

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МУТАЦИОННОГО СТАТУСА ГЕНА *TP53* ПРИ ДИФФУЗНОЙ В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЕ

Елена Николаевна ВОРОПАЕВА¹, Татьяна Ивановна ПОСПЕЛОВА²,
Михаил Иванович ВОЕВОДА¹, Владимир Николаевич МАКСИМОВ¹

¹ *НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН*
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

² *Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России*
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

Цель исследования – выявить клиническое значение мутационного статуса гена *TP53* в группе больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой (ДВККЛ) г. Новосибирска, получающих терапию с включением ритуксимаба. **Материал и методы.** Обследовано 74 пациента с ДВККЛ, госпитализировавшихся в Городской гематологический центр г. Новосибирска за период 2012–2015 гг. и получавших терапию с включением ритуксимаба. Методом прямого капиллярного секвенирования по Сэнгеру определена нуклеотидная последовательность кодирующей области гена *TP53* (экзоны 5–10) и примыкающих участков интронов. Проведен функциональный анализ выявленных мутаций, оценены непосредственные и отдаленные результаты терапии больных. **Результаты и их обсуждение.** В ходе работы впервые на российской выборке пациентов с ДВККЛ продемонстрировано, что мутационный статус *TP53* ассоциирован как с большей частотой выявления симптомов опухолевой интоксикации, спленомегалии, лейкемизации лимфомы, так и с неблагоприятными прогностическими группами согласно Международному прогностическому индексу лимфом. Выявлена тенденция к большей частоте достижения в ходе терапии полной клинико-гематологической ремиссии в подгруппе пациентов с ДВККЛ, имеющих каноническую последовательность гена или мутации в *TP53* с недоказанным онкогенным потенциалом. Больные с функционально значимыми мутациями *TP53* имели более низкие показатели общей выживаемости. **Заключение.** Следует надеяться, что терапевтические подходы, направленные на инактивированный путь *TP53*, могут дополнительно улучшить клинические исходы при ДВККЛ.

Ключевые слова: ген *TP53*, мутации, диффузная В-крупноклеточная лимфома, ритуксимаб, прогноз, таргетная терапия.

Среди широкого многообразия вариантов неходжкинских лимфом около трети случаев заболевания у взрослых составляет диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ), до 25–30 % в развитых и 30–40 % в развивающихся странах, что делает этот вариант одним из самых частых [16]. ДВККЛ относится к агрессивным вариантам лимфом со средней продолжительностью жизни пациентов без лечения менее 1 года, но является потенциально курабельным при применении антрациклин-содержащей химиотерапии заболеванием [7]. Добавление ритуксимаба к программе СНОР (циклофосфан, доксорубицин,

винкристин, преднизолон) привело к значительному увеличению прироста выживаемости пациентов и сделало протокол R-СНОР современным «золотым стандартом» терапии ДВККЛ первой линии [2]. Однако в настоящее время, при условии применения комбинированной химиоиммунотерапии, могут быть излечены лишь чуть более 60 % больных ДВККЛ [17]. В этой связи несомненный научный и практический интерес вызывает вопрос прогноза течения заболевания.

Ген *TP53* (ОМIM No. 191117), расположенный на хромосоме 17p13.1, является одним из наиболее изученных генов-супрессоров опухо-

Воропаева Е.Н. – д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, e-mail: vena.81@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7542-7285>

Поспелова Т.И. – д.м.н., проф., зав. кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ, e-mail: post_gem@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1261-5470>

Воевода М.И. – д.м.н., проф., академик РАН, директор, e-mail: office@iimed.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9425-413X>

Максимов В.Н. – д.м.н., проф., зав. лабораторией молекулярно-генетических методов исследования терапевтических заболеваний, e-mail: medik11@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7165-4496>

