

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2023.05.22-31>

Длина теломер и геномная нестабильность у пациентов с раком легких и сопутствующей сердечно-сосудистой патологией

Асанов М.А.¹, Синицкий М.Ю.¹, Синицкая А.В.¹, Хуторная М.В.¹, Понасенко А.В.¹, Минина В.И.²

1 – ФГБНУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний
650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6

2 – Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН
650000, г. Кемерово, пр-т Советский, д. 18

Рак легкого (РЛ) представляет собой один из наиболее часто диагностируемых видов злокачественных новообразований легочной и бронхиальной ткани и ведущей причиной смерти от заболеваний такого типа во всем мире. Нестабильность генома является важным признаком почти всех видов рака человека, и изучение в этом направлении биологии рака активно развивается в настоящее время. Сердечно-сосудистые заболевания и рак имеют общие модифицируемые факторы риска, патофизиологические механизмы и взаимный вклад в геномную нестабильность.

Цель настоящего исследования – определить признаки геномной нестабильности при РЛ с коморбидной сердечно-сосудистой патологией посредством использования микроядерного теста и относительной длины теломер (ОДТ), уровня экспрессии гена *hTERT* методом кПЦР

В группу исследования включены 80 мужчин с диагностированным РЛ, в контрольную группу – 100 мужчин без онкопатологии близкого возраста, проживающие в той же местности. На лимфоцитах крови выполняли микроядерный тест. Длина теломерных участков ДНК оценивалась при помощи количественной полимеразной реакции. В результате отмечено увеличение частоты встречаемости маркеров цитогенетических нарушений при РЛ. В лимфоцитах лиц контрольной группы зарегистрирован более высокий уровень показателей пролиферативного пула, индекса репликации. ОДТ контрольной группы в 1,6 раза короче ОДТ лимфоцитов группы РЛ. У пациентов с РЛ и сопутствующей ишемической болезнью сердца обнаружены отличия в частоте встречаемости апоптоза от аналогичных генотоксических показателей у пациентов без сердечно-сосудистых заболеваний. Ген *hTERT* не экспрессировался.

Ключевые слова: рак легкого, геномная нестабильность, микроядерный тест, теломеры, атеросклероз.

Для цитирования: Асанов М.А., Синицкий М.Ю., Синицкая А.В., Хуторная М.В., Понасенко А.В., Минина В.И. Длина теломер и геномная нестабильность у пациентов с раком легких и сопутствующей сердечно-сосудистой патологией. *Медицинская генетика* 2023; 22(5): 22-31.

Автор для корреспонденции: Асанов М.А.; e-mail: asmaks988@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ КПССЗ № 0419-2022-0002 «Разработка инновационных моделей управления риском развития болезней системы кровообращения с учетом коморбидности на основе изучения фундаментальных, клинических, эпидемиологических механизмов и организационных технологий медицинской помощи в условиях промышленного региона Сибири».

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 04.05.2023

Biology of telomeres and genomic instability in the pathogenesis of lung cancer with cardiovascular pathology

Asanov M.A.¹, Sinitsky M.Y.¹, Sinitskaya A.V.¹, Khutorная M.V.¹, Ponasenko A.V.¹, Minina V.I.²

1 – Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases
6, Sosnoviy blvd., Kemerovo, 650002, Russian Federation

2 – The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry
18, Sovetsky Ave., Kemerovo, 650000, Russian Federation

Lung cancer is one of the most commonly diagnosed cancers and the leading cause of cancer death worldwide. Genomic instability is an important feature of almost all human cancers. Cardiovascular disease and cancer share modifiable risk factors, pathophysiological mechanisms, and mutual contributions to genomic instability. Cardiovascular disease and cancer have common modifiable risk factors, pathophysiological mechanisms and mutual contributions to genomic instability. 80 men with lung cancer were examined. The control group included 100 men without oncopathology of close age, living in the same area. A micronucleus assay was performed on blood lymphocytes. The length of DNA telomeric regions was estimated using a quantitative polymerase reaction. An increase in the frequency of occurrence of markers of cytogenetic disorders in patients with lung cancer was noted. In the lymphocytes of the control group,

a higher level of indicators of the proliferative pool, the replication index, was registered. The relative telomere length of people in the control group is 1.6 times shorter than the telomere length of patients with lung cancer. In patients with lung cancer and concomitant coronary heart disease, differences in the incidence of apoptosis from similar genotoxic parameters in patients without cardiovascular disease were found. The *hTERT* gene was not expressed.

Keywords: lung cancer, genomic instability, micronucleus assay, telomere, atherosclerosis.

For citation: Asanov M.A., Sinitsky M.Y., Sinitskaya A.V., Khutornaya M.V., Ponasenko A.V., Minina V.I. Biology of telomeres and genomic instability in the pathogenesis of lung cancer with cardiovascular pathology. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]*. 2023; 22(5): 22-31. (In Russ.)

Corresponding author: Asanov M.A., e-mail: asmaks988@gmail.com

Funding: The work was supported by a comprehensive program of fundamental scientific research of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences within the framework of the fundamental project of the Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases No. 0419-2022-0002.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interests.

