

Молекулярно-генетические механизмы и значение дерегуляции p53 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме

Т.И. Поспелова¹, Е.Н. Воропаева^{1, 2}, В.Н. Максимов^{1, 2}, Н.В. Скворцова¹, М.И. Воевода³

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

²НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

³ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

Исследования, направленные на изучение роли изменчивости гена *TP53* в опухолевой прогрессии диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ), являются одними из наиболее востребованных как в области фундаментальной, так и прикладной онкогематологии. Вместе с тем до последнего времени знания о конкретных механизмах нарушения функции данного гена и их клиническом значении при ДВККЛ в значительной степени носили ограниченный характер.

Данная статья приурочена к 300-летию Российской академии наук и описывает основные научные результаты исследований молекулярно-генетических механизмов и значения дерегуляции p53 при ДВККЛ, на протяжении многих лет проводимых совместно Новосибирским государственным медицинским университетом и Научно-исследовательским институтом терапии и профилактической медицины – филиалом Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук.

Выполнено комплексное изучение изменчивости *TP53*, обусловленной функционально значимыми полиморфизмами и гаплотипной структурой, соматическими мутациями, метилированием промотора, а также аллельным дисбалансом. Установлен «двухударный» механизм нарушения функции данного антионкогена при формировании лимфомы. Показана существующая в настоящее время недооценка частоты aberrаций в *TP53* при ДВККЛ вследствие игнорирования синонимичных мутаций и изменений в некодирующих участках гена. Доказана глубокая вовлеченность *TP53* в процессы предрасположенности к развитию, инициализации, прогрессии и ответу ДВККЛ на терапию.

Полученные результаты позволяют предполагать, что оценка функции гена *TP53* и понимание конкретных механизмов его инактивации в каждом из диагностируемых случаев ДВККЛ в скором времени может иметь прямой выход на персонализированный подбор терапии.

Ключевые слова: ДВККЛ, ген *TP53*, мутации, метилирование промотора, потеря гетерозиготности, гаплотипы, генетический полиморфизм, прогноз.

Образец цитирования: Поспелова Т.И., Воропаева Е.Н., Максимов В.Н., Скворцова Н.В., Воевода М.И. Молекулярно-генетические механизмы и значение дерегуляции p53 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(1):113-127. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-113-127

Поступила в редакцию 13.02.2024
Прошла рецензирование 28.02.2024
Принята к публикации 14.03.2024

Автор, ответственный за переписку
Воропаева Елена Николаевна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: vena.81@mail.ru

Received 13.02.2024
Revised 28.02.2024
Accepted 14.03.2024

Corresponding author
Elena N. Voropaeva: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: vena.81@mail.ru

Molecular-genetic mechanisms and significance of p53 deregulation in diffuse large B-cell lymphoma

T.I. Pospelova¹, E.N. Voropaeva^{1, 2}, V.N. Maksimov^{1, 2}, N.V. Skvortsova¹, M.I. Voevoda³

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²Research Institute of Internal and Preventive Medicine – the Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

³Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

Researches aimed at studying the role of *TP53* gene variability in the tumor progression of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) are among the most in-demand in both the fields of fundamental and applied oncohematology. However, until recently, the knowledge about the specific mechanisms of dysfunction of this gene and their clinical significance in DLBCL was largely limited.

This article is dedicated to the 300th anniversary of the Russian Academy of Sciences and describes the main scientific results of research of the molecular genetic mechanisms and the significance of p53 deregulation in DLBCL, conducted jointly by Novosibirsk State Medical University and the Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – the Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences for many years.

A comprehensive study of *TP53* variability due to functionally significant polymorphisms and haplotype structure, somatic mutations, promoter methylation, as well as allelic imbalance was carried out. A two-hit mechanism for dysfunction of this anti-oncogene in the formation of lymphoma has been established. The current underestimation of the frequency of aberrations in *TP53* in DLBCL is shown due to ignoring synonymous mutations and changes in non-coding regions of the gene. The deep involvement of *TP53* in the processes of predisposition to development, initiation, progression and response of DLBCL to therapy has been proven.

The results obtained suggest that assessment of the function of the *TP53* gene and understanding the specific mechanisms of its inactivation in each of the diagnosed cases of DLBCL may soon have direct access to personalized selection of therapy.

Keywords: DLBCL, *TP53* gene, mutations, promoter methylation, loss of heterozygosity, haplotypes, genetic polymorphism, prognosis.

Citation example: Pospelova T.I., Voropaeva E.N., Maksimov V.N., Skvortsova N.V., Voevoda M.I. Molecular-genetic mechanisms and significance of p53 deregulation in diffuse large B-cell lymphoma. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(1):113-127. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-113-127

ВВЕДЕНИЕ

Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ) представляет собой гетерогенную группу заболеваний, имеющих общие звенья патогенеза, но при этом различные клинические и иммуногистохимические особенности, чувствительность к терапии и прогноз. Это приводит к необходимости прогнозирования течения заболевания в каждом конкретном случае лимфомы, которое трудно представить без научно обоснованного «предвидения» развития опухолевого процесса.

Долгие десятилетия прогноз ДВККЛ основывался на оценке комплекса следующих факторов [1]:

- биологические свойства опухоли (вариант опухоли, ее распространенность, в том числе стадия и конкретная локализация очагов пораже-

INTRODUCTION

Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is a heterogeneous group of diseases that have common components of pathogenesis, but different clinical and immunohistochemical features, response to therapy and prognosis. This leads to the need to predict the course of the disease in each specific case of lymphoma which is difficult to imagine without a scientifically based “foreseeing” of the tumor development process.

For many decades, the prognosis of DLBCL was based on assessment of the following factors [1]:

- biological properties of the tumor (lymphoma subtype, its spread, including stage and specific site of involvement, duration of the disease before treatment, rate of progression, etc.);
- characteristics of a patient (age, heredity, somatic comorbidities, socio-economic status, immunoreactivity, ethnicity);

ния, длительность заболевания до лечения, скорость прогрессирования и т.д.);

- особенности организма больного (возраст, наследственность, сопутствующая соматическая отягощенность, социально-экономический статус, иммунореактивность, этническая принадлежность);

- методы терапевтического воздействия (выбранная программа терапии, соблюдение дозировок и сроков введения, комбинированные и комплексные методы лечения, их периодичность и последовательность).

Следует заключить, что в случае общепризнанного подхода речь идет о групповом прогнозе при ДВККЛ, т.е. о возможности предположить исход заболевания у группы больных, объединенных по совокупности нескольких признаков. Вместе с тем в настоящее время в онкогематологии в связи с началом эры таргетной терапии все большее значение приобретает необходимость разработки методологии индивидуального прогнозирования, которое представляет собой сравнительно новое направление в медицине и диктует необходимость изучения генетических программ как опухоли, так и человека – ее носителя. Это может обеспечить предсказуемость течения ДВККЛ и результатов ее лечения [2].

ДВККЛ, как и любая опухоль, представляет собой комплексный патологический процесс и имеет свои проявления на молекулярном, клеточном, тканевом, органном и организменном уровнях. При этом повреждения на молекулярном уровне, бесспорно, носят первичный характер. По этой причине в последние годы молекулярные основы лимфомогенеза являются наиболее активно развивающейся частью онкологии, быстро впитывающей в себя новые методические подходы в ДНК-диагностике.

В области современной онкогематологии многие годы высокую актуальность сохраняют следующие научные направления:

- разработка способов оценки генетической предрасположенности к опухолевым заболеваниям системы крови;
- исследование механизмов регуляции опухолевого роста;
- поиск новых методов оценки прогноза течения гемобластозов и их чувствительности к стандартным терапевтическим воздействиям;
- экспериментальное обоснование новых патогенетических подходов к лечению онкогематологических больных.

Удивительным образом ген *TP53*, являющийся «геном на перекрестке механизмов онко-

- методов терапии (selected therapy program, adherence to dosages and timing of administration, combined and integrative treatment, their interval and order).

