

MLPA-анализ гена *TP53* у больных мелкоклочным раком легкого

Гималова Г.Ф.^{1,2}, Абдуллин З.С.³, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

- 1 — Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук
450054, г. Уфа, Пр. Октября, 71
- 2 — ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»
199034, г. Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7-9
- 3 — ГАУЗ Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Башкортостан
450054, г. Уфа, Пр. Октября, 73/1.

Мелкоклеточный рак легкого (МРЛ) составляет около 15–20% всех случаев РЛ и относится к наиболее злокачественно текущим опухолям. В более чем 90 % случаев МРЛ выявляются мутации гена *TP53*. Целью нашего исследования являлся анализ структурных изменений хромосомной области 17p13 у больных МРЛ из Республики Башкортостан. Материалом исследования служили 70 образцов тканей легких больных МРЛ. Методом исследования являлся MLPA-анализ. Делеции и/или дупликации в кодирующих областях гена *TP53* выявлены в 40% образцов, в т.ч. дупликации первого (23% образцов) и делеции 4–6-го и 11-го экзонов гена *TP53* (17% образцов). Кроме того, в четырех образцах выявлена мутация с.1100delC гена *CHEK2*.

Ключевые слова: рак легкого, мутации, *TP53*, MLPA.

Для цитирования: Гималова Г.Ф., Абдуллин З.С., Хуснутдинова Э.К. MLPA-анализ гена *TP53* у больных мелкоклочным раком легкого. *Медицинская генетика* 2020; 19(6): 83–85

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.83-85

Автор для корреспонденции: Гималова Галия Фуатовна; **e-mail:** galiyagimalova@gmail.com

Финансирование: Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Биомика» и уникальной научной установке «КОДИНК», с использованием образцов ДНК ЦКП «Коллекция биологических материалов человека» Института биохимии и генетики УФИЦ РАН при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ №17-44-020115.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Поступила: 20.05.2020

MLPA-analysis of *TP53* gene in patients with small-cell lung cancer

Gimalova G.F.^{1,2}, Abdullin Z.S.³, Khusnutdinova E.K.^{1,2}

- 1 — Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre, Russian Academy of Sciences
Prospekt Oktyabrya 71, Ufa, 450054, Russia
- 2 — St Petersburg University
Universitetskaya Emb. 7-9, St Petersburg 199034, Russia
- 3 — Republic Clinical Oncological Center of Bashkortostan Republic
Prospekt Oktyabrya 73/1, Ufa, 450054, Russia

Small cell lung cancer (SCLC) accounts for about 15–20% of all lung cancer cases and is one of the most malignant tumors. In more than 90% of cases of SCLC, mutations of the *TP53* gene are detected. The aim of our study was to analyze the structural changes in the 17p13 chromosomal region in patients with SCLC from the Republic of Bashkortostan. We used 70 lung tissue samples from patients with SCLC. The study was conducted using MLPA. Deletions and/or duplications in the coding regions of the *TP53* gene were detected in 40% of the samples, including duplications of the first exon (23% of the samples) and deletions of the 4–6th and 11th exons of the *TP53* gene (17% of the samples). Besides, the *CHEK2* c.1100delC mutation was detected in four samples.

Key words: lung cancer, mutations, *TP53*, MLPA.

For citation: Gimalova G.F., Abdullin Z.S., Khusnutdinova E.K. MLPA-analysis of *TP53* gene in patients with small-cell lung cancer. *Medical genetics*. 2020; 19(6): 83–85 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.83-85

Corresponding author: Gimalova Galiia Fuatovna; **e-mail:** galiyagimalova@gmail.com

Funding. The work was carried out on the equipment of the CCU "Biomika" and the unique scientific installation "KODINK", using DNA samples of the CCU "The collection of human biological material" of the Institute of Biochemistry and Genetics of UFRC RAS, and was partly supported by RFBR grant № 17-44-020115.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

Рак легкого (РЛ) является одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний и основной причиной смертности от них. Ежегодно в мире регистрируется 1 млн. новых случаев рака легкого, в России данный показатель составляет 60 тыс. случаев. Выделяют два основных гистологических типа РЛ: немелкоклеточный (НМРЛ) и мелкоклеточный (МРЛ), последний составляет около 15–20 % всех случаев РЛ. МРЛ относится к наиболее злокачественно текущим опухолям, характеризуется коротким анамнезом, быстрым течением и имеет тенденцию к раннему метастазированию. Генетические исследования МРЛ выявили многочисленные хромосомные перестройки. В большинстве случаев МРЛ обнаруживаются делеции участков, которые содержат гены-супрессоры опухолей, в частности полногеномные исследования выявили мутации гена *TP53* в более чем 90 % случаев МРЛ [1]. Нами методом MLPA проведен поиск делеций и дупликаций в хромосомной области 17p13.1, содержащий ген *TP53*, у больных МРЛ из Республики Башкортостан.