Accepted: 04.05.2023

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) и рак являются двумя ведущими причинами смерти во всем мире, и ежегодно на них приходится примерно 17,9 млн и 9,6 млн смертей по всему миру соответственно. По оценкам, ежегодно регистрируется 2,2 миллиона новых случаев онкозаболеваний. Рак легкого (РЛ) является одним из наиболее часто диагностируемых видов онкопатологии и ведущей причиной смерти от рака во всем мире [1]. Существенное улучшение общего понимания биологии заболевания, применение прогностических биомаркеров и усовершенствование лечения привели к значительному прогрессу терапии и изменению результатов лечения многих пациентов [2].

Из ССЗ ишемическая болезнь сердца (ИБС) чаще всего является сопутствующим заболеванием у пациентов с РЛ. Отношения между этими двумя коморбидными состояниями сложны. ССЗ и рак имеют общие модифицируемые факторы риска и патофизиологические механизмы, результаты лечения одного из этих заболеваний могут зависеть от другого [3].

Геномная нестабильность является важным признаком почти всех видов рака человека и активно исследуется для детального понимания биологии рака. Существуют два основных типа нестабильности генома при раке человека [4]. Одним из них является микросателлитная нестабильность, которая характеризуется дупликациями или делециями некоторого количества олигонуклеотидов в микросателлитных последовательностях. Второй тип — хромосомная нестабильность, включающая в себя приобретение или потерю больших частей или целых хромосом в период между клеточными делениями.

Теломеры представляют собой тандемные повторы нуклеотидов TTAGGG, расположенные на концах линейных хромосом, которые необходимы для поддержания стабильности генома во время клеточного деле-

ния [5]. Изменение длины теломерных участков ДНК может вызывать хромосомную нестабильность и приводить к иммортализации клеток и накоплению генетических аберраций, потенциально способствующих канцерогенезу [5].

Существует множество инструментов для исследования геномной нестабильности: молекулярно-генетические и цитогенетические методы, направленные на детекцию изменения участков ДНК, хромосом и генома в целом. В частности, микроядерный тест представляет собой многоцелевой цитогенетический метод, позволяющий измерять несколько ядерных аномалий, указывающих на многие аспекты геномной нестабильности, включая структурные и/или числовые хромосомные аберрации и нарушение сегрегации хромосом во время митоза [6].

В современном мире человек подвергается воздействию различных генотоксических агентов, присутствующих в загрязненной окружающей среде. Хотя более 80% случаев РЛ связаны с воздействием табака, в частности табачного дыма, нитрозамина [7], только у 15% курильщиков в течение жизни развивается РЛ.

Кроме того, лечение рака, включая химиотерапию, таргетную и лучевую терапию, было связано с увеличением сердечно-сосудистых осложнений, независимо от других факторов риска [8]. Например, по оценкам курение сигарет является причиной 71% смертности, связанной с РЛ и 10% смертности от ССЗ соответственно. В настоящее время наблюдается снижение заболеваемости РЛ у мужчин в два раза быстрее, чем у женщин [9]. Тем не менее, число новых случаев РЛ продолжает расти в странах с низким уровнем дохода, где инициативы общественного здравоохранения по отказу от курения отстают, а доступность медицинской помощи недостаточна. Кроме того, РЛ продолжает диагностироваться у людей, которые никогда не курили [10].

Воспаление и окислительный стресс являются ключевыми механизмами в патофизиологии обоих состояний [11]. Другой связью между РЛ и ССЗ является пожилой возраст [8]. Таким образом, актуально определить вклад сердечно-сосудистой коморбидности, а в частности ИБС, в нестабильность геномного аппарата человека при онкопатологии.

Цель настоящего исследования – определить признаки геномной нестабильности при РЛ посредством использования микроядерного теста и относительной длины теломер (ОДТ), уровня экспрессии гена *hTERT* методом кПЦР и сравнить полученные данные в группах больных РЛ с ИБС и без сердечно-сосудистой коморбидности.

Методы

Характеристика изучаемых групп

Группа исследования, состоящая из пациентов с диагностированным РЛ, сформирована на базе ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер». Отбор участников проводился по следующим критериям: проживание на территории Кемеровской области не менее 20 лет; отсутствие близких родственников, имеющих в анамнезе онкопатологию; отсутствие инфекционных заболеваний на момент отбора проб. Для адекватной оценки вклада геномной нестабильности в онкогенез сбор крови проводился до начала лучевой или химиотерапии. Определение и описание анатомического распространения поражения: использована система TNM, где: Т (*tumor*) – величина первичной опухоли и ее месторасположение, N (*nodus*) – распространение опухоли на лимфоузлы, М (*metastasis*) – наличие метастазов рака в других частях тела [20]. В группу исследования вошли 80 человек, средний возраст которых составил 59 лет.

В анамнезе больных с онкологической патологией учитывалась коморбидность различного характера, в том числе наличие ССЗ. Также пациенты с РЛ обследованы врачом-кардиологом, и при отсутствии ССЗ в анамнезе или при выявлении симптомов ССЗ направлялись на дополнительные обследования для уточнения диагноза. Диагноз «ишемическая болезнь сердца» установлен профильным специалистом согласно Национальным рекомендациям Всероссийского научного общества кардиологов по диагностике и лечению стабильной стенокардии.

