

## Встречаемость мутаций и потери гетерозиготности в гене *TP53* в зависимости от генотипа rs1042522 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме

Е.Н. Воропаева<sup>1</sup>, М.И. Чуркина<sup>2</sup>, К.А. Баширзаде<sup>2</sup>, Т.И. Поспелова<sup>2</sup>, Т.А. Агеева<sup>2</sup>, В.Н. Максимов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

### АННОТАЦИЯ

**В в е д е н и е .** Недавние исследования показали, что в опухолевых клетках различных типов злокачественных новообразований у носителей гетерозиготного варианта rs1042522 гена *TP53* большая часть точечных мутаций выявляется в Arg-аллеле, а потеря гетерозиготности (ПГ) приводит к утрате Pro-аллеля. Одновременно с этим описана связь Arg-аллеля данного полиморфизма со снижением эффективности терапии больных злокачественными новообразованиями. Ранее изучение rs1042522 на выборках пациентов с лимфомами проводилось только в здоровых тканях, в опухолевой ткани диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ) исследования данного однонуклеотидного полиморфизма не выполнялись. Учитывая склонность В-лимфоцитов к p53-опосредованному апоптозу, особый интерес представляет изучение генотипа rs1042522 в сочетании с соматическими абберациями, такими как мутации или ПГ гена *TP53* в опухолевой ткани ДВККЛ.

**Ц е л ь .** Описать частоту встречаемости соматических мутаций и ПГ в гене *TP53* в зависимости от генотипа rs1042522 в опухолевой ткани пациентов с ДВККЛ.

**М а т е р и а л ы и м е т о д ы .** В исследование вошли 150 больных с подтвержденным (гистологически и иммуногистохимически) диагнозом ДВККЛ. Выделение нуклеиновых кислот выполняли по стандартной методике фенольно-хлороформным методом из блоков фиксированных формалином и залитых в парафин биоптатов лимфомы. Для анализа генотипа rs1042522 и определения утраты аллелей гена *TP53* применяли метод полимеразной цепной реакции с последующей обработкой эндонуклеазой рестрикции электрофорезом в полиакриламидном геле. Подтверждение случаев ПГ и идентификация точечных мутаций в анализируемом гене выполняли методом прямого автоматического капиллярного секвенирования.

**Р е з у л ь т а т ы .** В группе исследования в 1/3 образцов уже на момент диагностики лимфомы имели место абберации (ПГ и мутации) последовательности *TP53*. Сочетания ПГ и мутантного статуса данного гена у больных с гетерозиготным Arg/Pro генотипом тестируемого полиморфизма в опухолевой ткани выявлено не было. Вместе с тем точечные мутации имели 20 из 73 (20/73) биоптатов лимфомы с генотипом Arg/Arg. В образцах опухоли с генотипами Pro/Pro или Arg/Pro точечные замены в *TP53* имели единичные образцы – 1/13 и 4/64 соответственно ( $p < 0.001$ ). Таким образом, было показано, что в образцах ДВККЛ с гомозиготным Arg/Arg генотипом отношение шансов сочетания ПГ с мутациями *TP53* в 5.4 раза ( $p < 0.001$ ) превышало значение для образцов с Pro/Pro или Arg/Pro генотипами (отношение шансов – 5.4, 95% доверительный интервал – 1.9; 15.4).

**З а к л ю ч е н и е .** С целью увеличения вероятности идентификации случаев сочетанного выявления ПГ и точечных аббераций в *TP53* в образцах с различными генотипами rs1042522 возможно расширение выборки анализируемых образцов лимфомы, а также применение более чувствительных методик идентификации нарушений в структуре изучаемого гена. Возможным направлением дальнейших исследований также может быть анализ клинической значимости сочетанного выявления гомозиготного Arg/Arg генотипа G/G анализируемого маркера и ПГ или/и соматических мутаций в гене *TP53* в опухолевой ткани пациентов с лимфомой.

**Ключевые слова:** ген *TP53*, мутации, генетический ландшафт, однонуклеотидный полиморфизм, утрата гетерозиготности, неходжкинская лимфома.

**Образец цитирования:** Воропаева Е.Н., Чуркина М.И., Баширзаде К.А., Поспелова Т.И., Агеева Т.А., Максимов В.Н. Встречаемость мутаций и потери гетерозиготности в гене *TP53* в зависимости от генотипа rs1042522 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(3):72–89. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-3-72-89

Поступила в редакцию 11.10.2021  
Прошла рецензирование 02.12.2021  
Принята к публикации 24.12.2021

Автор, ответственный за переписку  
Воропаева Елена Николаевна: НИИ терапии и профилактической медицины. 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1.  
E-mail: vena81@mail.ru

Received 11.10.2021  
Revised 02.12.2021  
Accepted 24.12.2021

Corresponding author  
Elena N. Voropaeva: Research Institute of Therapy and Preventive Medicine, 175/1, B. Bogatkova str., Novosibirsk, 630089, Russia.  
E-mail: vena81@mail.ru

# The occurrence of *TP53* gene mutations and loss of heterozygosity in diffuse large B-cell lymphoma in the dependence of rs1042522 genotype

E.N. Voropaeva<sup>1</sup>, M.I. Churkina<sup>2</sup>, K.A. Bashirzade<sup>2</sup>, T.I. Pospelova<sup>2</sup>, T.A. Ageeva<sup>2</sup>, V.N. Maksimov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Therapy and Preventive Medicine, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup>Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

## ABSTRACT

**Introduction.** Recent studies have shown that in tumor cells of various types of malignant neoplasms, in carriers of the heterozygous variant rs1042522 of the *TP53* gene, most of the point mutations are detected in the G allele of the gene, while the C allele was lacking as a result of loss heterozygosity (LH). At the same time, the association of the G allele of the rs1042522 gene with a decrease in the effectiveness of therapy in patients with malignant neoplasms was described. Previously, the study of rs1042522 on samples of patients with lymphomas was carried out only in healthy tissues; in the tumor tissue of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), this single nucleotide polymorphism was not studied. Given the propensity of B-lymphocytes to p53-mediated apoptosis, the study of the rs1042522 genotype in combination with somatic aberrations, such as mutations or LH of the *TP53* gene in the tumor tissue of DLBCL is of particular interest.

**Aim.** To describe the frequency of occurrence of somatic mutations and LH in the *TP53* gene depending on the rs1042522 genotype in the tumor tissue of patients with DLBCL.

**Materials and methods.** The study included 150 patients with a diagnosis of DLBCL confirmed histologically and immunohistochemically. DNA was isolated from paraffinized blocks of tumor lymph nodes and extranodal lesions by phenol-chloroform extraction using guanidine. Genotyping according to rs1042522 and detection of cases of loss of heterozygosity in the *TP53* gene was carried out by PCR with the analysis of polymorphism of the lengths of restriction fragments. Confirmation of LH and the search for mutations in the *TP53* gene were carried out by direct Sanger sequencing.

**Results.** In the study group, almost a third (28.6%) of patients with DLBCL at the stage of tumor diagnosis had genetic anomalies in the structure of the *TP53* gene (LH and mutations). The combination of LH and the mutant status of this gene in patients with heterozygous Arg/Pro genotype of the tested polymorphism in the tumor tissue was not revealed. At the same time, it was noted that in a subgroup of 73 samples with a homozygous G/G genotype, mutations were detected in 20 cases (27.3%). In the subgroups of C/C homozygous and G/C heterozygous samples, the mutation was detected only in 1/13 (7.7%) and 4/64 (6.25%) cases, respectively. The significance of differences in the frequency of detection of mutations between G/G homozygous patients and other patients with DLBCL (genotypes C/C+G/C) was  $p < 0.001$ , and the probability of detecting mutations in the *TP53* gene in carriers of the G/G genotype was more than 5.4 times higher than that in carriers of other genotypes (odds ratio – 5.4, 95% confidence interval – 1.9; 15.4).

**Conclusion.** In order to increase the probability of identifying of combined detection of LH and mutations in *TP53* with different rs1042522 genotypes, it is possible to increase the number of lymphoma samples, as well as the use of high-performance sequencing and methods for searching for allelic imbalance, which will allow registering the loss of heterozygosity in homozygous samples as well. A possible direction for further research may also be the analysis of the clinical significance of the combined detection of the homozygous genotype G/G of the marker and LH or/and somatic mutations in the *TP53* gene in the tumor tissue of patients with lymphoma.

**Keywords:** *TP53* gene, mutations, genetic profile, single nucleotide polymorphism, loss of heterozygosity, diffuse B-large cell lymphoma.

**Citation example:** Voropaeva E.N., Churkina M.I., Bashirzade K.A., Pospelova T.I., Ageeva T.A., Maksimov V.N. The occurrence of *TP53* gene mutations and loss of heterozygosity in diffuse large B-cell lymphoma in the dependence of rs1042522 genotype. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(3):72–89. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-3-72-89

## ВВЕДЕНИЕ

Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ) представляет собой самый частый тип неходжкинских злокачественных лимфом взрослых [1]. Для данного новообразования характерно высоко агрессивное течение, а именно: стремительные темпы прогрессии опухоли, высо-

## INTRODUCTION

Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is the most common type of non-Hodgkin's malignant lymphoma in adults [1]. This neoplasm is characterized by an aggressive course, namely: the rapid tumor progression, high involvement of extralymphatic organs and tissues, as well as a fatal outcome

кая частота вовлечения экстралимфатических органов и тканей, а также летальный исход в течение одного года от момента постановки диагноза в отсутствие специфического лечения [2]. Вместе с тем данный вариант неходжкинских лимфом быстро отвечает на своевременно начатую терапию, что может приводить к стойким ремиссиям [3].

Одним из предикторов плохого ответа на лечение и снижения показателей выживаемости больных является обнаружение в клетках лимфомы aberrаций, затрагивающих *TP53* [4, 5]. Результаты международных исследований демонстрируют неблагоприятное прогностическое значение точечных мутаций гена *TP53*, которые могут быть выявлены более чем в 20 % случаев, а также их связь с более высокой группой риска по International Prognostic Index (IPI) и снижением вероятности достижения полного ответа на лечение [6].