левого роста. Он играет ключевую роль в контроле клеточного цикла, репарации ДНК, запуска апоптоза, механизмов старения и аутофагии [20]. Частота инактивации *TP53* посредством соматических мутаций при лимфомах ниже, чем при солидных новообразованиях. Вместе с тем исследования показали сильную корреляцию между мутантным статусом *TP53* и ухудшением выживаемости пациентов, большей скоростью прогрессирования и устойчивостью лимфом к химиотерапии [8], при этом предшествующая неэффективная терапия лимфом строго ассоциирована с наличием мутаций *TP53* и ответственна за развитие резистентности к терапии второй линии [15]. Частота аномалий *TP53* при ДВККЛ выше, чем при неходжкинских лимфомах низкой степени злокачественности, и достигает 20–25 % [19]. Согласно данным ретроспективных клинических исследований, мутации в гене *TP53* являются независимым прогностическим фактором плохой выживаемости больных ДВККЛ, получавших терапию по протоколам, не включающим ритуксимаб [10].

После добавления к терапии ДВККЛ ритуксимаба и значительного улучшения выживаемости пациентов с данным заболеванием требовалась переоценка влияния мутационного статуса гена *TP53* на клинический исход заболевания. В относительно небольшом числе исследований показано, что существующие программы лечения ДВККЛ, включая таргетную терапию с применением моноклональных антител, не в состоянии преодолеть негативное прогностическое значение мутаций в гене *TP53* [14, 16]. В частности, в наиболее крупном исследовании International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study выявлено доминирующее негативное влияние мутаций *TP53* на общую и бессобытийную выживаемость пациентов [9].

Открытия в области изучения ДВККЛ происходят быстрыми темпами, что дает надежду на улучшение подходов к стратификации пациентов с ДВККЛ на прогностические группы с использованием молекулярных предикторов и разработку новых рациональных методов таргетной терапии [8]. В современной онкогематологии существуют примеры того, как детальное понимание генетических изменений, возникающих в конкретном типе опухоли, могут повлиять на разработку точечной терапии заболевания.

Путь патогенеза ДВККЛ, завязанный на *TP53*, может иметь большой потенциал в разработке новых методов лечения этого одного из самых частых и агрессивных вариантов неходжкинских лимфом, основанных на реактивации *p53* или

шунтирующих механизмов программированной клеточной смерти [11]. В настоящее время в онкологии уже применяется ряд инновационных стратегий целенаправленной терапии с использованием мутантного *TP53* в качестве мишени, которые имеют потенциальную терапевтическую ценность при ДВККЛ [4].

Целью данного исследования было выявить клиническое значение мутационного статуса гена *TP53* в группе больных ДВККЛ г. Новосибирска, получающих терапию с включением ритуксимаба.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В группу исследования вошли 74 пациента (35 мужчин и 39 женщин) в возрасте от 21 до 78 лет (средний возраст $52,8 \pm 14,3$ года), госпитализированных в Городской гематологический центр г. Новосибирска за период с 2012 по 2015 г. Клиническая характеристика больных представлена в табл. 1. Все пациенты получили 6–8 курсов полихимиотерапии по протоколам с включением ритуксимаба. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом. Все больные подписали информированное согласие на включение в исследование.

Геномную ДНК выделяли из парафиновых блоков биоптатов опухолевых лимфоузлов и экстранодальных очагов поражения методом фенольно-хлороформной экстракции с применением гуанидина. Использовали срезы ткани, содержащие не менее 80–90 % опухолевых клеток. Методом прямого капиллярного секвенирования по Сэнгеру определена нуклеотидная последовательность кодирующей области гена *TP53* (экзоны 5–10) и примыкающих участков интронов, согласно протоколу IARC. Результаты секвенирования и выравнивание фрагментов анализировали с помощью программ Chromas, SeqScape v.2.7, Sequence Scanner. В качестве референсной использовали последовательность гена *TP53* NG_017013.

Анализировали частоту встречаемости выявленных мутаций в специализированных базах данных IARC *TP53* mutation Database, The UMD *TP53* mutation database, Human Gene Mutation Database, dbSNP и Human Gene Mutation Database (HGMD). Теоретическое прогнозирование возможных последствий обнаруженных мутаций проводилось с применением программ PolyPhen2, SIFT, Mut_ass и NetGene2.