Контрольная группа составлена из 100 здоровых мужчин-доноров, средний возраст – 55 лет. Более подробное описание исследуемых когорт представлено в табл. 1. Все участники проинформированы о содер-

жании проекта и подписали добровольное согласие. Настоящее исследование соответствует Правилам клинической практики в Российской Федерации, утвержденными Министерством здравоохранения Российской Федерации от 19 июня 2003 г. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФИЦ УУХ СО РАН (протокол № 1 от 20.01.2021).

Молекулярно-генетическое исследование для уточнения биологии теломер (определение ОДТ и экспрессии гена *hTERT*) проведено с использованием образцов крови, выбранных из общего пула исследуемого материала: десяти – от пациентов с РЛ и десяти – из группы здоровых людей.

Материал исследования, а именно образцы венозной крови, получен из локтевой вены. Для цитогенетического исследования образцы помещались в вакуеттеры с Na-гепарином (Greiner Bio-One, Австрия), для молекулярно-генетического анализа – с ЭДТА (Greiner Bio-One, Австрия).

Микроядерный тест

Анализ и подсчет цитогенетических показателей осуществляли посредством микроядерного теста в лимфоцитах периферической крови в условиях цитокинетического блока [6]. В условиях ламинарного шкафа готовили смеси в стерильных флаконах для культивирования из следующих компонентов: среда RPMI-1640 3 мл (ПанЭко, Россия), эмбриональная сыворотка крупного рогатого скота 0,8 мл (ПанЭко, Россия), фитогеммагглютинин (ПанЭко, Россия) 30 мкл. Среда подготавливалась заранее из расчета: 450 мл культуральной среды, 146 мг L-глутамин (ПанЭко, Россия), 100 ед/мл гентамицина (ПанЭко, Россия). После добавлении вышеуказанных компонентов, аккуратно переносили кровь во флакон в объеме 0,2 мл. Образцы культивировали 44 часа при температуре 37°C. Каждый день их аккуратно перемешивали. На 44 часу в каждый флакон внесли цитохалазин Б до конечной концентрации 6 мкг/мл, то есть 24 мкл, и продолжили культивировать ещё 28 часов. Затем проводили непосредственно фиксацию клеток, к взвеси клеток добавляли гипотонический раствор KCl и фиксатор Карнуа. Для визуализации препараты окрашивали 2% раствором Гимза (ПанЭко, Россия), после проводили анализ на микроскопе Nikon Eclipse 80i (Nikon Corp., Япония) при тысячекратном увеличении.

Выделение и синтез нуклеиновых кислот

Выделение ДНК проводили с использованием стандартного метода фенол-хлороформной экстракции. Вы-

деление РНК проводилось стандартным методом с использованием TRIzol. Количество и чистоту выделенной РНК определяли на спектрофотометре NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, США), а ее качество – на флуориметре Qubit 4 (Invitrogen, США) путем оценки индекса RIQ (RNA Integrity and Quality) с использованием набора реагентов Qubit RNA IQ Assay Kit (Invitrogen, США). Набор «РЕВЕРТА-L» (Amplisens, Россия) использовался для проведения обратной транскрипции и синтеза комплементарной ДНК (кДНК) на основе выделенной РНК.

Оценка генной экспрессии

Для измерения экспрессии *hTERT* использовался метод количественной ПЦР (кПЦР) с SYBR Green праймерами, изготовленными компанией ЗАО «Евроген» (г. Москва, Россия), на амплификаторе ViiA 7 (Applied Biosystems, США). Нормирование результатов ПЦР проводилась с помощью референсных генов *HPRT1*, *GAPDH*, *B2M* (табл. 2) на амплификаторе ViiA 7 (Applied Biosystems, США).

Оценка относительной длины теломер

Длина теломерных участков ДНК оценивалась методом кПЦР с детекцией результата в режиме реального времени с флуоресцентным красителем SYBR Green на амплификаторе CFX96 Real-Time System (Bio-Rad,

USA). Праймеры синтезированы ЗАО «Евроген» (табл. 3). Для оценки эффективности ПЦР анализировали графики амплификации и стандартные кривые в программе Bio-Rad CFX Manager. ОДТ рассчитывали по формуле: $T/S \text{ ratio} = 2^{\Delta C_t}$, где T/S ratio – это отношение циклов, C_t – пороговый цикл. Оценка ОДТ каждого образца ДНК проводилась три раза для измерения средней величины и большей достоверности результатов.

Результаты

Цитогенетический анализ

1. Анализ основных цитогенетических показателей

Данное исследование направлено на изучение генетической нестабильности и биологии теломер пациентов с РЛ с сопутствующей коморбидной патологией, в данном случае – ИБС (атеросклероз коронарных артерий). Нами установлено, что частота встречаемости двухъядерных лимфоцитов у пациентов с РЛ в группах с микроядрами (МЯ) почти двукратно превышает аналогичные показатели здоровых людей ($p < 0,05$) (табл.4). Также выявлено двукратное превышение двухъядерных лимфоцитов с нуклеоплазмным мостом в группе больных РЛ ($p < 0,05$). Однако количество двухъядерных лимфоцитов с протрузией у здоровых людей незначительно преобладало над данным показателем группы

Таблица 1. Характеристика изучаемых когорт

Table 1. Characteristics of the studied cohorts

Характеристика	Больные раком легкого	Контрольная группа
Средний возраст (лет)	59	55
Статус курения:		
Курящие	54	47
Некурящие	26	53
Стаж курения:		
<10 лет	0	4
10-24 лет	9	33
≥25 лет	45	10
TNM классификация		
0, I, II	26	
III, IV	54	
Тип злокачественного новообразования:		
мелкоклеточный РЛ	14	
немелкоклеточный РЛ	36	
другие	9	
Стадия заболевания:		
I-II	26	
III-IV	54	
Сопутствующие заболевания сердечно-сосудистой системы:		
ИБС	36	

с пациентами с ИБС и без (табл. 6), внутри группы РЛ различий не выявлено.