Ген *TP53* кодирует последовательность онкосупрессорного белка – p53 [7], активность которого направлена на устранение последствий повреждения генома, что реализуется за счет остановки продвижения клеточного цикла и запуска восстановления имеющихся повреждений либо активации программы клеточной смерти [8].

Известно, что однонуклеотидный полиморфизм rs1042522 имеет влияние на фенотип мутаций *TP53* [9]. Данная замена нуклеотида G на C в составе 72-го кодона гена на уровне аминокислотной последовательности приводит к замене Arg на Pro и изменению укладки белка p53 [10]. Аллельные варианты p53 – пролин и аргинин-содержащие – при этом сохраняют функциональную активность, но характеризуются целым рядом особенностей [11]. Одной из таких особенностей является то, что аргининовый вариант белка с точечными мутациями в последовательности связывается с белком-гомологом p73 и нейтрализует его проапоптотическое действие [9].

Из литературы известно, что для пациентов с плоскоклеточной карциномой органов головы и шеи, карциномами молочных желез, толстой кишки и мочевыводящих путей при выявлении генотипа G/C данного маркера было характерно обнаружение мутаций *TP53*, затрагивающих Arg-аллель, одновременно с потерей гетерозиготности (ПГ) Pro-аллеля [12–15]. Данный феномен может быть основой связи Arg-аллеля rs1042522 с плохим прогнозом у онкологических больных [16–21]. Однако модулирующее влияние данного маркера на фенотип точечных мутаций *TP53*

within one year from the date of diagnosis in the absence of specific treatment [2]. However, this variant of non-Hodgkin's lymphoma responds quickly to timely therapy, which can lead to sustained remissions [3].

One of the predictors of a poor response to treatment and decrease in patient survival is the detection in lymphoma cells of *TP53* gene aberrations [4, 5]. The results of international studies demonstrate the unfavorable prognostic value of point mutations in the *TP53* gene, which can be detected in more than 20% of cases, as well as their association with a higher risk group according to the International Prognostic Index (IPI) and a decrease in the likelihood of a complete response to treatment [6].

The *TP53* gene encodes the sequence of the p53 tumor suppressor protein [7], whose activity is aimed at eliminating the consequences of genome lesions, which is realized by the halt of cell cycle progression and starting the repair the damage, or inducing the programmed cell death [8].

The single nucleotide polymorphism rs1042522 is known to influence the phenotype of *TP53* mutations [9]. This G to C nucleotide substitution in the codon 72 of the gene in the amino acid sequence leads to the substitution of Arg to Pro and a change in the p53 protein folding [10]. Allelic variants of p53 – proline and arginine-rich – retain their functional activity, but are characterized by a number of features [11]. One of these features is that the arginine variant of a protein with point mutations in the sequence binds to the p73 homolog protein and neutralizes its proapoptotic effect [9].

It is known from the literature that for patients with squamous cell carcinoma of the head and neck organs, carcinomas of the mammary glands, colon and urinary tract, when the G/C genotype of this marker was detected, the detection of *TP53* mutations in the Arg allele was characteristic, simultaneously with the loss of heterozygosity (LH) in the Pro allele [12–15]. This phenomenon may be the basis for the association of the Arg allele rs1042522 with a poor prognosis in cancer patients [16–21]. However, the effect of this marker on the phenotype of point mutations in *TP53* needs to be clarified and analyzed in a wide range of tumors, including malignant neoplasms of the blood system.

## AIM OF THE RESEARCH

To describe the frequency of somatic mutations and LH in the *TP53* gene depending on the rs1042522 genotype in the tumor tissue of patients with DLBCL.

нуждается в уточнении и анализе при широком круге опухолей, включая злокачественные новообразования системы крови.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Описать частоту встречаемости соматических мутаций и ПГ в гене *TP53* в зависимости от генотипа rs1042522 в опухолевой ткани пациентов с ДВККЛ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 150 больных ДВККЛ. Диагноз ДВККЛ был верифицирован с применением гистологического и иммуногистохимического исследований опухолевых очагов поражения.

Выделение нуклеиновых кислот выполняли по стандартной методике фенольно-хлороформным методом из срезов с блоков фиксированных формалином и залитых в парафин биоптатов лимфомы. Контролировалось, чтобы опухолевая ткань в срезе преобладала над здоровой. Качество и чистота полученной ДНК проверялись на аппарате Epoch (BioTek Instruments, USA).

Генотипирование rs1042522 гена *TP53* проводилось методом ПЦР с анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ) [22]. В реакции ПЦР с фланкирующими праймерами выполняли амплификацию участка расположения rs1042522 (праймеры производства ООО «Биосинтез» (Новосибирск, Россия): F 5'-gacccaggtccagatgaa-3' и R 5'-agaagcccagacggaac-3') со следующими условиями: один цикл: 95 °C – 5 мин; 35 циклов: 95 °C – 30 с, 50 °C – 30 с, 72 °C – 20 с; один цикл: 72 °C – 7 мин.

Далее ампликон в течение 12 ч обрабатывали рестриктазой BstFNI (НПО «СибЭнзим», Новосибирск, Россия), взятой в избытке. Результаты реакции оценивали путем электрофореза в 4% полиакриламидном геле (рис. 1).

Для идентификации ПГ в образцах опухоли с гетерозиготным генотипом анализируемого маркера применялась методология, предложенная ранее и основанная на том, что при различном процентном соотношении Arg- и Pro-аллелей rs1042522 в исследуемых образцах имеет место различное соотношение яркости полос на электрофореграммах результатов ПЦР-ПДРФ анализа и пиков на хроматограммах секвенсов, соответствующих аллелям [13].

Представленный авторами подход был нами воспроизведен. Для этого из группы исследования выбирали и доводили до концентрации

## MATERIALS AND METHODS

The study included 150 patients with DLBCL. The diagnosis of DLBCL was verified histologically and immunohistochemically.

Nucleic acids were isolated according to the standard procedure by the phenol-chloroform extraction from sections made from blocks of formalin-fixed and paraffin-embedded lymphoma biopsy specimens. It was controlled that the tumor tissue in the section prevailed over the healthy one. The quality and purity of the obtained DNA were checked on an Epoch device (BioTek Instruments, USA).

The rs1042522 genotyping of the *TP53* gene was carried out by PCR with the analysis of restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) [22]. In the PCR reaction with flanking primers, the amplification of the region containing rs1042522 was performed (primers manufactured by Biosintez LLC (Novosibirsk, Russia): F 5'-gacccaggtccagatgaa-3' and R 5'-agaagcccagacggaac-3') under the following conditions: one cycle at 95°C – 5 min; 35 cycles at 95°C – 30 s, 50°C – 30 s, 72°C – 20 s; one cycle at 72°C – 7 min.

Then, the amplicon was treated for 12 h with the BstFNI restrictase (SibEnzym Ltd., Novosibirsk, Russia), taken in excess. The results of the reaction were evaluated by electrophoresis on 4% polyacrylamide gel (Fig. 1).

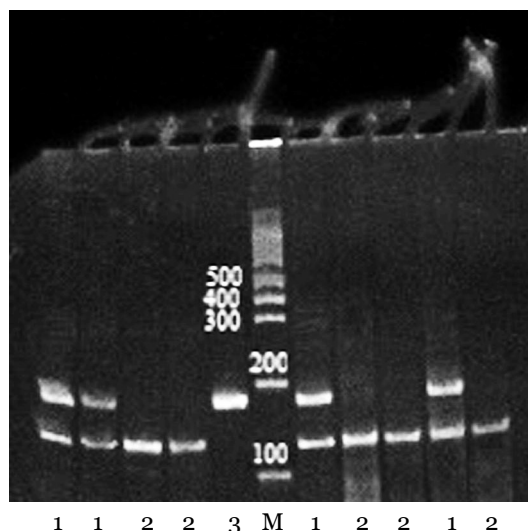
To identify LH in tumor samples with a heterozygous genotype, we used the methodology proposed earlier and based on the fact that with a different percentage of Arg and Pro alleles rs1042522 in the studied samples, there is a different ratio of the brightness of the bands on the electrophoregrams in PCR-RFLP and peaks in chromatograms corresponding to alleles [13].

We have reproduced the approach presented by the authors. For this, one Arg/Arg and one Pro/Pro homozygous tumor sample was selected from the study group and brought to a concentration of 10 ng/μl. Then they were mixed in 11 tubes in the ratios 10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10 and used for PCR-RFLP with restriction endonuclease BstFNI (Fig. 2).

The confirmation of LH cases was performed by automated direct Sanger sequencing. For this purpose, the obtained amplicons were purified from salts, unused primers, and deoxynucleoside triphosphates using Sephadex G-50 microcolumns. The analysis was performed by capillary electrophoresis on a Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystems, Hitachi, USA). The sequencing results were analyzed using the SeqScape and Chromas software.

Mutations in the DNA-binding domain of *TP53*, which includes exons 5 to 8 of the gene, in the





**Рис. 1.** Результаты рестрикции BstFNI при генотипировании rs1042522: М – маркер молекулярной массы; 1 – 125 ± 172 пары нуклеотидов (п.н.) (генотип Arg/Arg); 2 – 125 п.н. (генотип Arg/Pro); 3 – 172 п.н. (генотип Pro/Pro)  
**Fig. 1.** Results of BstFNI restriction during rs1042522 genotyping: M – molecular weight marker; 1 – 125 ± 172 base pairs (b.p.) (Arg/Arg genotype); 2 – 125 b.p. (Arg/Pro genotype); 3 – 172 b.p. (genotype Pro/Pro)

10 нг/мкл по одному Arg/Arg и Pro/Pro гомозиготному опухолевому образцу. Далее их смешали в 11 пробирках в соотношениях 10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10 и взяли в ПЦР-ПДРФ анализ с эндонуклеазой рестрикции BstFNI (рис. 2).

