения (значимое различие выделено жирным шрифтом); по оси абсцисс – пороги уровня экспрессии TUBB3 (%), по оси ординат – доля пациентов (%); белый цвет – I стадия (n = 25), черный – III стадия НМРЛ (n = 40)

преимущество ранней стадии: течение заболевания у таких пациентов по агрессивности соответствует III стадии НМРЛ.

Информативность дискриминационного уровня экспрессии TUBB3 ≥ 50% как показателя агрессивности течения I стадии НМРЛ подтверждена и при внутригрупповом анализе – при экспрессии в опухоли TUBB3 ≥ 50% в сравнении с показателем экспрессии TUBB3 < 35%, который ранее был предложен в качестве маркёра благоприятного течения болезни [20]. Анализ выявил следующие закономерности. Пациенты с I стадией НМРЛ с низким уровнем экспрессии в опухоли TUBB3 < 35% имеют значительно лучший прогноз по сравнению с I стадией НМРЛ с гиперэкспрессией TUBB3 ≥ 50%: в первой подгруппе медиана 5-летней выживаемости не достигнута, тогда как во второй – составила только 32,5 мес. Различия между этими подгруппами (I стадия НМРЛ, TUBB3 < 35% vs I стадия НМРЛ, TUBB3 ≥ 50%) статистически значимы и риск наступления летального исхода в первой подгруппе оказался в 7 раз ниже (HR = 0,14; p = 0,01). Таким образом, внутригрупповой сравнительный анализ выживаемости пациентов с I стадией НМРЛ с разным уровнем TUBB3 в опухоли показал, что гиперэкспрессия TUBB3 ≥ 50% ассоциирована с агрессивностью НМРЛ при ранней стадии заболевания. Это заключение подтвердили результаты ROC-анализа на временной точке 60 мес. (рис. 3).

Данные, представленные на рис. 3, показывают, что площадь под ROC-кривой (AUC) составила 0,7 (95% ДИ: 0,53–0,86), что статистически значимо отличается (p = 0,04) от значения AUC = 0,5 (нулевая гипотеза, случайное разделение) и свидетельствует об умеренной клинически значимой дискриминационной способности показателей экспрессии TUBB3.

Согласно максимальному индексу Юдена (J = 0,394), оптимальным пороговым значением является уровень экспрессии TUBB3 ≥ 50%. При данном пороге чувствительность составила 47,1% (95% ДИ: 31,5–63,3%), специфичность – 92,3% (95% ДИ: 66,7–99,6%). Пороговый уровень экспрессии TUBB3 ≥ 50% характеризуется также высокой положительной прогностической ценностью (94,1%), что позволяет рассматривать его как надежный маркёр неблагоприятного прогноза. Отношение правдоподобия для положительного результата (LR^+ = 6,1) указывает на шестикратное увеличение шанса летального исхода в течение 5 лет у пациентов с экспрессией TUBB3 ≥ 50%.

Обсуждение

Поиск новых прогностических ориентиров, помогающих выявлять пациентов с агрессивным

Межгрупповой и внутригрупповой анализ Каплана–Майера общей выживаемости и риска наступления летального исхода у пациентов с I стадией немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) с разным уровнем экспрессии TUBB3

Группы сравнения	Медиана (мес)[1]	HR[2]	95% ДИ[3]	p[4]	Вывод
I стадия НМРЛ, TUBB3 ≥ 50% vs III стадия НМРЛ, любой TUBB3	32,5 vs 21,0	1,44	0,26–7,74	0,69	прогноз идентичен
I стадия НМРЛ, TUBB3 < 35% vs I стадия НМРЛ, TUBB3 ≥ 50%	не достигнута vs 32,5	0,14	0,01–3,23	0,01	прогноз лучше

Примечание. [1] – медиана общей выживаемости в группах сравнения, [2] – отношение рисков наступления летального исхода (лог-ранк метод); [3] – 95% доверительный интервал; [4] – уровень статистической значимости различий (лог-ранк тест Мантела–Кокса).

течением НМРЛ уже на ранних стадиях заболевания, является предметом многих исследований, так как тактика ведения радикально оперированных пациентов «лечить или наблюдать» остается не до конца объективизированной. Клинико-морфологические характеристики даже в совокупности с показателем диссеминации опухолевых клеток STAS не позволяют с уверенностью выделить группу пациентов, которым адъювантная терапия принесет пользу, а не будет избыточной [3–5].

Поиск новых прогностических ориентиров, способных более точно стратифицировать пациентов с ранними стадиями НМРЛ по риску агрессивного течения болезни – это современный тренд, в котором особое внимание отведено молекулярно-генетическим маркёрам в соответствии с клиническими рекомендациями 2025 г. [11].