Молекулярно-генетический анализ

1. Сравнение длины теломер

Анализ биологии теломер в патогенезе онкологических заболеваний был одной из задач в настоящем исследовании. Результаты исследования показали, что ОДТ людей контрольной группы в 1,6 раза короче ОДТ пациентов с РЛ, медиана отношения циклов 13,05 и 21,81 соответственно ($p < 0,05$). Нами выявлена достоверная ассоциация между длиной теломер и уровнем встречаемости двухъядерных лимфоцитов с протрузиями (табл. 7). В дополнение и для понимания биологии теломер был проанализирован уровень экспрессии гена *hTERT*. Ген *hTERT* не экспрессировался во всех группах.

2. Сравнение длин теломер пациентов с коморбидностью и без

Для определения влияния ишемии коронарных артерий в онкогенезе сравнили ОДТ внутри группы с РЛ (рис. 3); достоверных различий не было выявлено. Группа здоровых людей достоверно отличалась от каждой из подгрупп ($p < 0,05$).

Курение как индуцирующий фактор поврежденной ДНК

При оценке частоты обнаружения таких основных цитогенетических показателей как МЯ, протрузии и нуклеоплазменные мосты в лимфоцитах, а также ОДТ у курящих и некурящих мужчин статистически значимых различий выявлено не было ($p > 0,05$).

Обсуждение

Онкогенез при РЛ представляет собой многоэтапный процесс, включающий генетические изменения.

Генетические и поведенческие факторы, такие как курение и воздействие окружающей среды, являются хорошо известными факторами риска развития РЛ. Геномная нестабильность является одной из отличительных черт онкологических заболеваний и приводит к генетическим aberrациям на различных уровнях от мутаций в одиночных или нескольких нуклеотидах до изменений части или целых хромосом, в том числе изменения длины теломер [12]. Теломеры представляют собой ДНК-белковые структуры на концах хромосом, которые защищают геном от повреждений, прогрессивно укорачиваются с течением времени в большинстве соматических клеток и считаются физиологическими маркерами старения [13]. Более короткие теломеры лейкоцитов коррелируют с пожи-

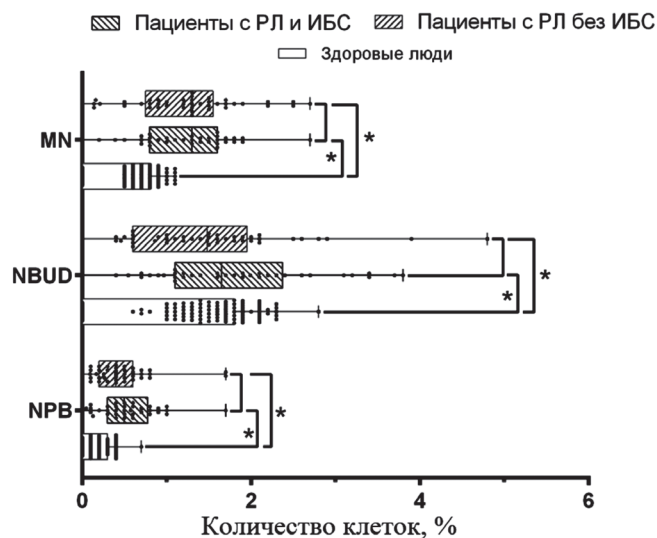


Рис. 1. 2-ядерные лимфоциты с аномалиями.

Примечание: * – $p < 0,05$; MN – микроядро; NBUD – протрузия; NPB – нуклеоплазменный мост.

Fig. 1. Binuclear lymphocytes with abnormalities.

Таблица 5. Показатели пролиферативного пула ($Me \pm QR$)

Table 5. Indicators of the proliferative pool ($Me \pm QR$)

Показатель	Больные РЛ (n=80)	Контрольная группа (n=100)
Апоптоз (%)	1,7±1,7	1,4±0,8*
Митоз (%)	3±1,4	3,8±1,2*
Индекс пролиферации	1,84±0,24	2,14±0,19*
Индекс репликации	1,86±0,25	2,02±0,14*

Примечание: n – количество; * – $p < 0,05$.

лым возрастом, мужским полом и другими известными факторами риска неинфекционных заболеваний и, как правило, связаны с более высоким риском ССЗ, диабета 2 типа, несосудистых и неопухолевых причин смертности [5]. Однако являются ли эти ассоциации причинно-следственными неизвестно. Длина теломер также связана с риском развития рака, но направление и величина связи неопределенны и противоречивы в исследованиях. В настоящее время существует моноклональная гипотеза, которая заключается в том, что процесс формирования атеросклероза в той или иной степени схож с канцерогенезом. В основе атеросклероза лежит мутационный процесс, превращающий одну изолированную гладкомышечную клетку в прародитель пролиферативного клона [21].