Подтверждение случаев ПГ выполнялось методом автоматического капиллярного секвенирования. Для этого наработанные ампликоны подвергали очистке от солей, не включившихся праймеров и дезоксинуклеозидтрифосфатов с помощью микроколонок с Sephadex G-50. Анализ осуществляли методом капиллярного электрофореза на аппарате Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystems, Hitachi, USA). Результаты секвенирования анализировали с помощью программ SeqScape и Chromas.

Мутации в ДНК-связывающем домене *TP53*, включающем с 5-го по 8-й экзоны гена, в опухолевой ткани пациентов с ДВККЛ выявляли методом прямого секвенирования по Сенгеру, как было описано ранее [23]. Функциональное значение выявленных мутаций определяли в ходе литературного поиска, анализа специализированных баз данных (IARC TP53 Database, COSMIC) и с помощью онлайн-программы Polymorphism Phenotyping 2 (Polyphen-2) [24].

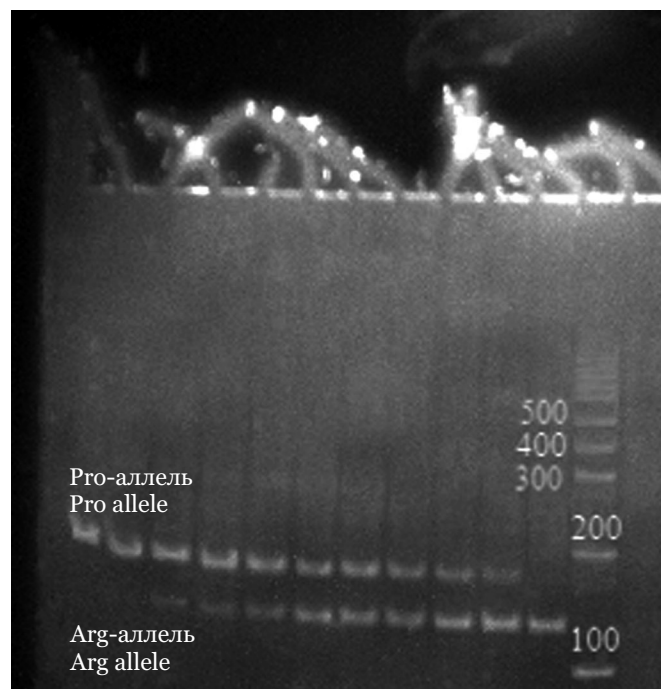
Статистический анализ проводили с использованием программы STATISTICA 10 (StatSoft Inc., USA), операционная система Windows 10 (Microsoft). При анализе распределения частот аллелей и генотипов rs1042522 проверялось соблюдение равновесия Харди – Вайнберга. Для

tumor tissue of patients with DLBCL were detected by direct Sanger sequencing, as described previously [23]. The functional significance of the identified mutations was determined in the course of a literature search, analysis of specialized databases (IARC TP53 Database, COSMIC), and using the Polymorphism Phenotyping 2 (Polyphen-2) software tool [24].

Statistical analysis was performed using the STATISTICA 10 (StatSoft Inc., USA) for Windows 10 (Microsoft). When analyzing the distribution of frequencies of rs1042522 alleles and genotypes, the Hardy-Weinberg equilibrium test was used. To compare the frequencies, the standard Pearson's  $\chi^2$  test was used. The relationship between the studied parameters was assessed by calculating the odds ratio (OR) with a 95% confidence interval. Differences between the compared parameters at  $p < 0.05$  were considered statistically significant.

## RESULTS AND DISCUSSION

A high frequency of *TP53* mutations detection occurs in a wide range of animal and human tumors [25, 26]. Despite decades of study and a large amount of knowledge accumulated by researchers, a clear understanding of the molecular mechanisms of the p53 tumor suppressor protein has not been achieved. At the same time, there is no doubt that structural aberrations in the *TP53* gene are a key mechanism in the formation of a predisposition to the development, initiation, and progression of many tumors, including malignant non-Hodgkin's lymphomas [27].



Pro-аллель / Pro allele 1.0 0.9 0.8 0.7 0.6 0.5 0.4 0.3 0.2 0.1 0.0 M  
 Arg-аллель / Arg allele 0.0 0.1 0.2 0.3 0.4 0.5 0.6 0.7 0.8 0.9 1.0

**Рис. 2.** Результаты рестрикции BstFNI при генотипировании rs1042522 в образцах, содержащих различное соотношение Arg- и Pro-аллелей (125 и 172 п.н. соответственно) rs1042522 гена *TP53*; М – маркер молекулярной массы; цифрами обозначены соотношения Arg- и Pro-аллелей в образцах

**Fig. 2.** The results of BstFNI restriction for the *TP53* SNP rs1042522 genotyping in samples containing different proportion of Arg and Pro alleles (125 and 172 b.p., respectively): M – molecular weight marker; numbers indicate the proportion of Arg and Pro alleles in the samples

сравнения частот использовался стандартный критерий  $\chi^2$  Пирсона. Оценка связи между исследуемыми параметрами проводилась с помощью расчета отношения шансов (ОШ) с 95% доверительным интервалом (ДИ). Различия между сравниваемыми показателями при значении  $p < 0.05$  считались статистически значимыми.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Высокая частота выявления мутаций *TP53* имеет место при широком круге опухолей животных и человека [25, 26]. Несмотря на десятилетия изучения и большой объем накопленных исследований, четкое понимание молекулярных механизмов работы белка-онкосупрессора p53 так и не достигнуто. Вместе с тем несомненно, что структурные aberrации в гене *TP53* – ключевой механизм в формировании предрасположенности к развитию, инициации и прогрессии многих опухолей, включая неходжкинские злокачественные лимфомы [27].

Структура данного гена полиморфна [28]. Большинство идентифицированных в нем однонуклеотидных замен, малых инсерций и деле-

The structure of this gene is polymorphic [28]. Most of the single nucleotide substitutions, small insertions and deletions identified in it, are located in intronic regions and do not involve splice sites. The single nucleotide substitution in rs1042522 is located in the coding sequence of the *TP53* exon 4 and is the most studied in both experimental and population studies.

The results of the study of tumor tissue in cancers showed that this marker can be an intragenic modulator of *TP53* mutations. Thus, when the Arg/Pro genotype was detected, somatic mutations in the Arg allele of the gene were revealed predominantly, which was often combined with the loss of the Pro allele [12–15]. It is also known that allelic variants of p53 are functionally different. In tumor cell lines, at an equal concentration of p53 in cells, a greater ability for apoptosis was noted for the Arg/Arg genotype compared to Pro/Pro [18].

Previously, the study of the rs1042522 genotype in lymphomas' tissue was not carried out, in contrast to the study of this marker in healthy tissues (peripheral blood, bone marrow, and buccal epithelium) of patients [29]. At the same time, it has been suggested

ций расположены в интронных участках и не затрагивают сайтов сплайсинга. Однонуклеотидная замена rs1042522 расположена в кодирующей последовательности четвертого экзона *TP53* и является наиболее изученной как в экспериментальных, так и в популяционных исследованиях.

Результаты исследования опухолевой ткани при раках показали, что данный маркер может являться внутригенным модулятором эффекта мутаций *TP53*. Так, при выявлении генотипа Arg/Pro отмечено преимущественное обнаружение соматических мутаций в Arg-аллеле гена, что зачастую сочеталось с утратой Pro-аллеля [12–15]. Известно также, что аллельные варианты p53 функционально различны. В опухолевых культурах при равной концентрации p53 в клетках отмечалась большая способность к апоптозу при генотипе Arg/Arg в сравнении с Pro/Pro [18].

Ранее изучение генотипа rs1042522 в лимфотканной ткани не проводилось, в отличие от изучения данного маркера в здоровых тканях (периферической крови, костном мозге и буккальном эпителии) пациентов [29]. Вместе с тем высказывается предположение, что генотип rs1042522 *TP53* злокачественных клеток при ДВККЛ изолированно или в совокупности с соматическими мутациями и/или ПГ в данном гене определяет фенотип опухоли.

В связи с этим на первом этапе работы нами была изучена ассоциация соматических aberrаций в гене *TP53* с генотипом наследуемого rs1042522 в опухолевой ткани ДВККЛ. В табл. 1 представлено распределение частот аллелей и генотипов в лимфотканной ткани. Преобладающим в группе исследованных образцов был генотип Arg/Arg (48.6 %). На минорный генотип Pro/Pro приходилось 8.8 %. Генотип Arg/Pro имели 42.6 % образцов. Распределение частот аллелей было следующим: G-аллель – 70 %, C-аллель –

that the *TP53* rs1042522 genotype of malignant cells in DLBCL alone or in combination with somatic mutations and/or LH in this gene determines a tumor phenotype.

In this regard, at the first stage of our work, we studied the association of somatic aberrations in the *TP53* gene with the genotype of the inherited rs1042522 in DLBCL tumor tissue. Table 1 presents a distribution of allele and genotype frequencies in tissue of lymphomas. The Arg/Arg genotype prevailed in the group of studied samples (48.6%). The minor Pro/Pro genotype accounted for 8.8%. The Arg/Pro genotype was found in 42.6% of the samples. The distribution of allele frequencies was as follows: G allele – 70%, C allele – 30%, which corresponded to the Hardy-Weinberg equilibrium ( $\chi^2 = 0.0378$ ) and was consistent with the data obtained on healthy tissue of patients [29].

During large population studies, it was shown that the Arg and Pro alleles of the studied marker have a different adaptive effect on a human body exposed to ultraviolet radiation, which is reflected in the differences in their frequency in the form of a decrease for Pro alleles and an increase for Arg alleles in the direction from north to south [30]. The values of the frequency distribution of alleles and genotypes of rs1042522 obtained by us, correspond to the results of other authors studying the gene pool of the populations of the Siberian region [27, 31, 32].