В настоящей работе исследована возможность стратификации риска пациентов с I стадией НМРЛ по показателям уровня в опухоли белка микротрубочек TUBB3, гиперэкспрессия которого ассоциирована с агрессивным метастатическим потенциалом клеток и лекарственной резистентностью опухолей [16]. Решить эту задачу позволило использование иммунофлуоресцентного метода, ассоциированного с проточной

Показатель	**Значение**
AUC	0,696
95% ДИ для AUC	0,528 – 0,863
Уровень значимости	0,040
Оптимальный порог уровня экспрессии TUBB3 по индексу Юдена	**≥ 50%**
Значение индекса Юдена (J)	0,394
Чувствительность, % (95% ДИ для чувствительности, %)	47,1 (31,5 – 63,3)
Специфичность, % (95% ДИ для специфичности, %)	92,3 (66,7 – 99,6)
Прогностическая ценность положительного результата (PPV), %	94,1
Отношение правдоподобия положительного результата (LR+)	6,12

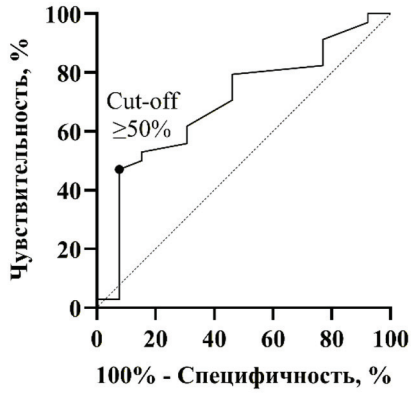


Рис. 3. Результаты ROC-анализа оценки дискриминационной способности показателей уровня экспрессии TUBB3; в таблице: AUC – площадь под ROC-кривой, 95% ДИ – 95% доверительный интервал; на рисунке ROC-кривой: по оси абсцисс – 100% минус специфичность (доля ложноположительных результатов), по оси ординат – чувствительность (доля истинно положительных результатов); диагональная пунктирная линия соответствует AUC = 0,5 (нулевая гипотеза, случайное разделение). Точка на кривой – дискриминационный порог (cut-off) ≥ 50% соответствует оптимальному пороговому значению уровня экспрессии TUBB3 при максимальном значении индекса Юдена (J = 0,394)

цитометрией, который в отличие от ИГХ-анализа оценивает уровень экспрессии маркёра количественно, исключая субъективизм.

Межгрупповой (I стадия НМРЛ, TUBB3 ≥ 50% vs III стадия НМРЛ, любой уровень TUBB3) и внутригрупповой (I стадия НМРЛ с уровнем экспрессии TUBB3 в опухоли ≥ 50% vs < 35%) анализ Каплана–Майера и лог-ранк тест риска наступления летального исхода показали, что уровнь гиперэкспрессии в опухоли белка цитоскелета TUBB3 ≥ 50% ассоциирован с агрессивным фенотипом НМРЛ уже при ранней стадии заболевания.

ROC-анализ показал, что уровень экспрессии TUBB3 обладает умеренной клинически значимой дискриминационной способностью для прогнозирования исхода заболевания (AUC = 0,7; 95% ДИ: 0,53–0,86; p = 0,04). Оптимальный порог TUBB3 ≥ 50% для выделения группы неблагоприятного прогноза характеризуется высокой специфичностью – 92,3%. Это означает, что лишь 7,7% пациентов с уровнем TUBB3 ≥ 50% могут быть ошибочно отнесены к группе благоприятного прогноза. Чувствительность данного порога составила 47,1%, однако для задачи стратификации I стадии и решения вопроса о необходимости проведения адьювантного лечения высокая специфичность важнее высокой чувствительности: лучше не отнести пациента с благоприятным прогнозом в группу адьювантной послеоперационной химиотерапии, чем пропустить пациента с агрессивным течением.