Ранее нами был проведен анализ хромосомных повреждений с помощью микроядерного теста [14], включающий результаты сравнения цитогенетических повреждений у больных РЛ и здоровых людей, количеством по 50 человек в каждой группе. В настоящей работе при увеличении выборки до 80 пациентов и 100 здоровых людей показатели (двухъядерные лимфоциты с аномалиями) и достоверные различия между данными существенно не изменились, кроме двухъядерных лимфоцитов с протрузиями.

В отличие от предыдущей работы, где был представлен только индекс репликации (ИР), в данное исследование включены анализ полного спектра показателей пролиферативного пула (ИР, ИП и митоз), а также количество апоптических клеток. Межгрупповые

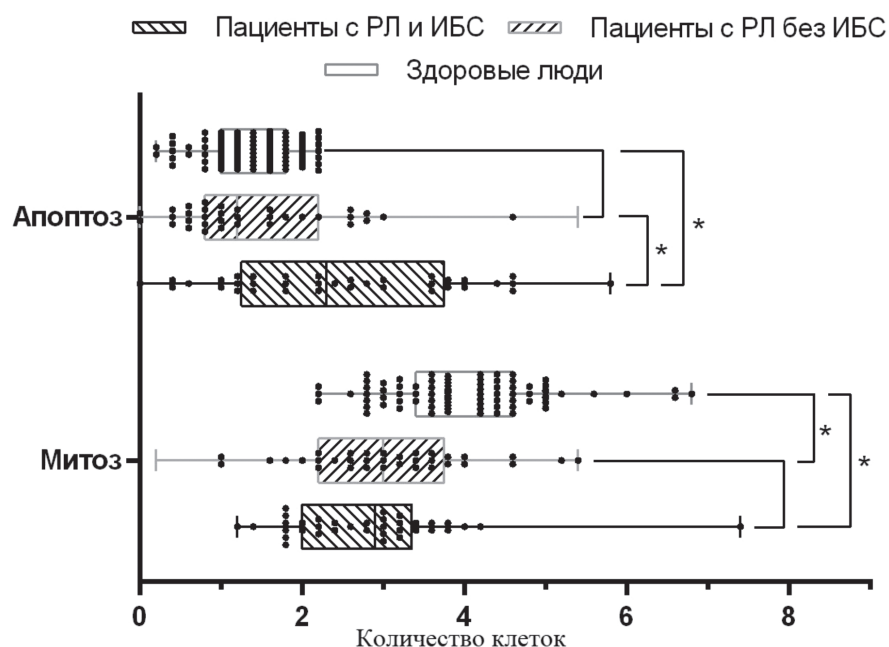


Рис. 2. Количество митотических и апоптических клеток.

Примечание: * – $p < 0,05$

Fig. 2. The number of mitotic and apoptotic cells.

Таблица 6. Маркеры пролиферативного пула пациентов с ИБС и без (Me±QR)

Table 6. Markers of the proliferative pool of CAD patients and without CAD patients (Me±QR)

Показатель	Больные РЛ с ИБС (n=36)	Больные РЛ без ИБС (n=44)	Контрольная группа
ИП	1,86±0,24	1,81±0,19	2,14±0,19*
ИР	1,87±0,25	1,86±0,31	2,02±0,14*

Примечание: n – количество; * – $p < 0,05$.

различия по показателям пролиферативного пула при увеличении выборки остались статистически значимыми (рис. 1, $p < 0,05$). Однако данное исследование показало также достоверное различие по уровню апоптоза. Возможно, более высокая встречаемость апоптотических клеток в группе пациентов связана со стрессом эндоплазматического ретикулума [15]. Известно, что уровень повреждений нуклеиновых кислот лимфоцитов в определенной степени может отражать уровень повреждений в клетках-предшественницах непосредственно раковых клеток [14]. Механизмы цитотоксичности и генотоксичности включают повреждение ДНК и ингибирование синтеза ДНК в раковых клетках, которые впоследствии предотвращают или усиливают их гибель за счет активации различных сигнальных путей, включая стресс эндоплазматического ретикулума и аутофагию [15].

В нашем исследовании теломерные участки пациентов с РЛ парадоксально длиннее теломер здоровых людей. Ранее описывали более короткие теломеры в патогенезе РЛ [16], однако в последние годы парадокс длины теломер широко обсуждается. Результаты Дружинина и соавт. показали, что длина теломер пациентов с РЛ почти в два раза превышает данный показатель здоровых людей [17]. Aviv и соавт. для объяснения парадокса длины теломер создали двухэтапную модель канцерогенеза [18]. В данной модели предполагается, что после серии мутационных повреждений на первом этапе на уровне стволовых клеток создается клон с репликативным преимуществом. После второй серии повреждений происходит трансформация клона в онкоклетку. Примечательно, что длина теломер играет небольшую роль или не играет никакой роли на первой стадии канцерогенеза, которая происходит на уровне стволовых клеток, однако она является ключевой детерминантой развития рака на второй стадии — клональной экспансии.

В данной работе выявлена прямая зависимость длины теломерных участков ДНК и количества двухъядерных лимфоцитов с протрузией. Как известно, протрузии возникают в процессе амплификации ДНК при сбое в механизме репликации [6]. Длинные тело-

меры связаны с большим количеством репликаций в патогенезе онкозаболеваний [18]. Возможно, чем длиннее теломеры, тем больше репликаций и тем больше шанс образований протрузий.