It should be concluded that in the case of a conventional approach we are talking about a group-specific prognosis for DLBCL, i.e. about the possibility of predicting the outcome of the disease in a group of patients jointed by a combination of several signs. At the same time, currently in oncohematology, in connection with the beginning of the era of targeted therapy, the need to develop a methodology for individual prediction is becoming increasingly important which is a relatively new direction in the field of medicine and necessitates studying the genetic profile of both the tumor and the person – its carrier. This can provide predictability of the course of DLBCL and the results of its treatment [2].

DLBCL, like any tumor, is a complex pathological process and has its manifestations at the molecular, cellular, tissue, organ and organism levels. In this case, abnormalities on the molecular level are undoubtedly primary. For this reason, in recent years, the molecular basis of lymphomagenesis has been the most actively developing part of oncology, quickly absorbing new approaches in DNA diagnostics.

In the field of modern oncohematology, the following research areas remain highly relevant for many years:

- development of methods for assessing genetic predisposition to hematologic neoplasms;
- study of tumor growth regulation mechanisms;
- search for new methods for assessing the prognosis of hemoblastosis and their response to conventional therapies;
- experimental substantiation of new pathogenetic approaches to the treatment of oncohematological patients.

In a sudden way, the *TP53* gene, which is a “gene at the crossroads of oncogenesis mechanisms,” is interesting as an object of study in patients with DLBCL in all abovementioned areas. A change in the function of the p53 protein it encodes is one of the most universal molecular changes in the cells of various neoplasms [3].

There is evidence that the dysfunction of this protein plays an important role in the generation of tumors of lymphoid tissue and their further progression [4]. In B lymphocytes with inactivated p53, there is an increase in genetic instability which is a promoter of further tumor progression and the evasion of malignant cells from the immune system, as well as therapeutic effects.

гене́за», интересен в качестве объекта исследования у больных ДВККЛ во всех перечисленных направлениях. Изменение функции кодируемого им белка p53 – одно из наиболее универсальных молекулярных изменений в клетках различных новообразований [3].

Имеются сведения о том, что дисфункция данного белка играет важную роль в возникновении опухолей лимфоидной ткани и их дальнейшей прогрессии [4]. В В-лимфоцитах с инактивированным p53 отмечается нарастание генетической нестабильности, являющейся промотором дальнейшей опухолевой прогрессии и ускользания злокачественных клеток от иммунной системы, а также терапевтического воздействия.

Однако, учитывая то, что результирующее действие данного гена во многом зависит от типа клетки, в которой проявляется его активность, невозможен механический перенос общих знаний об участии *TP53* в онкогенезе на ДВККЛ. Более того, индивидуальный генетический фон и многие другие факторы также могут влиять на фенотип, индуцированный специфическими генетическими абберациями [5]. В контексте описанных проблем изучение *TP53* при ДВККЛ заслуживает особого внимания.

Данная статья приурочена к 300-летию Российской академии наук и описывает основные научные результаты исследований молекулярно-генетических механизмов и значения дерегуляции p53 при ДВККЛ, на протяжении многих лет проводимых совместно Новосибирским государственным медицинским университетом и Научно-исследовательским институтом терапии и профилактической медицины – филиалом ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» [6].

ИСХОДНОЕ СОСТОЯНИЕ ИЗУЧАЕМОЙ ПРОБЛЕМЫ

Исследования, направленные на поиск молекулярно-биологических механизмов участия изменчивости гена *TP53* в опухолевой прогрессии ДВККЛ, являются одними из наиболее востребованных как в области фундаментальной, так и прикладной онкогематологии. К представляющим интерес молекулярно-генетическим событиям, важным для опухолевого роста и прогрессии лимфомы, следует отнести наследуемые (полиморфизм) и соматические (мутации) варианты нуклеотидной последовательности в кодирующих и регуляторных областях гена, делеции *TP53*, эпигенетическую модуляцию его экспрес-

However, taking into account that the resulting effect of this gene largely depends on the type of cell in which its activity is manifested, a mechanical transfer of general knowledge about the involvement of *TP53* in tumorigenesis to DLBCL is not possible. Moreover, the individual genetic background and many other factors can also influence the phenotype induced by specific genetic aberrations [5]. In the context of the described problems, the study of *TP53* in DLBCL deserves a special attention.

This article is dedicated to the 300th anniversary of the Russian Academy of Sciences and describes the main scientific results of studies on molecular genetic mechanisms, and the significance of p53 deregulation in DLBCL, conducted jointly by Novosibirsk State Medical University and the Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – the Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Science for many years [6].

INITIAL STATE OF THE PROBLEM UNDER STUDY

Investigations aimed at searching for molecular and biological mechanisms of the involvement of *TP53* gene variability in the tumor progression of DLBCL are among the most highly-demanded in both the field of fundamental and applied oncohematology. Molecular genetic events of interest that are important for lymphoma growth and progression include inherited (polymorphism) and somatic (mutations) variants of the nucleotide sequence in the coding and regulatory regions of the gene, *TP53* deletions, and epigenetic modulation of its expression [6]. However, until recently, knowledge about the specific mechanisms of this gene dysfunction, and their clinical significance in DLBCL was largely limited (Table 1). There are a number of reasons for this.

Firstly, in hematological neoplasms, mutations in *TP53*, which are the most studied variants of aberrations, are less common than in other neoplasms [7] which initially led to less attention from researchers to other aspects of the variability of this gene in DLBCL.

Secondly, surrogate markers of p53 dysfunction have proven to be dramatically unreliable and challenging biomarkers for clinical use [8]. It is known, for example, that overexpression of the p53 protein in tumor tissue does not always predict poor survival of DLBCL patients receiving the modern monoclonal antibody therapy.

Finally, despite its potential value, the study of *TP53* gene abnormalities is not included in the man-

Таблица 1. Возможные молекулярные механизмы формирования недостаточности функции гена *TP53*
Table 1. Possible molecular mechanisms of the *TP53* gene dysfunction formation

Тип нарушения Type	Эффект Effect	Степень изученности при ДВККЛ Level of knowledge on DLBCL
Генетический полиморфизм Genetic polymorphism	Дефицит функции или стабильности белка p53 Dysfunction and instability of the p53 protein	Отсутствие данных о гаплотипах Lack of data on haplotypes
Мутации в кодирующей последовательности гена Mutations in the coding sequence of the gene	Потеря опухоль-супрессорных функций, приобретение проонкогенных свойств, доминантно-негативный эффект Loss of tumor-suppressive properties, acquisition of pro-oncogenic properties, dominant-negative effect	В последней версии IARC <i>TP53</i> mutation database информации о российской популяции не представлено The latest version of the IARC <i>TP53</i> mutation database does not provide information on the Russian population
Мутации в интронных последовательностях гена Mutations in intronic sequences of the gene	Нарушение альтернативного сплайсинга м-РНК Alteration of alternative mRNA splicing	Недооценка изменений в некодирующих участках <i>TP53</i> Underestimation of changes in non-coding regions of <i>TP53</i>
Мутации в 5'- и 3'-НТП гена Mutations in the 5' and 3' UTRs	Снижение эффективности трансляции белка, нарушение посттрансляционных модификаций Reduced efficiency of protein translation, disturbance of post-translational modifications	Недооценка изменений в нетранслируемых участках гена <i>TP53</i> Underestimation of changes in the UTRs of the <i>TP53</i> gene
Потеря гетерозиготности Loss of heterozygosity	Возникновение аллельного дисбаланса, фенотипическая манифестация рецессивных мутаций гена Allelic imbalance, phenotypic manifestation of recessive gene mutations	Широкий разброс частоты возникновения в зависимости от популяционной выборки Wide prevalence depending on population sample
Метилирование промотора Promoter methylation	Снижение экспрессии, вплоть до «выключения» гена Reduced expression, up to gene silencing	Аспект практически не освещен в литературе This aspect is practically not covered in the literature

Примечание. ДВККЛ – диффузная В-крупноклеточная лимфома; IARC – International Agency for Research on Cancer (Международное агентство по изучению рака); НТП – нетранслируемые последовательности; м-РНК – матричная РНК.