При сравнении наблюдаемых и ожидаемых частот использовали точный критерий Фишера. Для оценки ассоциации между изучаемыми генетическими маркерами и риском развития события рассчитывали отношение шансов (ОШ) с 95%-м доверительным интервалом (ДИ). Эффект

Таблица 1

Клиническая характеристика больных ДВККЛ

Параметр	Вся группа (n = 74)	TP53mut (n = 12)	TP53wt (n = 62)	p
Средний возраст, лет	52,8 ± 14,3	50,3 ± 10,6	58,6 ± 18,5	0,347
Пол:				0,403
мужской	35	7	28	
женский	39	5	34	
Симптомы опухолевой интоксикации:				0,016
нет	36	2	34	
есть	38	10	28	
Общесоматический статус ECOG:				0,352
0–1	57	8	49	
2–3	17	4	13	
Стадия:				0,264
I–II	7	0	7	
III–IV	67	12	55	
Экстранодальные поражения:				0,074
нет	42	4	38	
есть	32	8	24	
Спленомегалия:				0,044
нет	59	7	52	
есть	15	5	10	
Поражение костного мозга:				0,028
нет	51	4	47	
есть	23	8	15	
Уровень ЛДГ:				0,296
норма	41	5	36	
повышен	33	7	26	
МПИ:				0,018
0–2	21	0	21	
3–5	53	12	41	
Полная ремиссия	58	7	51	0,066

Примечание. p – вероятность различия между подгруппами TP53mut и TP53wt, ЛДГ – лактатдегидрогеназа.

противоопухолевой терапии оценивали по критериям «частота ремиссий» и «5-летняя общая выживаемость» (ОВ). Выполняли анализ цензурированных данных с использованием функции вероятности выживания Каплана – Майера. Дополнительно определяли медиану выживаемости. Для сравнения кривых выживаемости и скорости ответа использовали непараметрический логранговый критерий. Для прогнозирования риска наступления события и оценки влияния независимых предикторов на этот риск применяли модель пропорциональных рисков регрессии Кокса с определением 95%-го ДИ. Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В опухолевом материале от 74 больных ДВККЛ в гене TP53 выявлены 33 мутации: 21 – в кодирующей области и 12 – в интронных участках. К нарушению сплайсинга мРНК и к сдвигу рамки считывания приводили по одной мутации (3 %), 11 (33 %) были интронными мутациями, 12 (37 %) – миссенс-мутациями, шесть (18 %) – синонимичными, две (6 %) – нонсенс-мутациями. У четырех больных (6,8 %) обнаружены множественные мутации (табл. 2). Подробная характеристика мутаций описана нами в предыдущих публикациях [1, 18]. Согласно данным анализа, функционально значимыми мутациями TP53,

Таблица 2

Выявленные мутации в гене TP53

Номер случая	Мутация	Характеристика
1	p.L130F	ФЗ
	p.R156C	НФ
2	p.W146R	НФ
3	p.W146R	НФ
4	p.T155I	ФЗ
	p.A189Pfs	ФЗ
	IVS5+43G>T	ФЗ
	IVS4-30T>C	НД
5	p.T155I	ФЗ
6	p.A307A	ФЗ
	p.V157V	НД
	IVS4-30T>C	НД
	IVS8+20A>G	НД
7	p.H179H	НД
8	p.R196Q	ФЗ
9	p.R213X	ФЗ
10	p.R213X	ФЗ
11	p.G244S	ФЗ
12	p.L252L	НД
	IVS6-36G>C	ФЗ
13	p.V272E	ФЗ
14	p.V272E	ФЗ
15	p.V272V	НД
16	p.A276V	ФЗ
17	p.G293R	НФ
18	p.G302G	НД
	IVS8+10C>A	НД
19	IVS5-17T>C	НД
	IVS7+31G>C	НД
20	IVS8+37A>G	НД
21	IVS9+12T>C	НД
22	IVS9+12T>C	НД
23	IVS8+10C>A	НД
24	IVS7+31G>C	НД

Примечание. ФЗ – мутации с доказанным патогенным эффектом; НФ – мутации, не приводящие к потере функции белка p53; НД – мутации, функциональный эффект которых в настоящее время невозможно оценить.