Первоначальные исследования активности теломеразы в нормальных Т-клетках периферической крови показали небольшую активность или ее отсутствие [19], что подтвердилось в настоящем исследовании. По данным проекта Genotype-Tissue Expression TPM (transcripts per million) экспрессия гена *TERT* в лимфоцитах мужчин является довольно невысокой и равняется 0,044 [20]. Однако, другие исследования показали, что теломераза может экспрессироваться на высоких уровнях в лимфоцитах в качестве адаптивной стратегии для увеличения своей репликативной способности [16], что может быть адаптивным механизмом при онкопатологии.

Для определения влияния коморбидности при онкологических заболеваниях, в том числе вклада ате-

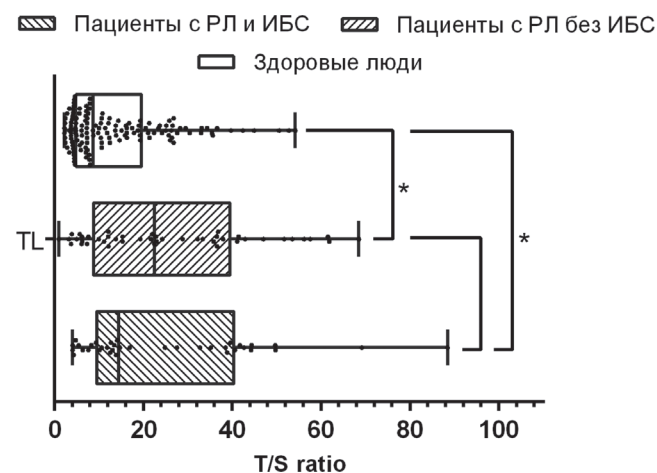


Рис. 3. Относительная длина теломер лимфоцитов пациентов

Примечание: * – $p < 0,05$; T/S ratio – это отношение циклов

Fig. 3. Relative length of telomeres of patients' lymphocytes

Таблица 7. Корреляционная зависимость между относительной длиной теломер и показателями микроядерного теста

Table 7. Correlation dependence of the relative length of telomeres and indicators of the micronucleus assay

	2-яд. с 1 МЯ	2-яд. с 1 МЯ	2-яд. с МЯ	2-яд. с 1 нуклеоплазменным мостом	2-яд. с протрузией	Индекс пролиферации	Индекс репликации	Апоптоз
ОДТ	0,09	0,01	-0,06	0,04	0,37*	-0,23	0,18	-0,09

Примечание: МЯ – микроядро; ОДТ – относительная длина теломер; * – $p < 0,05$.

росклероза коронарных артерий в геномную нестабильность и биологию теломер, оценивали частоту цитогенетических аномалий лимфоцитов [6], ОДТ и экспрессию генов пациентов с РЛ и ИБС. Ранее мы оценивали влияние атеросклероза коронарных артерий без острых сердечных событий на дополнительные неблагоприятные события в геномной нестабильности пациентов с РЛ с помощью микроядерного теста. В нашем исследовании подтвердились прошлые результаты, а точнее значимые различия по количеству апоптических клеток онкобольных с ИБС и без нее. По данным литературы пациенты с ИБС характеризовались повышенным уровнем хромосомных повреждений в циркулирующих клетках [22], при этом выживаемость лиц с ИБС с высоким уровнем цитогенетических аномалий была ниже по сравнению пациентами с более низким уровнем цитогенетических аномалий.

Известно, что оксидативный стресс связан с окислением клеточных макромолекул и ДНК и может являться основным механизмом генетической нестабильности при атеросклеротических поражениях [1].

Как было сказано выше, активные формы кислорода имеют непосредственное отношение к повреждениям ДНК, окисляя ее. Окислительное повреждение ДНК, оцененное путём кометного анализа, использовалось в качестве надежного маркера окислительного стресса [24]. Повышенные уровни окислительного повреждения ДНК были выявлены у пациентов с ИБС. Результаты исследования также показывают значительную и положительную корреляцию окислительного повреждения ДНК с антиоксидантной системой и тяжестью заболевания.

Возможно, гипоксия, свойственная атерогенезу, в частности атеросклерозу коронарных артерий, как источник окислительного стресса дополняет и усугубляет генетическую нестабильность у пациентов с легочной онкопатологией.

Заключение

В настоящей работе пациенты с РЛ характеризуются высоким уровнем хромосомной и геномной нестабильности, что при увеличении выборки подтверждает результаты предыдущего нашего анализа. Отмечены достоверные различия по ряду цитогенетических аномалий пациентов с сердечно-сосудистой коморбидностью и пациентов без ИБС. Для понимания биологии теломер в патогенезе РЛ, проведена оценка ОДТ и экспрессии гена *hTERT*. Полученные результаты продемонстрировали возможность совместного использова-

ния микроядерного теста и методов оценки биологии теломер в качестве биомаркеров геномной нестабильности в лимфоцитах периферической крови человека у пациентов с РЛ и сопутствующей сердечно-сосудистой коморбидностью.