Note. DLBCL – diffuse large B-cell lymphoma; IARC – International Agency for Research on Cancer; UTRs – untranslated regions; mRNA – messenger RNA.

сии [6]. Вместе с тем до последнего времени знания о конкретных механизмах нарушения функции данного гена и их клиническом значении при ДВККЛ в значительной степени носили ограниченный характер (табл. 1). Для этого имеется ряд причин.

Во-первых, при опухолях системы крови мутации в *TP53*, которые являются наиболее изученными вариантами aberrаций, встречаются реже, чем при других новообразованиях [7], что исходно обусловило меньшее внимание исследователей к другим аспектам изменчивости данного гена при ДВККЛ.

Во-вторых, суррогатные маркеры нарушения функции p53, с точки зрения клинического применения, оказались чрезвычайно ненадежными и сложными биомаркерами [8]. Известно, например, что избыточная экспрессия белка p53 в опухолевой ткани не всегда предсказывает ухудшение выживаемости пациентов с ДВККЛ в условиях современной терапии заболевания с применением моноклональных антител.

datory range of examinations for lymphomas, which significantly slows down the process of accumulating knowledge on the problem.

In this regard, the aim of our research was, based on a comprehensive study of the variability of the *TP53* gene, caused by functionally significant polymorphisms and haplotype structure, somatic mutations, promoter methylation, as well as allelic imbalance, to describe the possible mechanisms of formation of p53 dysfunction in DLBCL, and to evaluate their contribution to lymphoma progression.

GENETIC POLYMORPHISM AND HAPLOTYPE GENE STRUCTURE

We have performed genotyping of functionally significant markers of the *TP53* gene – rs1042522, rs17878362 and rs1625895 – using PCR-RFLP (polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism) in healthy tissue (peripheral blood) of patients with DLBCL and controls, the third generation of ethnic Russians. During the investiga-

Наконец, несмотря на потенциальную ценность, изучение аномалий гена *TP53* не входит в обязательный спектр обследования при лимфомах, что значительно замедляет процесс накопления объема знаний по проблеме.

В связи с этим целью наших исследований было на основе комплексного изучения изменчивости гена *TP53*, обусловленной функционально значимыми полиморфизмами и гаплотипной структурой, соматическими мутациями, метилированием промотора, а также аллельным дисбалансом, описать возможные механизмы формирования дефицита функции p53 при ДВККЛ и оценить их вклад в опухолевую прогрессию заболевания.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ И ГАПЛОТИПНАЯ СТРУКТУРА ГЕНА

Нами выполнялось генотипирование функционально-значимых маркеров гена *TP53* – rs1042522, rs17878362 и rs1625895 – методом ПЦР-ПДРФ (полимеразная цепная реакция – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) в здоровой ткани (периферической крови) пациентов с ДВККЛ и лиц контрольной выборки, имеющих русскую национальность в трех поколениях. В ходе исследования данных об ассоциации отдельных изучаемых полиморфизмов с предрасположенностью к развитию ДВККЛ получено не было [9].

В связи с тем, что предрасположенность или устойчивость к болезни может определяться сочетанием большого числа малых эффектов [10], и анализ неравновесия по сцеплению (linkage disequilibrium – LD) в геноме в конкретных популяциях является более продуктивным подходом, позволяющим идентифицировать генетические функциональные варианты, лежащие в основе предрасположенности к многофакторным заболеваниям, было оценено LD между rs1042522, rs1625895 и rs17878362.

Полученные данные свидетельствовали, что сила неравновесия по сцеплению была умеренной между rs17878362 и rs1042522, а также rs1625895 и rs17878362, а между rs1625895 и rs1042522 – неравновесие по сцеплению выраженное. При этом LD в группе больных ДВККЛ значимо выше, чем в группе контроля (рис. 1). Последнее свидетельствует о том, что ген-кандидат может играть определенную роль в формировании предрасположенности к болезни [11].

В ходе дальнейшего гаплотипирования гена *TP53* были определены сцепленные аллели

tion, no data were obtained on the association of individual polymorphisms studied with predisposition to DLBCL [9].

Due to the fact that susceptibility or resistance to a disease can be determined by a combination of a large number of small effects [10], the analysis of linkage disequilibrium (LD) in a genome in specific populations is a more productive approach that allows us to identify genetic functional variants underlying the predisposition to multifactorial diseases, the LD between rs1042522, rs1625895 and rs17878362 was assessed.

The data obtained indicated that the linkage disequilibrium was moderate between rs17878362 and rs1042522, as well as rs1625895 and rs17878362, and between rs1625895 and rs1042522 the linkage disequilibrium was pronounced. Moreover, LD in the group of patients with DLBCL is significantly higher than in the control group (Fig. 1). The latter suggests that the candidate gene may play a role in the formation of susceptibility to the disease [11].

During further haplotyping of the *TP53* gene, linked rs17878362-rs1042522-rs1625895 alleles within the same chromosome were identified. An analysis of haplotype sequences makes it possible to evaluate at a deeper level the functional interaction of polymorphic loci (by additive, potentiating, antagonistic type) and their resulting impact on the biological functions of the protein. Significant differences in the frequency of three haplotypes were obtained: an increase in the frequency of the wArgG haplotype ($p = 0.025$), as well as a decrease in the frequency of the wProG ($p = 0.025$) and dupProG ($p = 0.041$) haplotypes in the group of patients with DLBCL in comparison with the controls. Moreover, for the wArgG haplotype, an association with the risk of DLBCL was noted only in the homozygous state, in contrast to the wProG or dupProG haplotypes, which have a protective effect in combination with any other haplotypes in the diplotype. Previously, other authors have also shown the difference in the effects of the triple *TP53* haplotype depending on the homozygous or heterozygous state [12].

Thus, the inherited genetic polymorphism of *TP53* may be the basis of predisposition to DLBCL, but more severe aberrations in this gene, arising in B lymphocytes *de novo*, directly contribute to tumor initiation and progression.

MUTATIONS IN THE CODING AND INTRONIC SEQUENCES OF THE GENE

We analyzed the sequence of exons and adjacent intronic regions of the *TP53* gene in DNA samples

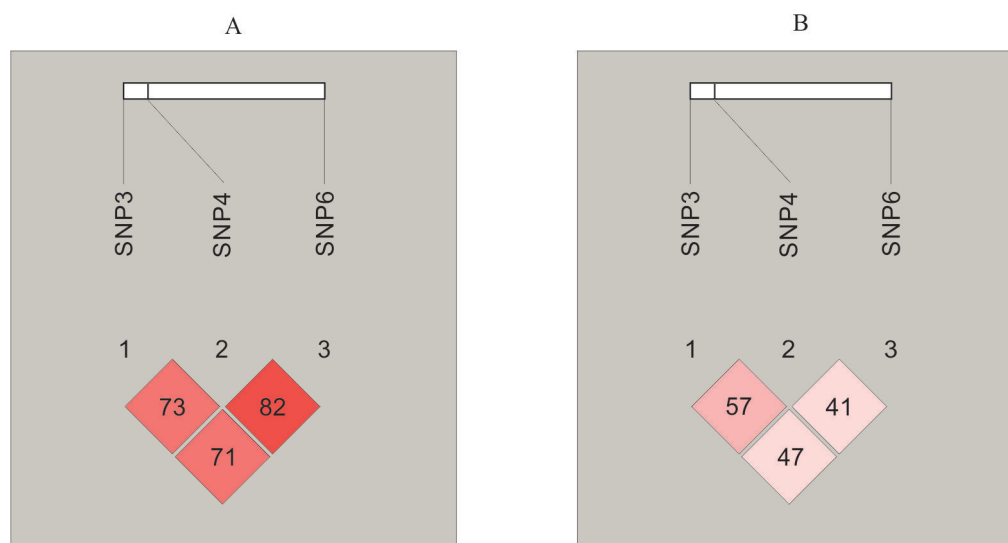


Рис. 1. Диаграммы анализа неравновесия по сцеплению между rs1042522, rs1625895 и rs17878362 в группе пациентов с ДВККЛ (А) и контрольной выборке (В) (SNP3 – rs17878362, SNP4 – rs1042522, SNP6 – rs1625895; цифровые обозначения в блоках отражают показатель D' – вероятность кроссинговера между анализируемыми локусами: чем темнее цвет блока, тем выше степень неравновесия по сцеплению)
Fig. 1. Diagrams of linkage disequilibrium analysis between rs1042522, rs1625895 and rs17878362 in the group of patients with DLBCL (A) and the controls (B) (SNP3 – rs17878362, SNP4 – rs1042522, SNP6 – rs1625895; digits in the blocks reflect the D' indicator – probability of crossing-over between analyzed loci: the darker the color of the block, the higher the degree of linkage disequilibrium)