выявленными в группе обследования, являются следующие: p.R213X и p.A189Pfs, приводящие к синтезу укороченного варианта белка p53; IVS6-36G>C, IVS5+43G>T и p.A307A, приводящие к нарушению сплайсинга; мутации p.L130F, p.T155I, p.R196Q, p.G244S, p.V272E и p.A276V,

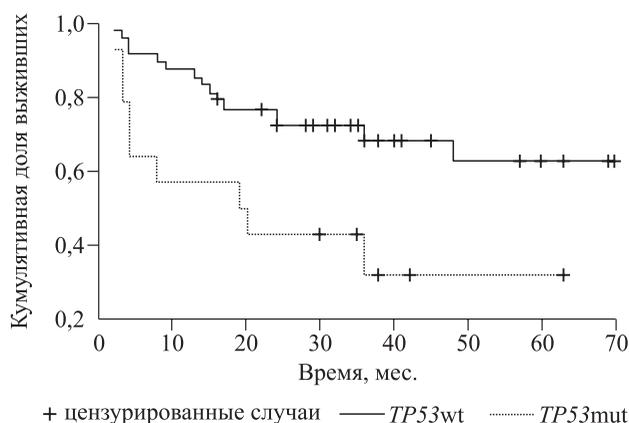


Рис. Общая выживаемость больных ДВККЛ с наличием и отсутствием функционально значимых мутаций в гене TP53

характеризующиеся утратой p53 антионкогенных свойств (см. табл. 2). В данной статье мы остановимся на анализе клинической значимости именно этих изменений.

Группа обследования была разделена на две подгруппы: с наличием функционально значимых мутаций в гене TP53 и без них (соответственно TP53mut и TP53wt). Подгруппу TP53mut составили 12 пациентов (см. табл. 2). Наличие функционально значимых мутаций коррелировало с большей частотой регистрации симптомов опухолевой интоксикации, спленомегалии, вовлечения в опухолевый процесс костного мозга, а также высоким (>2) Международным прогностическим индексом лимфом (МПИ) (см. табл. 1). Анализ непосредственных результатов терапии выявил, что пациенты подгруппы TP53mut имели тенденцию к меньшей частоте достижения полной ремиссии, чем больные без функционально значимых мутаций в гене TP53 (соответственно 58,3 и 79,7 %; $p = 0,066$); пятилетняя ОВ составила соответственно 41,7 % с медианой выживаемости 20 месяцев и 69,4 % (медиана выживаемости не достигнута), $p = 0,026$ (рисунок).

Однофакторный анализ показал, что наличие экстранодальных очагов поражения, МПИ > 2 и выявление функционально значимых мутаций в гене TP53 в опухолевой ткани ДВККЛ являются предикторами ухудшения ОВ пациентов (табл. 3). В ходе многофакторного анализа установлено, что только МПИ независимо от других факторов предсказывал ухудшение ОВ пациентов с ДВККЛ, получающих терапию по протоколам с включением ритуксимаба. Так, больные с МПИ > 2 имели в 3 раза больший риск не дожить до 5-летнего рубежа ОВ ($p = 0,005$), чем пациенты с МПИ ≤ 2 (см. табл. 3).

Таблица 3

Однофакторный и многофакторный анализ предикторов общей выживаемости больных с ДВККЛ

Параметр	ОШ	95%-й ДИ	<i>p</i>
Однофакторный анализ			
Наличие симптомов опухолевой интоксикации	2,401	0,530–0,876	0,256
Общесоматический статус ECOG 2–3	1,938	0,905–4,149	0,088
Стадии III–IV	2,025	0,576–7,116	0,271
Наличие экстранодалных поражений	3,233	1,140–9,951	0,029
Поражение костного мозга	1,539	0,501–4,722	0,451
Повышение уровня ЛДГ	1,073	0,900–9,438	0,068
МПИ > 2	2,844	1,384–5,842	0,004
Наличие функционально значимых мутаций в гене TP53	2,707	1,077–6,800	0,034
Многофакторный анализ			
МПИ > 2	2,994	1,405–6,381	0,005
Наличие функционально значимых мутаций в гене TP53	2,128	0,627–7,217	0,226
Наличие экстранодалных поражений	2,405	0,787–7,369	0,125