Литература

1. International Agency for Research on Cancer. Global Cancer Observatory: cancer today. World Health Organization. <https://gco.iarc.fr/today>, 2020.
2. Howlader N., Forjaz G., Mooradian M.J., et al. The effect of advances in lung-cancer treatment on population mortality. *N Engl J Med.* 2020;383:640–649. doi: 10.1056/NEJMoa1916623.
3. Inohara T., Endo A., Melloni C. Unmet needs in managing myocardial infarction in patients with malignancy. *Front Cardiovasc Med.* 2019;6:57. doi: 10.3389/fcvm.2019.00057.
4. Li L., Zhang X., Tian T., Pang L. Mathematical modelling the pathway of genomic instability in lung cancer. *Sci Rep.* 2019;9(1):14136. doi: 10.1038/s41598-019-50500-w.
5. Салахов Р.Р., Понасенко А.В. Длина теломер и сердечно-сосудистые заболевания. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2018;7: 101-107.
6. Fenech M., Knasmueller S., Bolognesi C., et al. Micronuclei as biomarkers of DNA damage, aneuploidy, inducers of chromosomal hypermutation and as sources of pro-inflammatory DNA in humans. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2020;786:108342. doi: 10.1016/j.mrrev.2020.108342
7. El-Zein R.A., Lopez M.S., D'Amelio A.M.Jr. et al. The cytokinesis-blocked micronucleus assay as a strong predictor of lung cancer: extension of a lung cancer risk prediction model. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2014;23(11):2462–2470. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-14-0462.
8. Чазова И.Е., Ошепкова Е.В., Канторова А.Ю. Коморбидность сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний: проблемы диагностики кардиотоксических эффектов химио- и лучевой терапии. *Терапевтический архив.* 2015;87(9):4-10. doi: 10.17116/terarkh20158794-10.
9. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin.* 2020;70:7–30. doi: 10.3322/caac.21590.
10. Zhang T., Joubert P., Ansari-Pour N., et al. Genomic and evolutionary classification of lung cancer in never smokers. *Nat Genet.* 2021;53(9):1348-1359. doi: 10.1038/s41588-021-00920-0.
11. Barrera G. Oxidative stress and lipid peroxidation products in cancer progression and therapy. *ISRN Oncol.* 2012;2012:137289. doi: 10.5402/2012/137289.
12. Zito Marino F., Bianco R., Accardo M., et al. Molecular heterogeneity in lung cancer: from mechanisms of origin to clinical implications. *Int J Med Sci.* 2019;16(7):981-989. doi: 10.7150/ijms.34739.
13. Hamada T., Yuan C., Bao Y., et al. Prediagnostic Leukocyte Telomere Length and Pancreatic Cancer Survival. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2019;28(11):1868-1875. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-19-0577
14. Асанов М.А., Синицкий М.Ю., Понасенко А.В., Минина В.И. Геномная нестабильность лимфоцитов у больных раком легкого с сопутствующей ишемической болезнью сердца. *Гены и клетки.* 2021;16(2):61-65. doi:10.23868/202107007.
15. Liu G., Pei F., Yang F., Li L., et al. Role of Autophagy and Apoptosis in Non-Small-Cell Lung Cancer. *Int J Mol Sci.* 2017;18(2):367. doi: 10.3390/ijms18020367.

16. Qian Y., Ding T., Wei L., et al. Shorter telomere length of T-cells in peripheral blood of patients with lung cancer. *Onco Targets Ther.* 2016;4(9):2675-2682. doi: 10.2147/OTT.S98488.
17. Дружинин В.Г., Баранова Е.Д., Волобаев В.П., и др. Длина теломер и базовый уровень цитогенетических повреждений в лейкоцитах больных раком легкого. *Генетика.* 2022;58(1):86-98. doi:10.31857/S0016675822010027.
18. Aviv A., Anderson J.J., Shay J.W. Mutations, Cancer and the Telomere Length Paradox. *Trends Cancer.* 2017;3(4):253-258. doi: 10.1016/j.trecan.2017.02.005.
19. Counter C.M., Gupta J., Harley C.B., et al. Telomerase activity in normal leukocytes and in hematologic malignancies. *Blood.* 1995;85(9):2315-2320
20. The Genotype-Tissue Expression (GTEx) project. Доступ по ссылке: <https://gtexportal.org>
21. Park G.M., Lee J.H., Lee S.W., et al. Comparison of coronary computed tomographic angiographic findings in asymptomatic subjects with versus without diabetes mellitus. *Am J Cardiol.* 2015;116(3):372-378. doi: /10.1016/j.amjcard.2015.04.046.
22. Andreassi M.G., Barale R., Iozzo P., et al. The association of micronucleus frequency with obesity, diabetes and cardiovascular disease. *Mutagenesis.* 2011;26(1):77-83. doi: 10.1093/mutage/geq077.
23. Deavall D.G., Martin E.A., Horner J.M., et al. Drug-induced oxidative stress and toxicity. *J Toxicol.* 2012;2012:645460. doi: 10.1155/2012/645460.
8. Chazova I.E., Oschepkova E.V., Kantorova A.Yu. Komorbidnost' serdechno-sosudistykh i onkologicheskikh zabolevaniy: problemy diagnostiki kardiotoxicheskikh effektiv khimio- i luchevoy terapii [Comorbidity of cardiovascular diseases and cancers: Problems in the diagnosis of cardiotoxic effects of chemo- and radiation therapy]. *Terapevticheskii Arkhiv [Therapeutic archive].* 2015;87(9):4-10. (In Russ.). doi: 10.17116/terarkh20158794-10.
9. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin.* 2020;70:7-30. doi: 10.3322/caac.21590.
10. Zhang T., Joubert P., Ansari-Pour N., et al. Genomic and evolutionary classification of lung cancer in never smokers. *Nat Genet.* 2021;53(9):1348-1359. doi: 10.1038/s41588-021-00920-0.
11. Barrera G. Oxidative stress and lipid peroxidation products in cancer progression and therapy. *ISRN Oncol.* 2012;2012:137289. doi: 10.5402/2012/137289.
12. Zito Marino F., Bianco R., Accardo M., et al. Molecular heterogeneity in lung cancer: from mechanisms of origin to clinical implications. *Int J Med Sci.* 2019;16(7):981-989. doi: 10.7150/ijms.34739.
13. Hamada T., Yuan C., Bao Y., et al. Prediagnostic Leukocyte Telomere Length and Pancreatic Cancer Survival. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2019;28(11):1868-1875. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-19-0577
14. Asanov M.A., Sinitsky M.Y., Ponasenko A.V., Minina V.I. Genomnaya nestabil'nost' limfotsitov u bol'nykh rakom legkogo s soputstvuyushchey ishemicheskoy bolezn'yu serdtsa [Genomic instability of lymphocytes in patients with lung cancer with combined ischemic heart disease]. *Geny i kletki [Genes and Cells].* 2021;16(2):61-65. (In Russ.). doi:10.23868/202107007.