rs17878362-rs1042522-rs1625895 в пределах одной хромосомы. Анализ гаплотипных последовательностей дает возможность на более глубоком уровне оценить функциональное взаимодействие полиморфных локусов (по аддитивному, потенцирующему, антагонистическому типу) и их результирующее влияние на биологические функции белка. Получены значимые различия в частоте трех гаплотипов: повышение частоты гаплотипа wArgG ($p = 0.025$), а также снижение частот гаплотипов wProG ($p = 0.025$) и dupProG ($p = 0.041$) в группе больных ДВККЛ в сравнении с контрольной выборкой. При этом для гаплотипа wArgG отмечена ассоциация с риском развития ДВККЛ только в гомозиготном состоянии, в отличие от гаплотипов wProG или dupProG, имеющих протективный эффект в сочетании с любыми другими гаплотипами в составе дипло-типа. Ранее другими авторами также отмечалось различие в эффектах изучаемого тройного гаплотипа *TP53* в зависимости от гомозиготного или гетерозиготного состояния [12].

Таким образом, наследуемый генетический полиморфизм *TP53* может являться основой предрасположенности к развитию ДВККЛ, но более грубые aberrации в данном гене, возникающие в В-лимфоцитах *de novo*, непосредственно способствуют инициации и прогрессии опухоли.

from tumor tissue of patients with DLBCL [13]. We used the IARC (International Agency for Research on Cancer) protocol for direct Sanger's sequencing, which was developed for the *TP53* gene by IARC specialists and is used by most researchers around the world.

Almost a quarter (24.3%) of DLBCL patients had aberrations in the coding sequences of the gene, which is consistent with literature data [14, 15]. The distribution of mutation types was as follows: 3% – mutations leading to alteration of RNA splicing; 33% – intronic mutations with an unknown effect; 37% – missense mutations; 6% – nonsense mutations and 3% – mutations leading to the reading-frame shift in the *TP53* gene. Also noteworthy was the verification of a large percentage of synonymous substitutions (18%). In the sample studied, cases of multiple mutations in the gene were also identified (6.8%).

All mutations identified in the *TP53* coding sequence were located in highly conserved regions of the DNA-binding domain (exons 5–8) and led to transcript-dependent dysfunctions of p53 (Fig. 2).

We compared the spectrum of mutations identified in the study group with the data presented in the IARC *TP53* mutation database [16]. The IARC *TP53* mutation database was developed in 1990 and is still the most reliable database of somatic and germline

МУТАЦИИ В КОДИРУЮЩЕЙ ЧАСТИ И ИНТРОННЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯХ ГЕНА

Нами проводился анализ последовательности экзонов и примыкающих участков интронов гена *TP53* в образцах ДНК из опухолевой ткани больных ДВБКЛ [13]. В качестве метода использовался IARC (International Agency for Research on Cancer) protocol для прямого секвенирования по Сенгеру, который был разработан для гена *TP53* специалистами IARC и используется большинством исследователей по всему миру.

Практически четверть (24.3 %) больных ДВБКЛ имели абerrации в кодирующих последовательностях гена, что согласуется с данными литературы [14, 15]. Распределение типов мутаций было следующее: 3 % – мутации, приводящие к нарушению сплайсинга молекулы РНК; 33 % – интронные мутации с неизвестным эффектом; 37 % – мутации миссенс типа; 6 % – мутации нонсенс типа и 3 % – мутации, приводящие к сдвигу рамки считывания в гене *TP53*. Также обращала на себя внимание верификация большого процента синонимичных замен (18 %). В обследуемой выборке были выявлены также случаи множественных мутаций в гене (6.8 %).

Все выявленные в кодирующей последовательности *TP53* мутации были расположены в высококонсервативных участках ДНК-связывающего домена (экзоны 5–8) и с высокой долей вероятности приводили к нарушению транскрипционно-зависимых функций p53 (рис. 2).

Нами выполнено сравнение спектра выявленных в группе исследования мутаций с данными, представленными в IARC *TP53* mutation database [16]. Ресурс IARC *TP53* mutation database был создан в 1990 г. и до настоящего времени является самой авторитетной базой соматических мутаций и мутаций зародышевой линии гена *TP53*. Информации о российской популяции в текущей версии IARC *TP53* mutation database не представлено.

Установлено, что спектр выявленных однонуклеотидных замен в гене *TP53* в группе обследования в целом соответствовал данным, представленным в IARC *TP53* mutation database при ДВБКЛ. Вместе с тем наблюдалось различие в локализации «горячих точек» мутаций. Согласно IARC *TP53* mutation database «горячими точками» в гене *TP53* при ДВБКЛ являются кодоны 248, 273, 175, 245, 281, 244, 305, 249 и 297 (в порядке убывания частоты мута-

mutations of the *TP53* gene. Information about the Russian population is not provided in the current version of the IARC *TP53* mutation database.

It was found that the spectrum of identified single-nucleotide substitutions in the *TP53* gene in the study group generally corresponded to the data presented in the IARC *TP53* mutation database for DLBCL. At the same time, we observed differences in the localization of mutation hotspots. According to the IARC *TP53* mutation database, in DLBCL, the *TP53* gene hotspots are 248, 273, 175, 245, 281, 244, 305, 249 and 297 codons (in descending order of mutation frequency). In the examined sample of patients from this list, only mutation in 244 (p.G244S) codon was identified. At the same time, other mutations in the coding sequence were repeatedly encountered: p.W146R, p.T155I, p.V272E, p.R213X [17].

Thus, it has been shown that the frequency and spectrum of mutations in the *TP53* gene for the same type of oncopathology can also vary significantly depending on the sample studied; using DLBCL as an example, a unique feature of the *TP53* gene compared to other tumor suppressor genes was confirmed – its predominant inactivation as a result of missense substitutions rather than nonsense mutations [6].

BLOCKING THE POLYADENYLATION SIGNAL OF THE GENE

One of the variants of the nucleotide sequence of the 3' non-coding region of *TP53* (rs78378222) leads to blocking the polyadenylation signal and alteration of the 3' end processing of gene's m-RNA. Experimental data show that the rare rs78378222 allele, in comparison with the common allele, provides a significantly lower level of *TP53* expression and leads to a decrease in the level of apoptosis induction in cells under the influence of genotoxic factors [18].

The genotyping we performed showed that the frequency of rs78378222 in tumor tissue samples from patients with DLBCL is 9.8%, while 4.3% had a heterozygous genotype, and 5.5% – a homozygous minor genotype. Since there were no cases of detection of the minor homozygous rs78378222 genotype in the blood of patients with DLBCL, the results obtained indicate a loss of heterozygosity at this locus in the tumor tissue in some patients.