At the second stage of the work, samples with the Arg/Pro genotype of the tested marker were selected. In this subgroup, the frequency of LH in the *TP53* gene was estimated. Several different mechanisms for the occurrence of this aberration are known, the predominant of which in the tumor tissue is deletion of chromosome 17's region, in which the gene is localized (partial LH) [33]. It is known that LH in the *TP53* gene is an unfavorable prognostic factor for such indicators of cancer ther-

**Таблица 1.** Распределение частот аллелей и генотипов rs1042522 в лимфотканной ткани  
**Table 1.** Distribution of allele and genotype frequencies of rs1042522 in lymphoma tissue

| rs1042522           | Частота / Frequency |      |
|---------------------|---------------------|------|
|                     | n                   | %    |
| Генотип / Genotype: |                     |      |
| Arg/Arg             | 73                  | 48.6 |
| Arg/Pro             | 64                  | 42.6 |
| Pro/Pro             | 13                  | 8.8  |
| Аллель / Allele:    |                     |      |
| Arg                 | 210                 | 70.0 |
| Pro                 | 90                  | 30.0 |

30 %, что соответствовало сохранению равновесия Харди – Вайнберга ( $\chi^2 = 0.0378$ ) и согласовалось с данными, полученными на здоровой ткани пациентов [29].

В ходе крупных популяционных исследований было показано, что Arg- и Pro-аллели изучаемого маркера имеют различный адаптивный эффект при воздействии на организм человека ультрафиолета, что находит свое отражение в различиях частоты их встречаемости в виде убывания для Pro-аллелей и нарастания для Arg-аллелей в направлении с севера на юг [30]. Полученные нами значения распределения частот аллелей и генотипов rs1042522 соответствуют результатам других авторов, изучающих генофонд популяций Сибирского региона России [27, 31, 32].

На втором этапе работы были отобраны пробы, имеющие генотип Arg/Pro тестируемого маркера. В данной подгруппе была оценена частота ПГ в гене *TP53*. Известно несколько различных механизмов возникновения данного события, преобладающим из которых в опухолевой ткани является делеция участка 17-й хромосомы, в котором локализован ген (частичная ПГ) [33]. Из литературы известно, что ПГ в гене *TP53* является фактором неблагоприятного прогноза для таких показателей эффективности терапии злокачественных новообразований, как общая и безрецидивная выживаемость больных [19, 34].

На рис. 3 представлена электрофореграмма случаев лимфомы с предполагаемой ПГ. Данные пробы визуально имеют меньшую выраженность и яркость полосы, соответствующей делетированному аллелю [13].

Подтверждение ПГ выполняли путем автоматического капиллярного секвенирования. В случае гетерозиготности по наследуемым однонуклеотидным полиморфизмам в норме на хроматограмме сиквенса в анализируемой позиции наблюдаются два пика равной высоты, уровень сигнала которых примерно в два раза ниже окружающих пиков (рис. 4). При потере гетерозиготности в анализируемой позиции высота двух пиков различается [13].

Нами были подтверждены практически все случаи (16 из 17 (16/17)) предполагаемой ПГ (рис. 5), что составило 25 % всех гетерозиготных образцов и согласовалось с литературными данными (9.1–35 %) [35, 36]. В представленных публикациях имеет место разброс частоты выявления ПГ в *TP53* при ДВККЛ от 9.1 до 35 %, что может быть связано с различиями размера и клинических характеристик тестируемых популя-

apy effectiveness as overall and relapse-free survival [19, 34].

Fig. 3 shows the electrophoregram of cases of lymphoma with suspected LH. These samples visually have a lower intensity and brightness of the band corresponding to the deleted allele [13].

For confirmation of LH, the direct Sanger sequencing was performed. In the case of heterozygosity for inherited single nucleotide polymorphisms, the normal chromatogram in the analyzed position shows two peaks of equal height, the signal level of which is approximately two times lower than the surrounding peaks (Fig. 4). With the loss of heterozygosity in the analyzed position, the height of the two peaks differs [13].

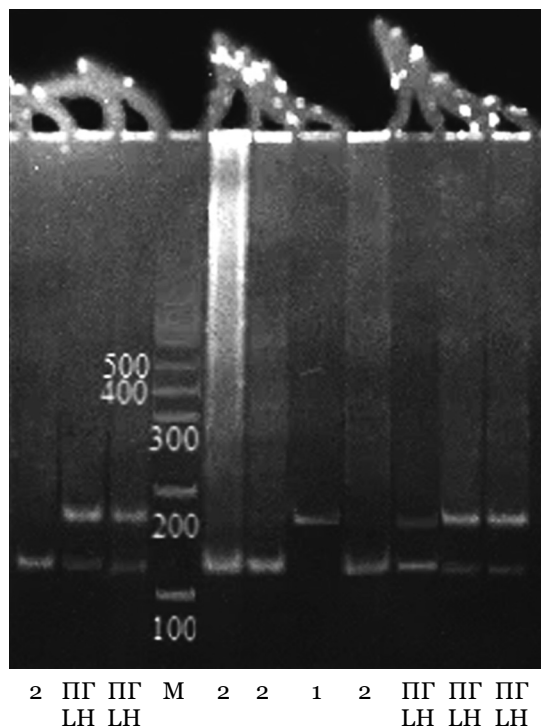
We confirmed almost all cases (16 out of 17 (16/17)) of suspected LH (Fig. 5), which accounted for 25% of all heterozygous samples and were consistent with the literature data (9.1–35%) [35, 36]. In the presented publications, there is a spread in frequency of *TP53* LH detection in DLBCL – from 9.1 to 35%, which may be due to differences in the size and clinical characteristics of the tested populations, and in the methods used by researchers to assess LH.

The most popular technique for determining LH in the *TP53* gene is currently FISH (Fluorescence *In Situ* Hybridization) using probes specific to the location of this gene on the short arm of chromosome 17, which makes it possible to detect cases of both complete and partial LH. However, this method is not sensitive to cases of LH, based on the deletions smaller than the hybridization site of the probe, as well as the phenomenon of uniparental disomy, when LH is not accompanied by a decrease in the number of gene copies [37].

At the third stage of the study, we detected the somatic mutations of the *TP53* DNA-binding domain in tissue of lymphomas. More than 30 aberrations were detected in 25/150 (16.6%) samples, which was slightly lower than the frequency of mutations in this gene according to other authors (20–24%) [38], and can be explained both by differences in the power of studies and by the use of different methods.

Another explanation may be a feature of the cohort we studied, namely: the samples in our work were diagnostic, i.e. were obtained from patients with newly-diagnosed lymphomas. At the same time, it is known that *TP53* mutations are detected more often with an increase in the duration of the disease. In addition, the direct Sanger sequencing method that we use has a sensitivity of about 10–30% [39], which does not allow detection of aberrations with a representation of the mutant allele below this value,





**Рис. 3.** Результаты рестрикции BstFNI при генотипировании rs1042522 в образцах опухоли:

М – маркер молекулярной массы; 1 – 172 п.н. (генотип Pro/Pro); 2 – 125 п.н. (генотип Arg/Arg);

ПГ – предполагаемая потеря гетерозиготности 172 ± 125 п.н. (генотип Arg/Pro)

**Fig. 3.** Results of BstFNI restriction during rs1042522 genotyping in tumor samples: M – molecular weight marker; 1 – 172 b.p. (Pro/Pro genotype); 2 – 125 b.p. (Arg/Arg genotype); LH – suspected loss of heterozygosity 172 ± 125 b.p. (Arg/Pro genotype)

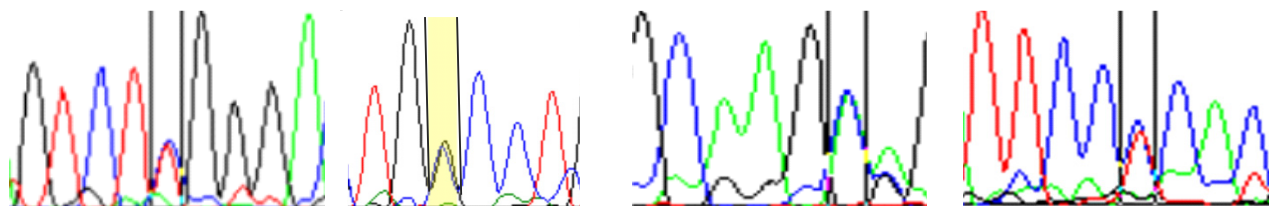
ций, отличием применяемых исследователями методов оценки ПГ в биоматериале.

Самым популярным методом определения ПГ в гене *TP53* в настоящее время является FISH (fluorescence *in situ* hybridization) с применением зондов, специфичных расположению данного гена на коротком плече 17-й хромосомы, что позволяет выявлять случаи как полной, так и частичной ПГ. Однако данный метод не чувствителен к случаям ПГ, механизмами возникновения которых являются делеции, размером меньшие, чем участок гибридизации зонда, а также явления однородительской дисомии, когда ПГ

as well as mutations outside the analyzed DNA-binding domain of the gene [40].