Материалы и методы

Материалом исследования послужили образцы опухолевой ткани, фиксированной в формалине и залитой в парафин, полученной от 70 больных с гистологически подтвержденным диагнозом *мелкоклеточный рак легкого*, находящихся на стационарном лечении в Республиканском клиническом онкологическом диспансере г. Уфы. Средний возраст больных составил 59,3 года; исследованная группа включала 62 (88,5%) мужчин, 8 (11,5%) женщин. Забор образцов проводился врачами-онкологами РКОД в соответствии с этическими стандартами локального биоэтического комитета. У всех обследуемых лиц образцы тканей легкого были получены с их информированного согласия.

Поиск мутаций в области 17p13 осуществляли методом мультиплексной амплификации лигированных зондов (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) (MLPA) с использованием наборов SALSA MLPA Probemix P056 TP53 (MRC-Holland, Нидерланды) согласно инструкции производителя. Фрагментный анализ выполняли на генетическом анализаторе ABI Prism 3500 (Applied Biosystems, Япония). Анализ данных проводился в программе Coffalyser.Net (MRC-Holland, Нидерланды).

Результаты

Нами проведен поиск делеций и дупликаций в области 17p13, содержащей ген-супрессор опухолей

TP53, у больных МРЛ. Результаты проведенного исследования показали, что 40% изученных образцов ДНК больных имели делеции или дупликации как минимум одного экзона гена *TP53*. Большинство выявленных дупликаций и делеций происходили в первом и 11-м экзонах гена. Однако либо делеция, либо дупликация были обнаружены во всех экзонах гена *TP53*, кроме третьего. Всего дупликации были выявлены в 16 образцах, делеции — в 12. Также в одном образце выявлены одновременно и делеции и дупликация в гене *TP53*. Помимо делеции 11-го экзона гена *TP53*, обнаруженной в пяти образцах, частыми были делеции 4–6-го экзона, выявленные в четырех образцах. Наибольшее число делеций, с 4-го по 6 и с 8-го по 11 экзоны, выявлено в двух образцах. Все выявленные делеции носили гетерозиготный характер.

Из 16 образцов, имеющих дупликации в гене *TP53*, в 15 выявлены дупликации первого экзона. В двух образцах помимо дупликации первого обнаружены дупликации второго экзона, а в одном — дупликация пятого экзона. Кроме того, в одном образце выявлены одновременно дупликации в четвертом, седьмом и десятом экзонах гена *TP53*.

Ген *TP53* локализован в области 17p13.1 и кодирует транскрипционный фактор p53, запускающий в ответ на повреждения ДНК остановку клеточного цикла. Показано, что примерно в 50% случаев онкопатологии наблюдаются мутации в данном гене, при этом частоты таких повреждений варьируют в зависимости от типа опухоли. Проведенный нами анализ показал, что наиболее часто мутации выявляются в первом экзоне гена *TP53*. Он является некодирующим, тем не менее, в нескольких исследованиях обнаружено, что данный экзон может играть значительную роль в регуляции экспрессии гена [2]. Рядом авторов выявлены частые делеции с 5-го по 8-й экзоны гена *TP53* у больных раком мочевого пузыря [3]. Известно, что область с 4-го по 8-й экзон содержит ДНК-связывающий домен гена *TP53*. Показано, что выявляемые в данном регионе мутации ассоциированы с более низкой выживаемостью больных с В-клеточной лимфомой [4].

В ходе исследования также проведен поиск делеций и дупликаций в гене *CHEK2*. Данный ген также является супрессором опухолевого роста. Одной из наиболее распространенных мутаций в гене *CHEK2* является делеция с.1100delC, ассоциированная в различных популяциях с развитием рака молочной железы, яичников и простаты [5]. Нами выявлено четыре носителя указанной мутации, также в одном образце выявлена делеция 13 экзона гена *CHEK2*. Следует отметить, что у больных с МРЛ делеция с.1100delC ранее не описана.

Таким образом, 40% исследованных образцов имеют структурные изменения в кодирующих областях гена *TP53*. Наиболее частыми событиями являлись дубликации первого экзона, выявленные в 23% образцов (57% изменений), и делеции с четвертого по шестой и 11-го экзонов гена *TP53*, выявленные в 17% образцов (43% изменений).

Литература/References

1. Wistuba I. I., Gazdar A. F., Minna J. D. Molecular genetics of small cell lung carcinoma. *Seminars in oncology* 2001; (28): 3–13.
2. Bazrafshani M. R. R. et al. Deletion/duplication mutation screening of TP53 gene in patients with transitional cell carcinoma of urinary bladder using multiplex ligation-dependent probe amplification. *Cancer medicine* 2016; 5(2): 145–152.
3. Berggren P., Steineck G., Adolfsson J., et al. P53 mutations in urinary bladder cancer. *British journal of cancer* 2001; 84(11): 1505–1511.
4. Peroja P. Pedersen M., Mantere T., et al. Mutation of TP53, translocation analysis and immunohistochemical expression of MYC, BCL-2 and BCL-6 in patients with DLBCL treated with R-CHOP. *Scientific Reports* 2018; 8(1):14814.
5. Wu X., Dong X., Liu W., Chen J. Characterization of CHEK2 mutations in prostate cancer. *Human Mutation* 2006; (27):742–747.