Thus, rs78378222 represents a unique allelic variant of *TP53* with an unequivocal reduction in p53 function. It is logical to assume that in heterozygous carriers of the marker, the loss of a

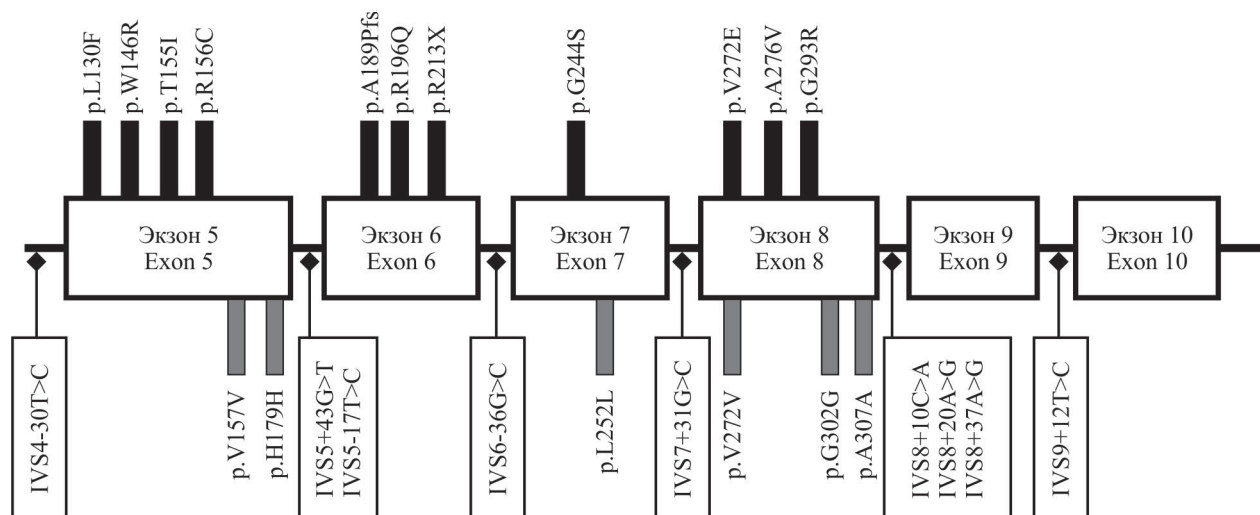


Рис. 2. Распределение мутаций в интронных и кодирующих участках гена *TP53*: горизонтальные рамки соответствуют экзонам; черные столбики – миссенс, нонсенс мутации и мутации, приводящие к сдвигу рамки считывания; серые столбики – сеймсенс мутации; в вертикальных рамках – интронные мутации

Fig. 2. Distribution of mutations in intronic and coding regions of the *TP53* gene: horizontal frames correspond to exons; black bars – missense, nonsense mutations, and mutations leading to reading-frame shift; gray bars – same-sens mutations; in vertical frames – intronic mutations

ций). В обследованной выборке пациентов из данного перечня выявлена лишь мутация в кодоне 244 (p.G244S). Вместе с тем неоднократно встречались другие мутации в кодирующей последовательности – p.W146R, p.T155I, p.V272E, p.R213X [17].

Таким образом, показано, что частота и спектр мутаций в гене *TP53* при одном и том же типе онкологической патологии также могут значительно меняться в зависимости от исследуемой выборки; на примере ДВККЛ подтверждена уникальная особенность гена *TP53* по сравнению с другими генами-онкосупрессорами – преимущественная инактивация его в результате миссенс-замен, а не нонсенс-мутаций [6].

РАЗРУШЕНИЕ СИГНАЛА ПОЛИАДЕНИ- ЛИРОВАНИЯ ГЕНА

Один из вариантов нуклеотидной последовательности 3'-некодирующей части *TP53* (rs78378222) приводит к разрушению сигнала полиаденилирования и нарушению процессинга 3'-конца матричной РНК гена. Экспериментальные данные показывают, что редкий аллель rs78378222, в сравнении с частым аллелем, обеспечивает значительно меньший уровень экспрессии *TP53* и приводит к снижению уровня индукции апоптоза в клетках под действием генотоксических факторов [18].

Выполненное нами генотипирование показало, что частота rs78378222 в образцах опухоле-

common allele will contribute to a significant increase in the malignant potential of DLBCL cells.

GENE PROMOTER METHYLATION

An interesting fact is that the *TP53* gene is one of the few antioncogenes that does not contain classical CpG islands in the promoter region. Instead of these islands, the proximal promoter in exon 1 of the gene contains only a few CpG dinucleotides. Studies *in vitro* have shown that their methylation leads to a decrease in p53 expression.

We detected methylation of the *TP53* gene in the sample of patients with DLBCL examined using methylation-specific PCR. The frequency of methylation was only 5.8% and did not differ significantly in the subgroups with mutant and normal gene structure, which may indicate a minor role of this mechanism in the inactivation of *TP53* in DLBCL [9].

LOSS OF HETEROZYGOSITY IN THE GENE

A conventional microsatellite analysis using PCR analysis was used as a method for diagnosing of loss of heterozygosity (LOH) in the *TP53* gene. Microsatellites are di-, tri- and tetranucleotide sequences multiply repeated throughout the genome [19]. Microsatellite instability is the appearance in tumor cells of additional aberrant microsatellite alleles that differ in length from the alleles in normal tissues of the same patient.

вой ткани больных ДВККЛ составляет 9.8 %, при этом гетерозиготный генотип имели 4.3 %, а гомозиготный минорный – 5.5 % обследованных. Поскольку случаи обнаружения минорного гомозиготного генотипа rs78378222 в крови больных ДВККЛ выявлено не было, полученные результаты свидетельствуют о потере гетерозиготности в данном локусе в опухолевой ткани у части больных.

Таким образом, rs78378222 представляет собой уникальный аллельный вариант *TP53* с недвусмысленным снижением функции p53. Логично предположить, что у гетерозиготных носителей маркера потеря частого аллеля будет способствовать значительному приросту злокачественного потенциала клеток ДВККЛ.

МЕТИЛИРОВАНИЕ ПРОМОТОРА ГЕНА

Интересен тот факт, что ген *TP53* является одним из немногих антионкогенов, который не содержит классических CpG-островков в промоторном регионе. Вместо них проксимальный промотор в экзоне 1 гена содержит лишь несколько CpG-динуклеотидов. Исследования *in vitro* показали, что их метилирование приводит к снижению экспрессии p53.

Выявление метилирования гена *TP53* в обследованной выборке пациентов с ДВККЛ нами проводилось методом метил-специфической ПЦР. Частота метилирования составила всего 5.8 % и значимо не различалась в подгруппах с мутантной и нормальной структурой гена, что может свидетельствовать о малой роли данного механизма в инактивации *TP53* при ДВККЛ [9].

ПОТЕРЯ ГЕТЕРОЗИГОТНОСТИ В ГЕНЕ

В качестве метода диагностики потери гетерозиготности (ПГ) в гене *TP53* применялся традиционный микросателлитный анализ методом ПЦР. Микросателлиты – это многократно повторяющиеся ди-, три- и тетрануклеотидные последовательности, разбросанные по всему геному [19]. Микросателлитная нестабильность – появление в опухолевых клетках дополнительных aberrантных аллелей микросателлитов, которые отличаются по длине от аллелей в нормальных тканях того же больного.

Нами анализировался маркер D17S796, расположенный вблизи *TP53* и представляющий собой динуклеотидный мотив (CAx23). Частота гетерозиготности по D17S796 достигает более 80 %, что делает его удобным и широко используемым для

We analyzed the D17S796 marker, located near *TP53* and representing a dinucleotide motif (CAx23). The frequency of heterozygosity for D17S796 reaches more than 80%, which makes it convenient and widely used for searching LOH in the *TP53* gene. Let us recall that when analyzing the rs78378222 marker, LOH was also identified. Taking into account both markers, the cumulative LOH rate in the *TP53* gene in the study sample was 13.5% [9, 18].

All cases of LOH were combined either with somatic mutations in the coding sequence occurring in the tumor tissue or with the heterozygous/homozygous minor rs78378222 genotype. In the only case of LOH in a DLBCL patient without these changes, gene promoter methylation occurred.