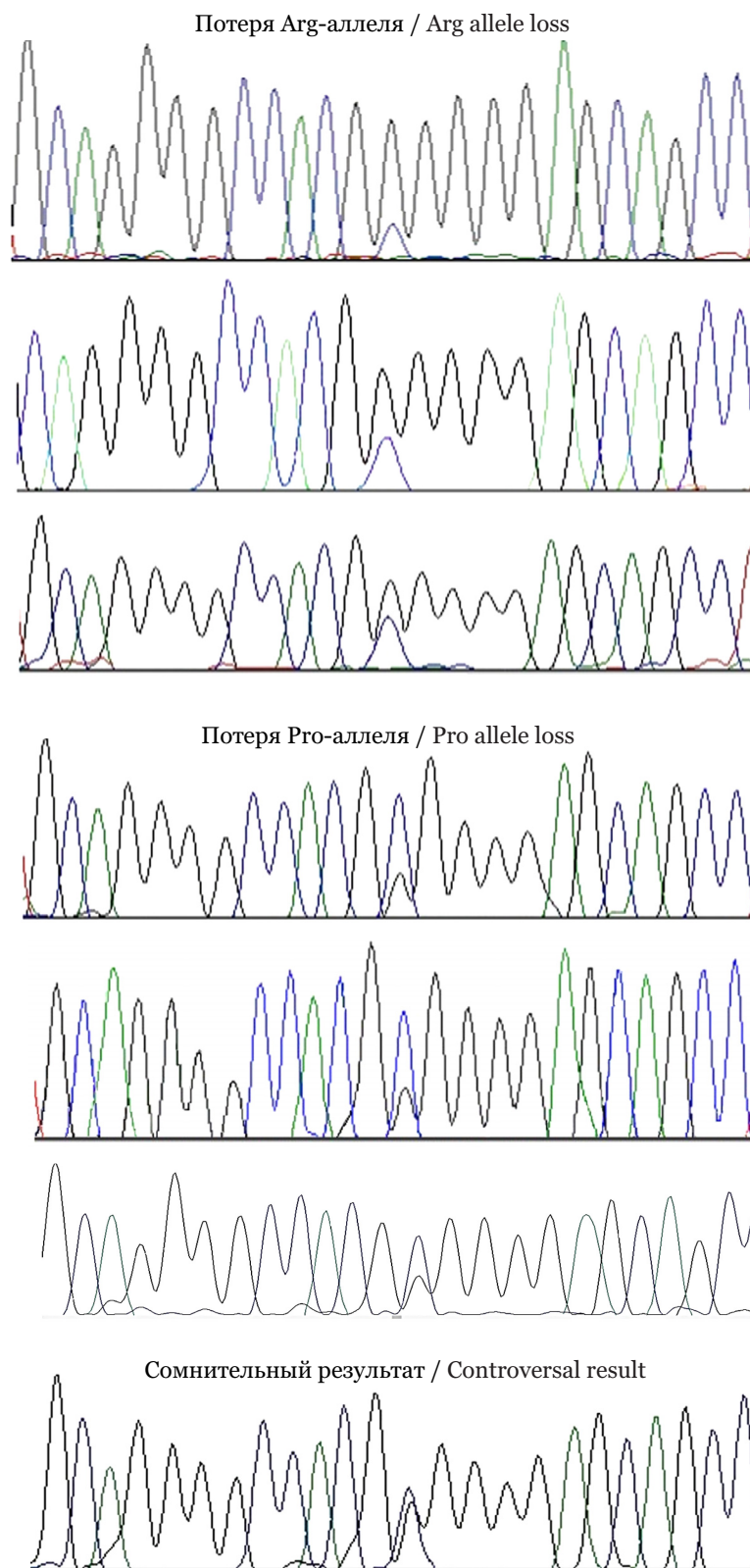
Most of the mutations were located in exon 5 – 13/31 (41.9%), missense substitutions dominated (70%) (Fig. 6). Bioinformatic analysis using the Polyphen2 software tool showed that more than half (67.7%) of them were “probably” or “likely” pathogenic, with the exception of five substitutions – p.L146R, p.R156C, p.M160V, p.T211S, p.G293R.

Six samples showed multiple somatic aberration. Substitutions p.W146R, p.T155I, p.V272E and p.R273C were encountered twice in the study group. The functional significance of these missense muta-



**Рис. 4.** Фрагменты секвенограмм гена *TP53*, содержащие гетерозиготные однонуклеотидные замены по наследуемому полиморфизмам

**Fig. 4.** Fragments of *TP53* gene sequencing containing heterozygous single base substitutions for inherited polymorphisms



**Рис. 5.** Фрагменты секвенограмм (секвенирование с обратного праймера) 4-го экзона гена *TP53* избранных случаев с предполагаемой потерей гетерозиготности

**Fig. 5.** Fragments of sequencing (from a reverse primer) of the *TP53* exon 4 of selected cases with suspected loss of heterozygosity

не сопровождается уменьшением числа копий гена [37].

На третьем этапе исследования выполнено изучение соматических мутаций ДНК-связывающего домена *TP53* в лимфотканной. Выявлено более 30 aberrations в 25/150 (16.6 %) пробах, что было незначительно ниже данных по частоте мутаций в данном гене, представленных другими авторами (20–24 %) [38] и может быть объяснено как различиями в мощности исследований, так и применением различных методик.

Другим объяснением может быть особенность изучаемой нами выборки, а именно: образцы, проанализированные в нашей работе, являлись диагностическими, т.е. были получены от первичных пациентов. Вместе с тем известно, что мутации *TP53* выявляются чаще при увеличении длительности заболевания. Кроме того, применяемый нами подход прямого секвенирования по Сенгеру имеет чувствительность около 10–30 % [39], что не позволяет детектировать aberrations с представленностью мутантного аллеля ниже данного значения, а также мутации за пределами анализируемого ДНК-связывающего домена гена [40].

Большая часть мутаций располагалась в 5-м экзоне – 13/31 (41.9 %), доминирующими были миссенс-замены (70 %) (рис. 6). Биоинформационный анализ с применением программы Polyphen2 показал, что более половины (67.7 %) из них являлись «возможно» либо «вероятно» патогенными, за исключением пяти замен – p.W146R, p.R156C, p.M160V, p.T211S, p.G293R.

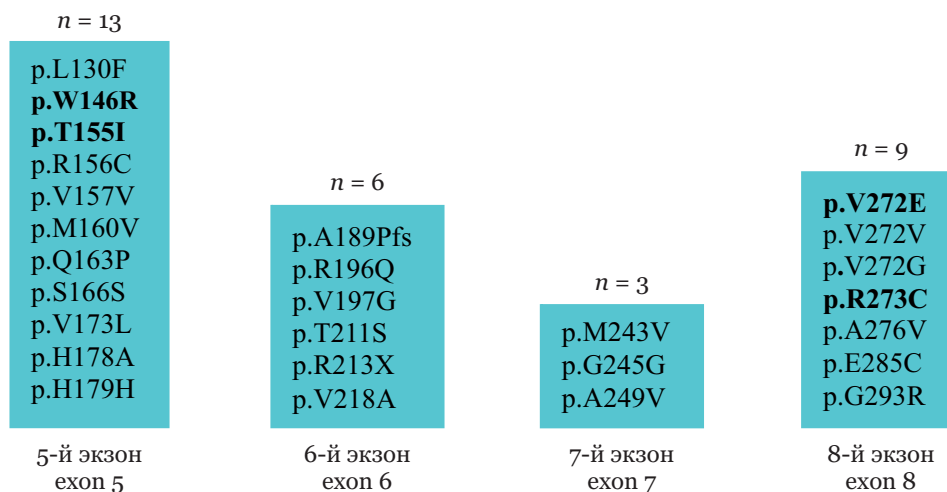
tions is evidenced by their repeated description in the specialized IARC TP53 and COSMIC databases for a wide range of malignant neoplasms, including hemoblastoses.

The p.R213X nonsense mutation and the p.A189Pfs frameshift mutation result in the synthesis of a truncated form of the p53 protein devoid of biological activity.

Out of 5 (16%) same-sense mutations, three are described in the COSMIC in other types of malignant neoplasms, including lymphomas. Despite the fact that substitutions of this type do not violate the amino acid sequence in the initial structure of the encoded protein, they can disturb the messenger RNA splicing and folding, reduce the lifespan of a molecule, slow down the rate of protein synthesis, etc. [41].

At the fourth stage of the study, an analysis of the combined detection of somatic aberrations in tumor samples with a heterozygous Arg/Pro genotype rs1042522 was performed. It should be noted that we did not detect samples with a combination of LH and mutations, which can be explained as follows. The frequency of somatic aberrations of *TP53* in lymphomas is lower than in malignant of connective tissue or epithelial tumors. In cancers, their detection rate can exceed 60–80% [42].

In addition to the lower frequency of mutations in the *TP53* gene in lymphomas, tumor samples from patients with DLBCL for our study corresponded to the stage of diagnosis; accordingly, the probability of combined detection of somatic aberrations was potentially lower than in the case of studying tissue of lymphomas in advanced stages of the disease. At



**Рис. 6.** Распределение выявленных мутаций в 5, 6, 7 и 8-м экзонах гена *TP53* (жирным шрифтом выделены мутации, встречающиеся в группе больных дважды)  
**Fig. 6.** Distribution of detected mutations in exons 5, 6, 7 and 8 of the *TP53* gene (mutations that occur twice in the group of patients are in bold)

В шести образцах были выявлены множественные соматические нарушения. Дважды в группе исследования встречались замены p.W146R, p.T155I, p.V272E и p.R273C. О функциональной значимости этих миссенс-мутаций свидетельствует многократное их описание в специализированных базах данных IARC TP53 Database и COSMIC при широком круге злокачественных новообразований, включая гемобластозы.

Замена нонсенс-типа p.R213X и мутация сдвига рамки считывания p.A189Pfs приводят к синтезу укороченной формы белка p53, лишённого биологической активности.

Из 5 (16 %) мутаций сеймсенса-типа три описаны в Catalogue of somatic mutations in cancer при других вариантах злокачественных новообразований, в том числе при лимфомах. Несмотря на то, что замены данного вида не нарушают последовательность аминокислот в первичной структуре кодируемого белка, они могут нарушать каноническое протекание сплайсинга матричной РНК и укладку, снижать срок жизни молекулы, замедлять процессы синтеза белка и т.д. [41].

На четвертом этапе исследования выполнялся анализ сочетанного обнаружения соматических aberrаций в образцах опухоли, имеющих гетерозиготный Arg/Pro генотип rs1042522. Следует отметить, что нами не были выявлены пробы с сочетанием ПГ и мутаций, что может быть объяснено следующим. Частота соматических aberrаций *TP53* при лимфомах ниже, чем при злокачественных опухолях соединительнотканного или эпителиального происхождения. При раках частота их детекции может превышать 60–80 % [42].