ОБСУЖДЕНИЕ

Мутации в TP53 фиксируются примерно в половине всех случаев злокачественных новообразований [9]. Подавляющее большинство работ, изучающих изменения в нуклеотидной последовательности TP53, были сосредоточены на анализе 5–8 экзонов гена, кодирующих ДНК-связывающий домен p53 [5]. Некодирующие последовательности, которые потенциально могут влиять не только на сплайсинг м-РНК, но и на экспрессию гена, нарушая авторегуляцию процессинга, нормальное прохождение посттранскрипционных модификаций м-РНК и посттрансляционных изменений белка, оставались за пределами внимания исследователей [5, 6].

В рамках данной работы в опухолевом материале от 74 больных ДВККЛ в гене TP53 выявлены 33 мутации: 21 – в кодирующей области и 12 – в интронных участках. Поскольку часть из данных мутаций являются причинными для развития и прогрессии ДВККЛ и могут быть обозначены как «драйверные», а часть не оказывают влияния на возникновение и рост опухоли, т.е. являются «мутациями-пассажирами» [5, 6], требовался анализ функциональной значимости каждой из выявленных в группе обследования aberrаций.

На сегодняшний день описано около 20 000 типов мутаций в кодирующей последовательности 5–8 экзонов TP53, которые обеспечивают ту или иную степень подавления его функции и подвергаются селекции в клетках опухолей [3]. Объединение функционального биоинформационного анализа с определением частоты каждой мутации в базах данных приводит к поразительному выводу о четкой обратной корреляции между частотой

конкретной мутации TP53 и активностью ее белкового продукта: частые мутанты TP53 всегда неактивны, тогда как продукты мутаций с единичной регистрацией в базе имеют активность более 50 % по сравнению с белком p53 дикого типа [13].

Подробно результаты такого комплексного анализа мутаций TP53, выявленных в группе исследования, описаны нами в предыдущих публикациях [1, 18]. В целом показано, что из выявленных aberrаций функционально значимы 11 типов мутаций: p.R213X и p.A189Pfs, приводящие к синтезу укороченного варианта белка p53; IVS6-36G>C, IVS5+43G>T и p.A307A, приводящие к нарушению сплайсинга; p.L130F, p.T155I, p.R196Q, p.G244S, p.V272E и p.A276V, характеризующиеся утратой p53 антионкогенных свойств. Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о необходимости анализа всех выявленных в ходе секвенирования изменений, поскольку на этапах опухолевой прогрессии ДВККЛ может происходить функциональная селекция изменений не только в 5–8 экзонах, но и в интронах гена TP53.

Целью данного исследования было выявить клиническое значение мутационного статуса гена TP53 в группе больных ДВККЛ г. Новосибирска, получающих терапию с включением ритуксимаба. В ходе работы впервые на российской выборке пациентов с ДВККЛ продемонстрировано, что мутационный статус TP53 ассоциирован как с большей частотой выявления В-симптомов, спленомегалии, лейкомизации лимфомы, так и с неблагоприятными прогностическими группами согласно МПИ. Более того, обнаружена тенденция к большей частоте достижения в ходе терапии полной клинико-гематологической ремиссии

в подгруппе пациентов с ДВККЛ, имеющих каноническую последовательность гена или мутации в TP53 с недоказанным онкогенным потенциалом ($p = 0,066$). Полученные результаты свидетельствуют о более агрессивном течении заболевания и большем объеме опухолевого поражения у больных ДВККЛ с функционально значимыми мутациями TP53, чем у пациентов без данных молекулярно-генетических aberrаций.