The biological meaning of this phenomenon should be interpreted in the context of the Knudson model of carcinogenesis [9]. *TP53* dysfunction in DLBCL can be formed not only according to the classical two-hit mechanism when tumor development requires sequential changes in two anti-oncogene's alleles: one in the germline, and the second – due to somatic aberrations, but also according to a similar two-hit mechanism with knockdown of two anti-oncogene's alleles due to sequential somatic aberrations (mutations, promoter methylation or LOH in various combinations) (Fig. 3).

CLINICAL SIGNIFICANCE OF *TP53* DYSFUNCTION

The study showed an association of the analyzed functionally significant markers of the *TP53* gene with greater severity of tumor intoxication symptoms and paraclinical activity of DLBCL, as well as a greater tumor volume and spread at the time of the disease diagnosis [6]. A correlation analysis indicates the presence of a positive correlation between the frequent homozygous G/G rs1625895 and Arg/Arg rs1042522 genotypes and an unfavorable prognosis according to the international prognostic index ($r = 0.216$, $p = 0.001$ and $r = 0.216$, $p = 0.006$, respectively). Moreover, in patients who are carriers of the wArgG haplotype in the homozygous state (wArgG/wArgG diplotype), compared with other patients, the risk of non-responding to therapy was 4.6 times higher, the risk of not surviving to a 5-year time point was 4.9 times higher ($p = 0.037$), including progression and relapse free – 5.5 times ($p = 0.082$).

поиска ПГ в гене *TP53*. Напомним, что при анализе маркера rs78378222 также были выявлены ПГ. Суммарно с учетом обоих маркеров частота ПГ в гене *TP53* в исследуемой выборке составила 13.5 % [9, 18].

Все случаи ПГ сочетались либо с соматическими мутациями в кодирующей последовательности, возникающими в опухолевой ткани, либо с гетерозиготным/гомозиготным минорным генотипом rs78378222. В единственном случае ПГ у больного ДВККЛ без данных изменений имело место метилирование промотора гена.

Биологический смысл данного явления следует трактовать в контексте модели канцерогенеза Кнудсона [9]. Недостаточность функции гена *TP53* при ДВККЛ может формироваться не только по классическому «двухударному» механизму, когда для развития опухоли необходимы последовательные изменения двух аллелей антионкогена: одного – в зародышевой линии, а второго за счет соматических aberrаций, но и по аналогичному ему двухударному принципу с выключением двух аллелей антионкогена за счет последовательно возникающих соматических aberrаций (мутаций, метилирования промотора или ПГ в различных сочетаниях) (рис. 3).

Molecular genetic aberrations in the *TP53* gene of DLBCL tumor tissue that occur *de novo*, namely functionally significant mutations in the DNA-binding domain of the gene and rs78378222 in combination with the loss of an intact allele, were associated with a more aggressive course of the tumor and a poor response to therapy (Table 2). Remission in the subgroup of patients with these aberrations was achieved only in half of the cases (50.0%), while in the subgroup of patients without aberrations in the *TP53* gene – in 3/4 of the cases (74.5%, $p = 0.083$) [20].

CONCLUSION

The *TP53* role in oncogenesis discovery proceeded simultaneously with the study of the basic mechanisms of recognition and transmission of signals inside the cell, as well as genome reparation, regulation of cell division and apoptosis, coordination of metabolic processes and immune identification. The function of the *TP53* gene and the p53 protein it encodes is associated with each of the above-mentioned processes, and these relationships are maintained at many levels, generating a single regulatory network [6].

In our studies, attention was focused on changes in *TP53* which can be registered both in healthy human tissue (inherited polymorphisms of the gene

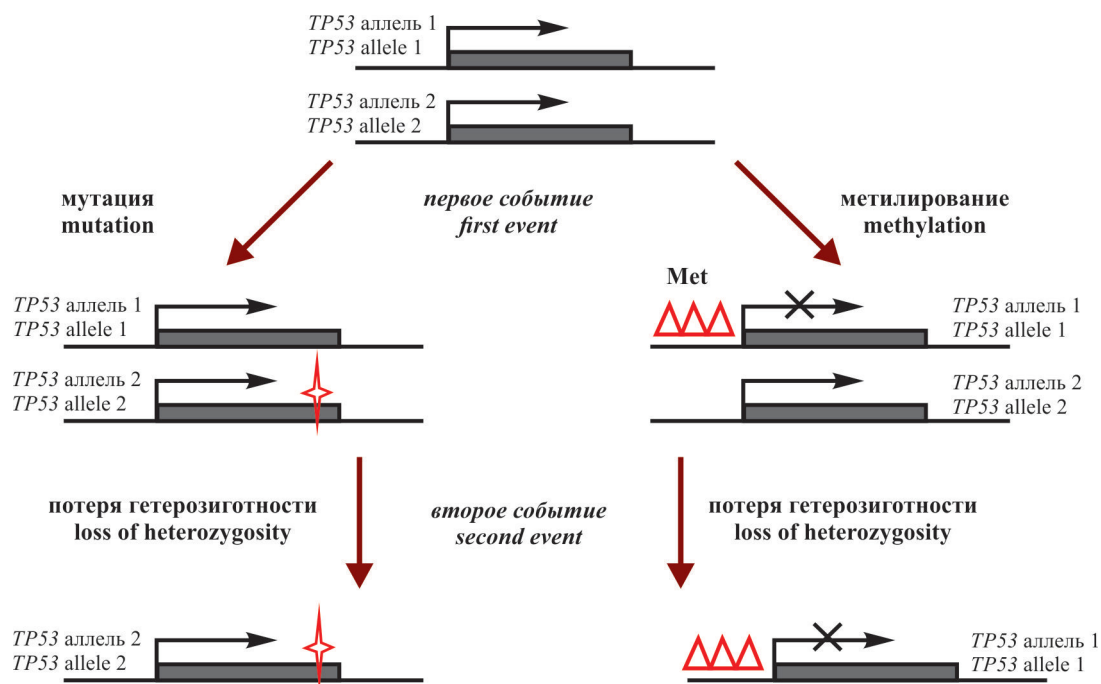


Рис. 3. Двухударный механизм формирования дефицита функции гена *TP53* при ДВККЛ
Fig. 3. Two-hit mechanism for the formation of *TP53* dysfunction in DLBCL

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЕНА

В ходе исследования показано наличие ассоциации анализируемых функционально значимых маркеров гена *TP53* с большей выраженностью симптомов опухолевой интоксикации и параклинической активности ДВККЛ, а также большим объемом и распространенностью опухолевого процесса на момент диагностики заболевания [6]. Данные корреляционного анализа свидетельствуют о наличии статистически значимой корреляционной связи между частыми гомозиготными генотипами G/G rs1625895 и Arg/Arg rs1042522 и неблагоприятным прогнозом по международному прогностическому индексу ($r = 0.216$, $p = 0.001$ и $r = 0.216$, $p = 0.006$ соответственно). При этом у больных – носителей гаплотипа wArgG в гомозиготном состоянии (диплотип wArgG/wArgG) в сравнении с другими пациентами риск не ответить на проводимую терапию был выше в 4.6 раза, риск не дожить до 5-летнего рубежа – в 4.9 раза ($p = 0.037$), в том числе без прогрессии и рецидива – в 5.5 раза ($p = 0.082$).

Молекулярно-генетические нарушения в гене *TP53* опухолевой ткани ДВККЛ, возникающие *de novo*, а именно функционально значимые мутации в ДНК-связывающем домене гена и rs78378222 в сочетании с потерей нормального аллеля, были ассоциированы с более агрессивным течением опухоли и плохим ответом на терапию (табл. 2). Ремиссия в подгруппе пациентов с указанными aberrациями была достигнута лишь в половине случаев (50.0 %), тогда как в подгруппе больных без aberrаций в гене *TP53* – в 3/4 случаев (74.5 %, $p = 0.083$) [20].

and their combinations as part of haplotypes) and predispose to tumor development, and generate in lymphocytes *de novo* at various stages of tumor progression, and be recorded in DLBCL tumor tissue (mutations, allelic imbalance and gene promoter methylation) [21].