Помимо меньшей частоты мутаций в гене *TP53* при лимфомах, образцы опухоли пациентов с ДВККЛ для нашего исследования соответствовали диагностическому этапу; соответственно, вероятность сочетанного обнаружения соматических aberrаций была потенциально ниже, чем в случае изучения лимфомной ткани в III и IV стадии болезни. При этом ПГ и мутации могут появляться в различной последовательности, однако вероятность их сочетанного выявления, безусловно, увеличивается с прогрессированием опухоли [43, 34, 35].

Необходимо отметить также и возможность влияния аллелей изучаемого маркера на функциональную активность белка p53, которая может реализовываться в тканеспецифичной модели. Так, в последних работах, описывающих молекулярно-генетический портрет опухолей на основании результатов секвенирования нового поколения, были объяснены механизмы появле-

the same time, LH and mutations can appear in different sequences, but the probability of their combined detection certainly increases with tumor progression [43, 34, 35].

It should also be noted that the alleles of the studied marker can influence the functional activity of the p53 protein, which can be realized in a tissue-specific model. Thus, in recent works describing the molecular genetic profile of tumors based on the results of next-generation sequencing, the mechanisms for the appearance of differences in the functioning of the Arg and Pro alleles of rs1042522 were explained. For example, differential expression of a number of genes in hemizygous cells derived from an Arg/Pro heterozygous progenitor cell was shown [44]. It has also been proven that the Arg allele increases the level of expression of genes that promote the triggering of programmed cell death, while the Pro allele has a greater focus on the positive regulation of genes that control the cell cycle [45].

Allele-specific expression of rs1042522 has been proven in tissues of the thymus and small intestine of healthy individuals, as well as cancer patients [13]. Apoptosis of thymus cells was effectively activated by the Pro variant of the protein [21], while that of small intestine cells was activated by the Arg variant [23].

For spleen lymphocytes, there were no differences in apoptosis activity depending on the genotype for rs1042522 or monoallelic expression of the *TP53* gene [23], which may be due to the need to preserve the possibility of two-allelic expression of *TP53* in B-lymphocytes for their normal functioning and prevention of tumor growth.

In the process of the innate immune response to antigens, B-cells, passing through the stages of blast transformation, and then V(D)J recombination and hypermutability of receptor genes, have a high level of proliferation and genome instability. This inevitably leads to increased requirements for the error-free functioning of cell cycle control systems, repair of DNA damage and the launch of programmed death both by external and internal mechanisms. In each of these processes, *TP53* plays a key role.

We noted that in the subgroup of specimens of lymphomas with the Arg/Arg genotype, somatic mutations occurred in 20/73 cases (27.3%). In the subgroups Pro/Pro and Arg/Pro, only in 1/13 (7.7%) and 4/64 (6.25%) cases, respectively. Thus, mutations were significantly more frequently detected in tumor tissue samples of DLBCL patients with the homozygous Arg/Arg genotype of the analyzed marker compared to heterozygous patients



ния различий в функционировании Arg- и Pro-аллелей rs1042522. Например, была показана дифференциальная экспрессия ряда генов в гемизиготных клетках, происходящих из Arg/Pro гетерозиготной клетки-предшественницы [44]. Также было доказано, что Arg-аллель повышает уровень экспрессии генов, способствующих запуску программированной клеточной смерти, тогда как Pro-аллель имеет большую направленность в отношении положительной регуляции генов, контролирующих клеточный цикл [45].

В тканях тимуса и тонкого кишечника здоровых лиц, а также онкологических пациентов доказана аллель-специфическая экспрессия rs1042522 [13]. Апоптоз клеток тимуса эффективно активировался Pro-вариантом белка [21], в то время как клеток тонкого кишечника – Arg-вариантом [23].

Для лимфоцитов селезенки различий в активности апоптоза в зависимости от генотипа по rs1042522 или моноаллельной экспрессии гена *TP53* выявлено не было [23], что может быть связано с необходимостью сохранения возможности двухаллельной экспрессии *TP53* в В-лимфоцитах для их нормального функционирования и предотвращения опухолевого роста.

В процессе разветвления естественного ответа иммунной системы на антигены В-клетки, проходя этапы бласттрансформации, а далее V(D)J-рекомбинации и гипермутабельности генов рецепторов, имеют высокий уровень пролиферации и нестабильность генома. Это неминуемо приводит к повышению требований к безошибочному функционированию систем контроля клеточного цикла, репарации поврежденных ДНК и запуска программированной смерти как по внешнему, так и внутреннему механизму. В каждом из этих процессов *TP53* играет ключевую роль.

Нами было отмечено, что в подгруппе образцов лимфомы с генотипом Arg/Arg соматические мутации имели место в 20/73 случаях (27.3 %). В подгруппах же Pro/Pro и Arg/Pro – лишь в 1/13 (7.7 %) и 4/64 (6.25 %) случаев соответственно. Таким образом, мутации значимо чаще обнаруживались в образцах опухолевой ткани больных ДВККЛ с гомозиготным генотипом Arg/Arg анализируемого маркера в сравнении с гетерозиготными больными ( $p = 0.002$ ). Статистическая значимость различий по частоте соматических мутаций гена *TP53* между образцами Arg/Arg и Arg/Pro + Pro/Pro составила  $p < 0.001$ , а вероятность выявления мутаций в гене *TP53* у носителей генотипа Arg/Arg более чем в 5 раз превы-

( $p = 0.002$ ). The statistical significance of differences in the frequency of somatic mutations in the *TP53* gene between the Arg/Arg and Arg/Pro + Pro/Pro samples was  $p < 0.001$ , and the probability of detecting mutations in the *TP53* gene in carriers of the Arg/Arg genotype was more than 5 times higher than that in carriers of other genotypes ( $p < 0.001$ , OR – 5.4 and 95% confidence interval – 1.9; 15.4).

The results obtained in our work are consistent with the literature data. In the vast majority of previously studied types of malignant neoplasms, *TP53* mutations were associated with the Arg allele. The p53 protein variant encoded by it is more effective in triggering programmed cell death than the Pro variant [18]. The more frequent detection of mutations in the Arg/Arg rs1042522 genotype, the more this combination is supposed to benefit cells at the stages of tumor progression, give a selective advantage, and increase the risk of malignant transformation of lymphocytes and development of lymphoma. Another explanation may be that the p53 homologs, p73 and p63 proteins rarely undergo mutations in human malignant neoplasms and can replace its function in p53-deficient cells, inducing apoptosis [45]. At the same time, the Arg variant of the mutant p53 protein is able to form stable complexes with p73, leading to the loss of the transcriptional activity of the p73 protein and elimination of its pro-apoptotic effect [9].

## CONCLUSION

The results of our comprehensive analysis indicate that at the time of diagnosis, up to a third of cases of DLBCL have somatic aberrations of the *TP53* gene (LH and/or mutations) in tumor tissue. However, taking into account the existing limitations of the work, it should be clarified that the frequency of their detection may increase with the expansion of the sample or the use of more sensitive methods for detecting mutations and allelic imbalance. A possible direction for further research may also be the analysis of the clinical significance of the combined detection of the homozygous Arg/Arg genotype G/G of the analyzed marker, and LH or/and somatic mutations in the *TP53* gene in the tumor tissue of patients with lymphoma.

**Research funding.** The work was carried out within the framework of the budget topic under the State Assignment No. AAAA-A17-117112850280-2.

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

шала таковую у носителей других генотипов ( $p < 0.001$ , ОШ – 5.4 и 95% ДДИ – 1.9; 15.4).

Полученные в нашей работе результаты согласуются с данными литературы. В подавляющей части исследованных ранее типов злокачественных новообразований мутации *TP53* были ассоциированы с Arg-аллелем. Кодированный им вариант белка p53 более эффективен в направлении запуска программированной клеточной смерти, в сравнении с Pro-вариантом [18]. Более частое обнаружение мутаций при генотипе Arg/Arg rs1042522 наводит на мысль о том, что такое сочетание выгодно клеткам на этапах опухолевой прогрессии, обладает селективным преимуществом и может увеличить риск злокачественной трансформации лимфоцитов и развития лимфомы. Другое объяснение может состоять в том, что гомологичные p53 белки p73 и p63 редко подвергаются мутациям при злокачественных новообразованиях человека и могут замещать в p53-дефицитных клетках его функцию, индуцируя апоптоз [45]. При этом Arg-вариант мутантного белка p53 способен образовывать стабильные комплексы с p73, что приводит к потере транскрипционной активности белка p73 и выключению его про-апоптотического эффекта [9].

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kwai H.Y., Hyewon L., Cheolwon S. Lymphoma epidemiology in Korea and the real clinical field including the Consortium for Improving Survival of Lymphoma (CISL) trial // *Int. J. Hematol.* 2018;107:395–404. DOI: 10.1007/s12185-018-2403-9.
2. Li M., Liu Y., Wang Y. et al. Anaplastic variant of diffuse large B-cell lymphoma displays intricate genetic alterations and distinct biological features // *Am. J. Surg. Pathol.* 2017;10:1322–1332. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000836.
3. Younes A., Thieblemont C., Morschhauser F. et al. Combination of ibrutinib with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (R-CHOP) for treatment-naïve patients with CD20-positive B-cell non-Hodgkin lymphoma: a non-randomised, phase 1b study // *Lancet Oncol.* 2014;15(9):1019–1026. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70311-0.
4. Zlamalikova L., Moulis M., Ravcukova B. et al. Complex analysis of the TP53 tumor suppressor in mantle cell and diffuse large B-cell lymphomas // *Oncol. Rep.* 2017;38(4):2535–2542. DOI: 10.3892/or.2017.5891.
5. Воропаева Е.Н., Поспелова Т.И., Воевода М.И. и др. Клинические аспекты нарушений в гене *TP53* при диффузной В-крупноклеточной лимфоме // *Вестник гематологии.* 2019;15(3):12–13.
6. Zenz T., Kreuz M., Fuge M. et al. *TP53* mutation and survival in aggressive B-cell lymphoma // *Int. J. Cancer.* 2017;141(7):1381–1388. DOI: 10.1002/ijc.30838.
7. Baugh E.H., Ke H., Levine A.J., Bonneau R.A., Chan C.S. Why are there hotspot mutations in the *TP53* gene

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного нами комплексного анализа свидетельствуют о том, что в момент диагностики лимфомы до трети случаев ДВККЛ в опухолевой ткани имеют соматические aberrации гена *TP53* (ПГ и/или мутации). Однако, с учетом имеющихся ограничений работы, следует уточнить, что частота их выявления может возрасти при расширении выборки биоматериала или применении более чувствительных методов детекции мутаций и аллельного дисбаланса. Возможным направлением дальнейших исследований также может быть анализ клинической значимости сочетанного выявления гомозиготного Arg/Arg генотипа G/G анализируемого маркера и ПГ и/или соматических мутаций в гене *TP53* в опухолевой ткани пациентов с лимфомой.