References

1. International Agency for Research on Cancer. Global Cancer Observatory: cancer today. World Health Organization. <https://gco.iarc.fr/today>, 2020.
2. Howlader N., Forjaz G., Mooradian M.J., et al. The effect of advances in lung-cancer treatment on population mortality. *N Engl J Med.* 2020;383:640-649. doi: 10.1056/NEJMoa1916623.
3. Inohara T., Endo A., Melloni C. Unmet needs in managing myocardial infarction in patients with malignancy. *Front Cardiovasc Med.* 2019;6:57. doi: 10.3389/fcvm.2019.00057.
4. Li L., Zhang X., Tian T., Pang L. Mathematical modelling the pathway of genomic instability in lung cancer. *Sci Rep.* 2019;9(1):14136. doi: 10.1038/s41598-019-50500-w.
5. Salakhov R.R., Ponasenko A.V. Dlina telomer i serdechno-sosudistyye zabolevaniya [Telomere length and cardiovascular diseases]. *Kompleksnyye problemy serdechno-sosudistykh zabolevaniy [Complex Issues of Cardiovascular Diseases].* 2018;7(4S):101-107. (In Russ). doi: 10.17802/2306-1278-2018-7-4S-101-107
6. Fenech M., Knasmueller S., Bolognesi C., et al. Micronuclei as biomarkers of DNA damage, aneuploidy, inducers of chromosomal hypermutation and as sources of pro-inflammatory DNA in humans. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2020;786:108342. doi: 10.1016/j.mrrev.2020.108342
7. El-Zein R.A., Lopez M.S., D'Amelio A.M.Jr. et al. The cytokinesis-blocked micronucleus assay as a strong predictor of lung cancer: extension of a lung cancer risk prediction model. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2014;23(11):2462-2470. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-14-0462.
15. Liu G., Pei F., Yang F., Li L., et al. Role of Autophagy and Apoptosis in Non-Small-Cell Lung Cancer. *Int J Mol Sci.* 2017;18(2):367. doi: 10.3390/ijms18020367.
16. Qian Y., Ding T., Wei L., et al. Shorter telomere length of T-cells in peripheral blood of patients with lung cancer. *Onco Targets Ther.* 2016;4(9):2675-2682. doi: 10.2147/OTT.S98488.
17. Druzhinin V.G., Baranova E.D., Volobaev V.P., et al. The length of telomeres and the baseline level of cytogenetic damage in leukocytes of lung cancer patients. *Russian Journal of Genetics.* 2022; 58(1): 73-84. doi: 10.31857/S0016675822010027.
18. Aviv A., Anderson J.J., Shay J.W. Mutations, Cancer and the Telomere Length Paradox. *Trends Cancer.* 2017;3(4):253-258. doi: 10.1016/j.trecan.2017.02.005.
19. Counter C.M., Gupta J., Harley C.B., et al. Telomerase activity in normal leukocytes and in hematologic malignancies. *Blood.* 1995;85(9):2315-2320
20. The Genotype-Tissue Expression (GTEx) project. Доступ по ссылке: <https://gtexportal.org>
21. Park G.M., Lee J.H., Lee S.W., et al. Comparison of coronary computed tomographic angiographic findings in asymptomatic subjects with versus without diabetes mellitus. *Am J Cardiol.* 2015;116(3):372-378. doi: /10.1016/j.amjcard.2015.04.046.
22. Andreassi M.G., Barale R., Iozzo P., et al. The association of micronucleus frequency with obesity, diabetes and cardiovascular disease. *Mutagenesis.* 2011;26(1):77-83. doi: 10.1093/mutage/geq077.
23. Deavall D.G., Martin E.A., Horner J.M., et al. Drug-induced oxidative stress and toxicity. *J Toxicol.* 2012;2012:645460. doi: 10.1155/2012/645460.