The data obtained show that a comprehensive analysis of the *TP53* gene status is more informative and demonstrates the presence of a large percentage of combined gene aberrations in patients with DLBCL. It has been established that in at least a third of cases, the formation of DLBCL is accompanied by the processes of acquisition, fixation and accumulation of sequential genetic aberrations in the *TP53* gene which contribute to malignant transformation of B lymphocytes.

The results obtained are valuable not only from a fundamental but also from a practical point of view. Thus, it has been shown that the status of the *TP53* gene in DLBCL particularly is the biological basis of the clinical parameters included in the IPI, and the preserved function of *TP53* is crucial for slowing the rate of tumor progression and achieving a favorable outcome of the disease in modern therapy for DLBCL including the monoclonal anti-CD20 antibody drug, rituximab.

Financing. The work was carried out at the expense of the State Assignment on the budget project No. FWNR-2024-0004.

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

Таблица 2. Риск развития неблагоприятного течения ДВККЛ при выявлении в опухолевой ткани функционально значимых мутаций в гене *TP53* и генотипа C/C rs78378222

Table 2. Risk of an unfavorable course of DLBCL in functionally significant mutations in the *TP53* gene and genotype C/C rs78378222 in tumor tissue

Показатель / Parameter	ОШ (95% ДИ) / OR (95% CI)	p
В-симптомы / B-symptoms	6.69 (1.30–23.86)	0.030
Стадия заболевания III–IV / Disease stage III–IV	1.39 (1.17–1.65)	0.010
Экстранодальные поражения / Extranodal lesions	3.26 (1.02–11.85)	0.035
Наличие поражения опухолью размером более 7 см Malignant lesion larger than 7 cm	5.27 (1.48–16.55)	0.006
Поражение костного мозга / Bone marrow involvement	4.41 (1.22–15.00)	0.019
МПИ 3–5 / IPI 3–5	4.40 (1.06–14.52)	0.019
Развитие тромбоцитопении / Thrombocytopenia	54.00 (5.37–245.8)	<0.000
Развитие анемии / Anemia	26.5 (4.22–108.4)	<0.000
Общая выживаемость / Overall survival	3.84 (1.07–12.17)	0.012

Примечание. ДВККЛ – диффузная В-крупноклеточная лимфома; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал; МПИ – международный прогностический индекс.

Note. DLBCL – diffuse large B-cell lymphoma; OR – odds ratio; CI – confidence interval; IPI – international prognostic index.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Раскрытие роли *TP53* в онкогенезе шло параллельно с изучением базовых механизмов распознавания и проведения сигналов внутри клетки, репарации генома, регуляции клеточного деления и апоптоза, координации метаболических процессов и иммунологического распознавания. Функция гена *TP53* и кодируемого им белка p53 связана с каждым из перечисленных процессов, причем эти связи поддерживаются на многих уровнях, образуя единую регуляторную сеть [6].

В проводимых нами исследованиях внимание было сосредоточено на изменениях в *TP53*, которые могут регистрироваться как в здоровой ткани человека (наследуемые полиморфизмы гена и их сочетания в составе гаплотипов) и предрасполагать к развитию опухоли, так и возникать в лимфоцитах *de novo* на различных этапах опухолевой прогрессии и регистрироваться в опухолевой ткани ДВККЛ (мутации, аллельный дисбаланс и метилирование промотора гена) [21].

Полученные нами данные свидетельствуют о большей информативности комплексного анализа статуса гена *TP53* и демонстрируют наличие у больных ДВККЛ большого процента сочетан-

ных повреждений гена. Установлено, что по крайней мере в трети случаев формирование ДВККЛ сопровождается процессами приобретения, закрепления и накопления последовательных генетических aberrаций в гене *TP53*, способствующих преобразованию нормальных В-лимфоцитов в злокачественные.

Полученные результаты имеют ценность не только с фундаментальной, но и с практической точки зрения. Так, показано, что именно статус гена *TP53* при ДВККЛ является биологической основой клинических параметров, включенных в МПИ, а сохранная функция *TP53* имеет решающее значение для замедления темпов прогрессирования опухоли и достижения благоприятного исхода заболевания при современной терапии ДВККЛ с включением препарата моноклонального анти-CD20 антитела – ритуксимаба.

Финансирование. Работа выполнена за счет средств Государственного задания по бюджетной теме № FWNR-2024-0004.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wight J.C., Chong G., Grigg A.P., Hawkes E.A. Prognostication of diffuse large B-cell lymphoma in the molecular era: moving beyond the IPI // *Blood Rev.* 2018;32(5):400-415. DOI: 10.1016/j.blre.2018.03.005.
2. He J., Chen Z., Xue Q. et al. Identification of molecular subtypes and a novel prognostic model of diffuse large B-cell lymphoma based on a metabolism-associated gene signature // *J. Transl. Med.* 2022;20(1):186. DOI: 10.1186/s12967-022-03393-9.
3. Donehower L.A., Soussi T., Korkut A. et al. Integrated analysis of *TP53* gene and pathway alterations in The Cancer Genome Atlas // *Cell Rep.* 2019;28(5):1370-1384.e5. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.07.001.
4. Lu T.X., Young K.H., Xu W., Li J.Y. TP53 dysfunction in diffuse large B-cell lymphoma // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2016;97:47-55. DOI: 10.1016/j.critrev-onc.2015.08.006.
5. Чумаков П.М. Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме // *Успехи биологической химии.* 2007;47:3-52.
6. Воропаева Е.Н., Пospelova T.I., Воевода М.И. Ген *TP53* при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. Новосибирск: Наука, 2018. 164 с.
7. Olivier M., Hollstein M., Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2010;2(1):a001008. DOI: 10.1101/cshperspect.a001008.
8. Li X., Luo D., Zhang L. et al. Accurate interpretation of p53 immunohistochemical patterns is a sur-

REFERENCES

1. Wight J.C., Chong G., Grigg A.P., Hawkes E.A. Prognostication of diffuse large B-cell lymphoma in the molecular era: moving beyond the IPI. *Blood Rev.* 2018;32(5):400-415. DOI: 10.1016/j.blre.2018.03.005.
2. He J., Chen Z., Xue Q. et al. Identification of molecular subtypes and a novel prognostic model of diffuse large B-cell lymphoma based on a metabolism-associated gene signature. *J. Transl. Med.* 2022;20(1):186. DOI: 10.1186/s12967-022-03393-9.
3. Donehower L.A., Soussi T., Korkut A. et al. Integrated analysis of *TP53* gene and pathway alterations in The Cancer Genome Atlas. *Cell Rep.* 2019;28(5):1370-1384.e5. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.07.001.
4. Lu T.X., Young K.H., Xu W., Li J.Y. TP53 dysfunction in diffuse large B-cell lymphoma. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2016;97:47-55. DOI: 10.1016/j.critrev-onc.2015.08.006.
5. Chumakov P.M. Protein p53 and its universal functions in a multicellular organism. *Uspekhi Biologicheskoi Khimii.* 2007;47:3-52. (In Russ.)
6. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I. (2018). *TP53 Gene in Diffuse Large B-cell Lymphoma.* Novosibirsk: Nauka, 164 p. (In Russ.)
7. Olivier M., Hollstein M., Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2010;2(1):a001008. DOI: 10.1101/cshperspect.a001008.
8. Li X., Luo D., Zhang L. et al. Accurate interpretation of p53 immunohistochemical patterns is a surrogate biomarker for *TP53* alterations in large B-cell lymphoma.