**Финансирование работы.** Работа выполнена в рамках бюджетной темы по Государственному заданию № АААА-А17-117112850280-2.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## REFERENCES

1. Kwai H.Y., Hyewon L., Cheolwon S. Lymphoma epidemiology in Korea and the real clinical field including the Consortium for Improving Survival of Lymphoma (CISL) trial. *Int. J. Hematol.* 2018;107:395–404. DOI: 10.1007/s12185-018-2403-9.
2. Li M., Liu Y., Wang Y. et al. Anaplastic variant of diffuse large B-cell lymphoma displays intricate genetic alterations and distinct biological features. *Am. J. Surg. Pathol.* 2017;10:1322–1332. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000836.
3. Younes A., Thieblemont C., Morschhauser F. et al. Combination of ibrutinib with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (R-CHOP) for treatment-naïve patients with CD20-positive B-cell non-Hodgkin lymphoma: a non-randomised, phase 1b study. *Lancet Oncol.* 2014;15(9):1019–1026. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70311-0.
4. Zlamalikova L., Moulis M., Ravcukova B. et al. Complex analysis of the TP53 tumor suppressor in mantle cell and diffuse large B-cell lymphomas. *Oncol. Rep.* 2017;38(4):2535–2542. DOI: 10.3892/or.2017.5891.
5. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I. et al. Clinical aspects of disorders in the TP53 gene in diffuse large B-cell lymphoma. *Bulletin of Hematology.* 2019;15(3):12–13. (In Russ).
6. Zenz T., Kreuz M., Fuge M. et al. *TP53* mutation and survival in aggressive B-cell lymphoma. *Int. J. Cancer.* 2017;141(7):1381–1388. DOI: 10.1002/ijc.30838.
7. Baugh E.H., Ke H., Levine A.J., Bonneau R.A., Chan C.S. Why are there hotspot mutations in the *TP53* gene

- in human cancers? // *Cell Death Differ.* 2018;25:154–160. DOI: 10.1038/cdd.2017.180.
8. Azzam G.A., Frank A.K., Hollstein M., Murphy M.E. Tissue-specific apoptotic effects of the p53 codon 72 polymorphism in a mouse model // *Cell Cycle.* 2011;10(9):1352–1355. DOI: 10.4161/cc.10.9.15344.
9. Marin M.C., Jost C.A., Brooks L.A. et al. A common polymorphism acts as an intragenic modifier of mutant p53 behaviour // *Nat. Genet.* 2000;25:47–54. DOI: 10.1038/75586.
10. Поспелова Т.И., Воевода М.И., Воропаева Е.Н. и др. Значение конституциональных полиморфизмов гена P53 у больных неходжкинскими злокачественными лимфомами // *Бюл. сибирской медицины.* 2008;7(S3):56–63.
11. Dumont P., Leu J., Della Pietra A., George D.L., Murphy M. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential // *Nat. Genet.* 2003;33(3):357–365. DOI: 10.1038/ng1093.
12. Schneider-Stock R., Mawrin C., Motsch C. et al. Retention of the arginine allele in codon 72 of the p53 gene correlates with poor apoptosis in head and neck cancer // *Am. J. Pathol.* 2004;164(4):1233–1241. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63211-7.
13. Siddique M.M., Balram C., Fiszler-Maliszewska L. et al. Evidence for selective expression of the p53 codon 72 polymorphs: implications in cancer development // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2005;14(9):2245–2252. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-05-0153.
14. Schneider-Stock R., Boltze C., Peters B. et al. Selective loss of codon 72 proline p53 and frequent mutational inactivation of the retained arginine allele in colorectal cancer // *Neoplasia.* 2004;6(5):529–535. DOI: 10.1593/neo.04178.
15. Furihata M., Takeuchi T., Matsumoto M. et al. p53 mutation arising in Arg72 allele in the tumorigenesis and development of carcinoma of the urinary tract // *Clin. Cancer Res.* 2002;8(5):1192–1195.
16. Tominaga T., Iwahashi M., Takifuji K. et al. Combination of p53 codon 72 polymorphism and inactive p53 mutation predicts chemosensitivity to 5-fluorouracil in colorectal cancer // *Int. J. Cancer.* 2010;126(7):1691–1701. DOI: 10.1002/ijc.24929.
17. Zawlik I., Kita D., Vaccarella S. et al. Common polymorphisms in the *MDM2* and *TP53* genes and the relationship between *TP53* mutations and patient outcomes in glioblastomas // *Brain Pathol.* 2009;19(2):188–194. DOI: 10.1111/j.1750-3639.2008.00170.x.
18. Bergamaschi D., Gasco M., Hiller L. et al. p53 polymorphism influences response in cancer chemotherapy via modulation of p73-dependent apoptosis // *Cancer Cell.* 2003;3(4):387–402. DOI: 10.1016/s1535-6108(03)00079-5.
19. Bonafé M., Ceccarelli C., Farabegoli F. et al. Retention of the p53 codon 72 arginine allele is associated with a reduction of disease-free and overall survival in arginine/proline heterozygous breast cancer patients // *Clin. Cancer Res.* 2003;9(13):4860–4864.
20. El Hallani S., Ducray F., Idbaih A. et al. TP53 codon 72 polymorphism is associated with age at onset of glioblastoma // *Neurology.* 2009;72(4):332–336. DOI: 10.1212/01.wnl.0000341277.74885.ec.
21. Zha Y., Gan P., Liu Q., Yao Q. TP53 codon 72 polymorphism predicts efficacy of paclitaxel plus capecitabine in human cancers? *Cell Death Differ.* 2018;25:154–160. DOI: 10.1038/cdd.2017.180.
8. Azzam G.A., Frank A.K., Hollstein M., Murphy M.E. Tissue-specific apoptotic effects of the p53 codon 72 polymorphism in a mouse model. *Cell Cycle.* 2011;10(9):1352–1355. DOI: 10.4161/cc.10.9.15344.
9. Marin M.C., Jost C.A., Brooks L.A. et al. A common polymorphism acts as an intragenic modifier of mutant p53 behaviour. *Nat. Genet.* 2000;25:47–54. DOI: 10.1038/75586.
10. Pospelova T.I., Voevoda M.I., Voropaeva E.P. et al. Value of constitutional polymorphisms gene P53 at patients with Non-Hodgkin's lymphomas. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2008;7(S3):56–63. (In Russ.)
11. Dumont P., Leu J., Della Pietra A., George D.L., Murphy M. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. *Nat. Genet.* 2003;33(3):357–365. DOI: 10.1038/ng1093.
12. Schneider-Stock R., Mawrin C., Motsch C. et al. Retention of the arginine allele in codon 72 of the p53 gene correlates with poor apoptosis in head and neck cancer. *Am. J. Pathol.* 2004;164(4):1233–1241. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63211-7.
13. Siddique M.M., Balram C., Fiszler-Maliszewska L. et al. Evidence for selective expression of the p53 codon 72 polymorphs: implications in cancer development. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2005;14(9):2245–2252. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-05-0153.
14. Schneider-Stock R., Boltze C., Peters B. et al. Selective loss of codon 72 proline p53 and frequent mutational inactivation of the retained arginine allele in colorectal cancer. *Neoplasia.* 2004;6(5):529–535. DOI: 10.1593/neo.04178.
15. Furihata M., Takeuchi T., Matsumoto M. et al. p53 mutation arising in Arg72 allele in the tumorigenesis and development of carcinoma of the urinary tract. *Clin. Cancer Res.* 2002;8(5):1192–1195.
16. Tominaga T., Iwahashi M., Takifuji K. et al. Combination of p53 codon 72 polymorphism and inactive p53 mutation predicts chemosensitivity to 5-fluorouracil in colorectal cancer. *Int. J. Cancer.* 2010;126(7):1691–1701. DOI: 10.1002/ijc.24929.
17. Zawlik I., Kita D., Vaccarella S. et al. Common polymorphisms in the *MDM2* and *TP53* genes and the relationship between *TP53* mutations and patient outcomes in glioblastomas. *Brain Pathol.* 2009;19(2):188–194. DOI: 10.1111/j.1750-3639.2008.00170.x.
18. Bergamaschi D., Gasco M., Hiller L. et al. p53 polymorphism influences response in cancer chemotherapy via modulation of p73-dependent apoptosis. *Cancer Cell.* 2003;3(4):387–402. DOI: 10.1016/s1535-6108(03)00079-5.
19. Bonafé M., Ceccarelli C., Farabegoli F. et al. Retention of the p53 codon 72 arginine allele is associated with a reduction of disease-free and overall survival in arginine/proline heterozygous breast cancer patients. *Clin. Cancer Res.* 2003;9(13):4860–4864.
20. El Hallani S., Ducray F., Idbaih A. et al. TP53 codon 72 polymorphism is associated with age at onset of glioblastoma. *Neurology.* 2009;72(4):332–336. DOI: 10.1212/01.wnl.0000341277.74885.ec.
21. Zha Y., Gan P., Liu Q., Yao Q. TP53 codon 72 polymorphism predicts efficacy of paclitaxel plus capecitabine chemotherapy in advanced gastric cancer patients.