В целом, результаты проведенного исследования продемонстрировали информативность количественного иммунофлуоресцентного метода, ассоциированного с проточной цитометрией, в оценке агрессивности НМРЛ по уровню экспрессии в опухоли TUBB3. Применение комплекса консервативных статистических методов позволило валидировать и обосновать правомочность использования порога гиперэкспрессии маркёра 50% для стратификации риска при I стадии заболевания как дополнительного ориентира при выборе тактики ведения радикально оперированных пациентов с НМРЛ – «лечить или наблюдать».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wang C., Wu Y., Shao J., et al. // BMC Cancer. 2020. Vol. 20. N 1. P. 150 (DOI: 10.1186/s12885-020-6621-1).
2. Jiang M.Q., Qian L.Q., Shen Y.J., et al. // Neoplasia. 2024 Vol. 50. P. 100979 (DOI: 10.1016/j.neo.2024.100979).
3. Libby D.M., Libby L.J., Ma X., et al. // Clin. Lung Cancer. 2025. Vol. 26. N 2. P. 116 (DOI: 10.1016/j.cllc.2024.10.016).
4. Luan K., Addeo A., Flores R.M., et al. // J. Thorac. Dis. 2024. Vol. 16. N 3. P. 2125 (DOI: 10.21037/jtd-24-305).
5. Locke M., Aung W.Y., Esposito M., et al. // Clin. Lung Cancer. 2025. Vol. 26. N 7. P. e560 (DOI: 10.1016/j.cllc.2025.07.001).
6. Lee T.H., Kuo C.Y., Shen Y.W., et al. // World J. Surg. Oncol. 2025. Vol. 23. N 1. P. 325 (DOI: 10.1186/s12957-025-03980-2).
7. Xu W., Jia G., Davie J.R., et al. // J. Thorac. Oncol. 2016. Vol. 11. N 12. P. 2150 (DOI: 10.1016/j.jtho.2016.07.023).
8. Bian R., Zhao F., Peng B., et al. // Clin. Respir. J. 2024. Vol. 18. N 11. P. e70022 (DOI: 10.1111/crj.70022).
9. Jiang Y., Lin Y., Fu W., et al. // Transl. Lung Cancer Res. 2025. Vol. 14. N 5. P. 1531 (DOI: 10.21037/tlcr-2025-20).
10. Young C.D., Carey K.M., Dill C.D., et al. // Sci. Rep. 2025. Vol. 15. N 1. P. 34762 (DOI: 10.1038/s41598-025-18567-w).
11. Marmarelis M.E., Aggarwal C. // Healio. 2025. Available at: https://www.healio.com/news/hematology-oncology/20251114/updated-nccn-guidelines-on-nsclc-put-spotlight-on-biomarker-testing.
12. Travis W.D., Eisele M., Nishimura K.K., et al. // J. Thorac. Oncol. 2024. Vol. 19. N 7. P. 1028 (DOI: 10.1016/j.jtho.2024.03.015).
13. Zhang J., Chen N., Qi J., et al. // J. Cancer Res. Clin. Oncol. 2014. Vol. 140. N 8. P. 1441 (DOI: 10.1007/s00432-014-1687-2).
14. Niu Y., Han X., Zeng Y., et al. // J. Cancer Res. Clin. Oncol. 2023. Vol. 149. N 10. P. 7125 (DOI: 10.1007/s00432-023-04619-z).
15. Zhao D., Deshpande R., Wu K., et al. // Neoplasia. 2025. Vol. 60. P. 101100 (DOI: 10.1016/j.neo.2024.101100).
16. Bogush T.A., Lee A., Kalyuzhny S.A., et al. // Mosc. Univ. Chem. Bull. 2024. Vol. 79. N 6. P. 435 (DOI: 10.3103/S0027131424700457).
17. Reiman T., Lai R., Veillard A.S., et al. // Ann. Oncol. 2012. Vol. 23. N 1. P. 86 (DOI: 10.1093/annonc/mdr033).
18. Oncology Society of Chinese Medical Association. Chinese Medical Association guideline for clinical diagnosis and treatment of lung cancer (2024 edition). Zhonghua Zhong Liu Za Zhi. 2024. Vol. 46. N 9. P. 805 (in Chinese) (DOI: 10.3760/cma.j.cn112152-20240510-00189).
19. Bogush T.A., Basharina A.A., Eliseeva B.K., et al. // Biotechniques. 2020. Vol. 69. N 4. P. 257 (DOI: 10.2144/btn-2020-0024).
20. Богуш Т.А., Гришанина А.Н., Ли А. и др. // Антибиотики и Химиотерапия. 2025. Т. 70. № 5-6. С. 27 (DOI: 10.37489/0235-2990-2025-70-5-6-27-33).

Сведения об авторах

Мария Александровна Свентицкая – ассистент, преподаватель кафедры медицинской и биологической физики Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) (ma_sventitskaya@mail.ru, ORCID: 0009-0000-5766-0761);

Татьяна Анатольевна Богуш – вед. науч. сотр. лаборатории трансляционной онкоиммунологии отдела онкоиммунологии НИИ экспериментальной онкологии и канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, заслуженный деятель науки РФ, докт. биол. наук, профессор (tatbogush@mail.ru, ORCID: 0000-0002-7673-4284);

Анна Николаевна Гришанина – ст. науч. сотр. лаборатории трансляционной онкоиммунологии отдела онкоиммунологии НИИ экспериментальной онкологии и канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (a.grishanina@ronc.ru, ORCID: 0000-0002-4277-9222);

Елена Александровна Богуш – доцент кафедры онкологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), канд. мед. наук (elena_bogush@yahoo.com, ORCID: 0000-0001-5601-3669);

Владислав Юрьевич Кирсанов – доцент кафедры онкологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), канд. мед. наук (labmedchem@mail.ru, ORCID: 0000-0003-0040-3136);

Александр Михайлович Щербаков – зав. лабораторией онкопротеомики отдела экспериментальной биологии опухолей НИИ экспериментальной онкологии и канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, канд. биол. наук (alex.scherbakov.2010@ya.ru, ORCID: 0000-0002-2974-9555);

Алексей Ли – лаб.-исследователь лаборатории трансляционной онкоиммунологии отдела онкоиммунологии НИИ экспериментальной онкологии и канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (leealexey1411@gmail.com, ORCID: 0000-0002-9931-1153).

Михаил Яковлевич Мельников – зав. кафедрой химической кинетики химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, профессор, докт. хим. наук (melnikov46@mail.ru, ORCID:0000-0002-9712-8929).

Вклад авторов

Все авторы внесли эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Все процедуры, выполненные в данной работе, соответствуют этическим стандартам институционального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

Статья поступила в редакцию 12.07.2026;
одобрена после рецензирования 16.08.2026;
принята к публикации 25.09.2026.