- rogate biomarker for *TP53* alterations in large B-cell lymphoma // *BMC Cancer*. 2023;23(1):1008. DOI: 10.1186/s12885-023-11513-x.
9. Воропаева Е.Н., Поспелова Т.И., Воевода М.И., Максимов В.Н. Результаты комплексного анализа статуса гена *TP53* у больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой // *Гематология и трансфузиология*. 2016;61(3):138-143. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-3-138-143.
 10. Трифонова Е.А., Спиридонова М.Г., Габидулина Т.В. и др. Анализ структуры неравновесия по сцеплению и ассоциации полиморфных вариантов гена *MTHFR* с коронарным атеросклерозом // *Генетика*. 2012;48(10):1207-1220.
 11. Воропаева Е.Н., Воевода М.И., Поспелова Т.И., Максимов В.Н. Неравновесие по сцеплению полиморфных маркеров rs1042522, rs1625895 и rs17878362 и гаплотипы гена *TP53* у больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой // *Молекулярная биология*. 2014;48(5):763-770. DOI: 10.7868/S0026898414050176.
 12. Сметанникова Н.А., Максимов В.Н., Устинов С.Н. и др. Генотипы и гаплотипы гена-онкосупрессора *p53*: ассоциация с продолжительностью жизни у русских Новосибирской области // *Сибирский онкологический журнал*. 2006;2(18):37-41.
 13. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I., Maksimov V.N. Frequency, spectrum, and functional significance of *TP53* mutations in patients with diffuse large B-cell lymphoma // *Mol. Biol.* 2017;51(1):53-60. DOI: 10.7868/S0026898416060227.
 14. Ebid O.A.E.H., Ezz El Arab L.R., Saad A.S. et al. Prognostic impact of MYD88 and *TP53* mutations in diffuse large B cell lymphoma // *Ann. Hematol.* 2023;102(12):3477-3488. DOI: 10.1007/s00277-023-05420-1.
 15. Landsburg D.J., Morrisette J.J., Nasta S.D. et al. *TP53* mutations predict for poor outcomes in patients with newly diagnosed aggressive B-cell lymphomas in the current era // *Blood Adv.* 2023;7(23):7243-7253. DOI: 10.1182/bloodadvances.2023011384.
 16. Olivier M., Hainaut P. IARC *TP53* Database // Schwab M. (eds.). *Encyclopedia of Cancer*. Springer Berlin, Heidelberg, 2017. DOI: 10.1007/978-3-642-16483-5_2934.
 17. Воропаева Е.Н., Поспелова Т.И., Воевода М.И., Максимов В.Н. Сравнительный анализ мутаций в гене *TP53* у больных ДВККЛ г. Новосибирска с данными, представленными в IARC *TP53* mutation database // *Медицинская генетика*. 2016;15(4(166)):17-20. DOI: 10.1234/XXXX-XXXX-2016-4-17-20.
 18. Voropaeva E.N., Gurageva A.A., Voevoda M.I. et al. The rs78378222 prevalence and the copy loss of the protective allele A in the tumor tissue of diffuse large B-cell lymphoma // *Peer J.* 2020;8:e10335. DOI: 10.7717/peerj.10335.
 19. Couronné L., Ruminy P., Wautier-Rascalou A. et al. Mutation mismatch repair gene deletions in diffuse large B-cell lymphoma // *Leuk. Lymphoma*. 2013;54(5):1079-1086. DOI: 10.3109/10428194.2012.739687.
 20. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I. et al. Clinical aspects of *TP53* gene inactivation in diffuse large B-cell lymphoma // *BMC Med Genomics*. 2019;12(2):35. DOI: 10.1186/s12920-019-0484-9.
 21. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I., Maksimov V.N. The results of complex analysis of *TP53* gene status in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Russian journal of hematology and transfusiology*. 2016;61(3):138-143. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-3-138-143. (In Russ.)
 10. Trifonova E.A., Spiridonova M.G., Gabidulina T.V. et al. Analysis of the *MTHFR* gene of linkage disequilibrium structure and association of polymorphic variants of the *MTHFR* gene with coronary atherosclerosis. *Genetika*. 2012;48(10):1207-1220. (In Russ.)
 11. Voropaeva E.N., Voevoda M.I., Pospelova T.I., Maksimov V.N. Linkage disequilibrium and haplotypes of rs1042522, rs1625895 and rs17878362 gene *TP53* markers in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Molecular Biology*. 2014;48(5):763-770. DOI: 10.7868/S0026898414050176. (In Russ.)
 12. Smetannikova N.A., Maksimov V.N., Ustinov S.N. et al. Genotypes and haplotypes of *p53* suppressor gene: association with lifetime of the Russian people of Novosibirsk area. *Siberian Journal of Oncology*. 2006;2(18):37-41. (In Russ.)
 13. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I., Maksimov V.N. Frequency, spectrum, and functional significance of *TP53* mutations in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Molecular Biology*. 2017;51(1):53-60. DOI: 10.7868/S0026898416060227.
 14. Ebid O.A.E.H., Ezz El Arab L.R., Saad A.S. et al. Prognostic impact of MYD88 and *TP53* mutations in diffuse large B cell lymphoma. *Ann. Hematol.* 2023;102(12):3477-3488. DOI: 10.1007/s00277-023-05420-1.
 15. Landsburg D.J., Morrisette J.J., Nasta S.D. et al. *TP53* mutations predict for poor outcomes in patients with newly diagnosed aggressive B-cell lymphomas in the current era. *Blood Adv.* 2023;7(23):7243-7253. DOI: 10.1182/bloodadvances.2023011384.
 16. Olivier M., Hainaut P. IARC *TP53* Database // Schwab M. (eds.). *Encyclopedia of Cancer*. Springer Berlin, Heidelberg, 2017. DOI: 10.1007/978-3-642-16483-5_2934.
 17. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I., Maksimov V.N. Comparative analysis of *TP53* gene mutations in patients with DLBCL of Novosibirsk with data presented in IARC *TP53* mutation database. *Medical Genetics*. 2016;15(4(166)):17-20. DOI: 10.1234/XXXX-XXXX-2016-4-17-20. (In Russ.)
 18. Voropaeva E.N., Gurageva A.A., Voevoda M.I. et al. The rs78378222 prevalence and the copy loss of the protective allele A in the tumor tissue of diffuse large B-cell lymphoma. *Peer J.* 2020;8:e10335. DOI: 10.7717/peerj.10335.
 19. Couronné L., Ruminy P., Wautier-Rascalou A. et al. Mutation mismatch repair gene deletions in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk. Lymphoma*. 2013;54(5):1079-1086. DOI: 10.3109/10428194.2012.739687.
 20. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I. et al. Clinical aspects of *TP53* gene inactivation in diffuse large B-cell lymphoma. *BMC Med Genomics*. 2019;12(2):35. DOI: 10.1186/s12920-019-0484-9.
 21. Pospelova T.I., Voropaeva E.N., Voevoda M.I., Berezina O.V. *P53* polymorphism as a potential marker

21. Пospelova T.I., Voropaeva E.N., Voevoda M.I., Berезина O.B. Полиморфизм гена *P53* как потенциальный маркер предрасположенности к развитию неходжкинских злокачественных лимфом // Гематология и трансфузиология. 2010;55(1):11-17.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Пospelova Татьяна Ивановна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-1261-5470.

Ворopaева Елена Николаевна – д-р мед. наук, доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-7542-7285.

Максимов Владимир Николаевич – д-р мед. наук, профессор кафедры медицинской генетики и биологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-7165-4496.

Скворцова Наталия Валерьевна – д-р мед. наук, доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-6938-3802.

Воевода Михаил Иванович – академик РАН, д-р мед. наук, профессор, директор ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Рос-

of susceptibility to the development of non-Hodgkin malignant lymphomas. *Russian journal hematology and transfusiology*. 2010;55(1):11-17. (In Russ.)

ABOUT THE AUTHORS

Tatiana I. Pospelova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1261-5470.

Elena N. Voropaeva – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University; Leading Researcher, Laboratory of Molecular Genetic Research of Internal Diseases, Research Institute of Internal and Preventive Medicine – the Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-7542-7285.

Vladimir N. Maksimov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Medical Genetics and Biology, Novosibirsk State Medical University; Head, Laboratory of Molecular Genetic Research of Internal Diseases of the Internal Institute of Therapy and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-7165-4496.

Skvortsova Natalia V. – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-6938-3802.

Mikhail I. Voevoda – Academician, Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), Professor, Director, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-9425-413X.