- chemotherapy in advanced gastric cancer patients // Arch. Med. Res. 2016;47(1):13–18. DOI: 10.1016/j.arcmed.2015.12.001.
22. Воропаева Е.Н., Поспелова Т.И., Воевода М.И. Ассоциация полиморфизма Arg399Gln гена репарации ДНК XRCC1 с риском развития неходжкинских лимфом высокой степени злокачественности // Гематология и трансфузиология. 2013;58(1):10–14.
  23. Воропаева Е.Н., Поспелова Т.И., Воевода М.И., Максимов В.Н. Частоты, спектр и функциональная значимость мутаций в гене TP53 у больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой // Молекулярная биология. 2017;51(1):64–72.
  24. Adzhubei I., Schmidt S., Peshkin L. et al. A method and server for predicting damaging missense mutations // Nat. Methods. 2010;7(4):248–249. DOI: 10.1038/nmeth0410-248.
  25. 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.
  26. Воропаева Е.Н., Воевода М.И., Поспелова Т.И., Максимов В.Н. Интронные полиморфизмы антионкогена TP53 у пациентов старшей возрастной группы с индолентными вариантами неходжкинских злокачественных лимфом // Успехи геронтологии. 2013;26(2):258–262.
  27. Воропаева Е.Н., Поспелова Т.И., Воевода М.И. Ген TP53 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. Новосибирск: Наука, 2018. 164 с.
  28. IARC TP53 Database. URL: <http://p53.iarc.fr/ProtocolsAndTools.aspx> (дата обращения: 19.01.2022).
  29. 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.
  30. Shi H., Tan S., Zhong H. et al. Winter temperature and UV are tightly linked to genetic changes in the p53 tumor suppressor pathway in Eastern Asia // Am. J. Hum. Genet. 2009;84(4):534–541. DOI: 10.1016/j.ajhg.2009.03.009.
  31. Волков А.Н., Падюкова А.Д., Зинчук П.В., Кутихин А.Г. Полиморфизм гена опухолевого супрессора tp53 среди здоровых доноров и больных раком прямой кишки // Эксперимент. и клин. гастроэнтерология. 2019;2(162):45–49. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-162-2-45-49.
  32. Денисов Е.В. Мутационная изменчивость гена TP53 при раке молочной железы: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Омск, 2010. 22 с.
  33. Chen M., Yang Y., Liu Y., Chen C. The role of chromosome deletions in human cancers // Adv. Exp. Med. Biol. 2018;1044:135–148. DOI: 10.1007/978-981-13-0593-1\_9.
  34. Kyndi M., Alsner J., Hansen L., Sørensen F.B., Overgaard J. LOH rather than genotypes of TP53 codon 72 is associated with disease-free survival in primary breast Arch. Med. Res. 2016;47(1):13–18. DOI: 10.1016/j.arcmed.2015.12.001.
  22. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I. Association of DNA repair gene XRCC1 polymorphism ARG-399GLN with high-grade Non-Hodgkin's lymphoma risk. Russian Journal of Hematology and Transfusiology. 2013;58(1):10–14. (In Russ.)
  23. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I., Maksimov V.N. Frequency, spectrum and functional significance in the TP53 mutations in patients with diffuse large B-cell lymphoma. Molecular Biology. 2017;51(1):64–72. (In Russ.)
  24. Adzhubei I., Schmidt S., Peshkin L. et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. Nat. Methods. 2010;7(4):248–249. DOI: 10.1038/nmeth0410-248.
  25. 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 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.)
  26. Voropaeva E.P., Voevoda M.I., Pospelova T.I., Maksimov V.N. Intronic polymorphisms of antioncogene TP53 in patients with indolent variants of Non-Hodgkin's lymphomas. Advances in Gerontology. 2013;26(2):258–262. (In Russ.)
  27. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I. (2018). TP53 Gene in Diffuse Large B-cell lymphoma. Novosibirsk: Nauka. 164 p. (In Russ.)
  28. IARC TP53 Database. URL: <http://p53.iarc.fr/ProtocolsAndTools.aspx> (accessed 19.01.2022).
  29. Voropaeva E.N., Voevoda M.I., Pospelova T.I., Maksimov V.N. Linkage disequilibrium and haplotypes of the rs1042522, rs1625895, and rs1787862 of gene TP53 markers in patients with diffuse large B-cell lymphoma. Molecular Biology. 2014;48(5):763–770. DOI: 10.7868/S0026898414050176. (In Russ.)
  30. Shi H., Tan S., Zhong H. et al. Winter temperature and UV are tightly linked to genetic changes in the p53 tumor suppressor pathway in Eastern Asia. Am. J. Hum. Genet. 2009;84(4):534–541. DOI: 10.1016/j.ajhg.2009.03.009.
  31. Volkov A.N., Padukova A.D., Zinchuk P.V., Kutikhin A.G. Polymorphism of tumor suppressor gene tp53 among healthy donors and patients with rectal cancer. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2019;2(162):45–49. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-162-2-45-49. (In Russ.)
  32. Denisov E.V. Mutational variability of the TP53 gene in breast cancer. Cand Sci. (Biol.) Thesis. Omsk, 2010. 22 p. (In Russ.)
  33. Chen M., Yang Y., Liu Y., Chen C. The role of chromosome deletions in human cancers. Adv. Exp. Med. Biol. 2018;1044:135–148. DOI: 10.1007/978-981-13-0593-1\_9.
  34. Kyndi M., Alsner J., Hansen L., Sørensen F.B., Overgaard J. LOH rather than genotypes of TP53 codon 72 is associated with disease-free survival in primary breast cancer. Acta Oncologica. 2006;45(5):602–609. DOI: 10.1080/02841860600660811.
  35. Stefancikova L., Moulis M., Fabian P. et al. Loss of the p53 tumor suppressor activity is associated with nega-



- cancer // *Acta Oncologica*. 2006;45(5):602–609. DOI: 10.1080/02841860600660811.
35. Stefancikova L., Moulis M., Fabian P. et al. Loss of the p53 tumor suppressor activity is associated with negative prognosis of mantle cell lymphoma // *Int. J. Oncol.* 2010;36(3):699–706. DOI: 10.3892/ijo\_00000545.
  36. Tamimi Y., Al-Harthy S., Al-Haddabi I. et al. The p53 mutation/deletion profile in a small cohort of the Omani population with diffuse large B-cell lymphoma // *Sultan Qaboos Univ. Med. J.* 2014;14(1):e50–e58. DOI: 10.12816/0003336.
  37. Нугис В.Ю. FISH-метод: способ цитогенетической ретроспективной оценки дозы (обзор) // Саратовский науч.-мед. журн. 2016;12(2):35.
  38. 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;13:35–44. DOI: 10.1186/s12920-019-0484-9.
  39. Walsh T., Lee M.K., Casadei S. et al. Detection of inherited mutations for breast and ovarian cancer using genomic capture and massively parallel sequencing // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2010;107(28):12629–12633. DOI: 10.1073/pnas.1007983107.
  40. Gyulkhandanyan A., Rezaie A.R., Roumenina L. et al. Analysis of protein missense alterations by combining sequence- and structure-based methods // *Mol. Genet. Genomic Med.* 2020;8(4):e1166–e1171. DOI: 10.1002/mgg3.1166.
  41. Sauna Z.E., Kimchi-Sarfaty C. Understanding the contribution of synonymous mutations to human disease // *Nat. Rev. Genet.* 2011;12(10):683–691. DOI: 10.1038/nrg3051.
  42. Le Calvez F., Mukeria A., Hunt J.D. et al. *TP53* and *KRAS* mutation load and types in lung cancers in relation to tobacco smoke: distinct patterns in never, former, and current smokers. *Cancer Res.* 2005;65(12):5076–5083. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0551.
  43. Li S., Young K.H., Medeiros L.J. Diffuse large B-cell lymphoma // *Pathology*. 2018;50(1):74–87. DOI: 10.1016/j.pathol.2017.09.006.
  44. Weige C.C., Birtwistle M.R., Mallick H. et al. Transcripts and shRNA suppressors in a *TP53* allele-specific model of early-onset colon cancer in African Americans // *Mol. Cancer Res.* 2014;12(7):1029–1041. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-13-0286-T.
  45. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  46. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  47. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  48. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  49. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  50. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  51. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  52. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  53. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  54. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  55. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  56. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  57. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  58. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  59. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  60. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  61. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  62. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  63. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  64. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  65. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  66. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  67. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  68. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  69. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  70. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  71. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  72. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  73. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  74. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  75. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  76. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  77. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  78. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  79. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  80. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  81. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  82. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  83. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  84. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  85. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  86. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  87. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  88. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  89. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  90. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  91. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  92. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  93. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  94. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  95. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  96. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  97. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  98. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  99. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.
  100. Jeong B.S., Hu W., Belyi V., Rabadan R., Levine A.J. Differential levels of transcription of p53-regulated genes by the arginine/proline polymorphism: p53 with arginine at codon 72 favors apoptosis // *FASEB J.* 2010;24(5):1347–1353. DOI: 10.1096/fj.09-146001.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Воропаева Елена Николаевна** – д-р мед наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-7542-7285.

**Чуркина Мария Игоревна** – аспирант кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицин-

**Elena N. Voropaeva** – Dr. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetic Studies of Therapeutic Diseases, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-7542-7285.

**Maria I. Churkina** – Postgraduate Student, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1301-5944.

**Ksenia A. Bashirzade** – Resident, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-2211-5098.

ский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-1301-5944.

**Баширзаде Ксения Александровна** – ординатор ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-2211-5098.

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

**Агеева Татьяна Августовна** – д-р мед. наук, профессор кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-7933-8394.

**Максимов Владимир Николаевич** – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-7165-4496.

**Tatyana I. Pospelova** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Vice-Rector for Research, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1261-5470.

**Tatyana A. Ageeva** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Pathological Anatomy, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-7933-8394.

**Vladimir N. Maksimov** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Laboratory of Molecular Genetic Studies of Therapeutic Diseases, Research Institute of Therapy and Preventive Medicine, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-7165-4496.