На следующем этапе работ выполнялся анализ отдаленных результатов лечения больных лимфомой. Известно, что, несмотря на присоединение к стандартным протоколам терапии ДВККЛ ритуксимаба, таргетного препарата моноклонального антитела к CD20, мутации TP53 являются независимым прогностическим фактором выживаемости больных [21]. Согласно полученным нами данным, пациенты подгруппы TP53wt также имели значимо лучше общую выживаемость ($p = 0,026$) в сравнении с больными подгруппы TP53mut, что согласуется с опубликованным ранее исследованием [19].

Однофакторный анализ методом регрессии Кокса показал, что наряду с наличием экстранодальных очагов опухолевого поражения и МПИ > 2 мутантный статус TP53 является независимым предиктором ухудшения общей выживаемости больных ДВККЛ в условиях терапии схемами, содержащими ритуксимаб. Однако в многофакторной модели значимое влияние на показатели общей выживаемости оказывал только МПИ > 2, что может быть связано с относительно небольшой группой исследования и малым числом наблюдений в анализируемой нами выборке функционально значимых мутаций TP53.

Важность изучения конкретных механизмов инактивации гена TP53 при ДВККЛ, ставших объектом данного исследования, трудно переоценить. Представляется, что знания о конкретных типах мутаций в каждом отдельном случае заболевания имеют прямой выход в персонализированную терапию ДВККЛ. Функциональная значимость мутаций в гене TP53, выявленных в рамках данного исследования в опухолевой ткани больных ДВККЛ, делает их потенциальной терапевтической мишенью, тем более что в настоящее время уже разработан ряд инновационных стратегий, которые имеют потенциальную терапевтическую ценность при лимфопролиферативных новообразованиях [4]. Так, мутация p.R213X, выявленная в анализируемой выборке больных ДВККЛ, является наиболее распространенной нонсенс-мутацией в гене TP53 и встречается чаще, чем любые другие миссенс-мутации при опухолях человека. Интересно, что аминокислоты, например гентамицин и G418, индуциру-

ют сквозное «чтение» в точке мутации p.R213X и приводят к экспрессии полноразмерного белка p53 [22]. Также существует несколько экспериментальных молекул, нацеленных на широкий спектр мутантов p53 (PRIMA-1, RITA, ScFv), и соединений, которые специально направлены на восстановление структуры p53 дикого типа при конкретной миссенс-мутации (например, молекула Phikan059, нацеленная на pR220C) [12]. Созданы белки, специфически взаимодействующие с несколькими типами мутантного p53 и блокирующие приобретенные им проонкогенные трансактивационные свойства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящем исследовании мы определили спектр функционально значимых мутаций TP53 в российской когорте пациентов с ДВККЛ, которые получали лечение с включением ритуксимаба, и подтвердили, что мутационный статус TP53 является ценным прогностическим биомаркером. Полученные данные являются еще одним подтверждением критически важной роли нарушений функций p53 в опухолевой прогрессии и чувствительности к терапии опухолей, в том числе ДВККЛ. По этой причине следует надеяться, что терапевтические подходы, направленные на инактивированный путь TP53, могут дополнительно улучшить клинические исходы при ДВККЛ.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках бюджетной темы по Государственному заданию № 0324-2018-0002.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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 // Мед. генетика. 2016. 15. (4). 17–20.
2. Поддубная И.В. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний. М.: Медиа Медика, 2013. 104 с.
3. Caminsky N., Mucaki E.J., Rogan P.K. Interpretation of mRNA splicing mutations in genetic disease: review of the literature and guidelines for information-theoretical analysis // F1000Res. 2014. 3. 282.

4. Cheung K.-J.J., Horsman D.E., Gascoyne R.D. The significance of TP53 in lymphoid malignancies: mutation prevalence, regulation, prognostic impact and potential as a therapeutic target // Br. J. Haematol. 2009. 146. 257–269.
5. Diederichs S., Bartsch L., Berkmann J.C., Fröse K., Heitmann J., Hoppe C. The dark matter of the cancer genome: aberrations in regulatory elements, untranslated regions, splice sites, non-coding RNA and synonymous mutations // EMBO Mol. Med. 2016. 8. (5). 442–457.
6. Enomoto Y., Kitaura J., Hatakeyama K., Watanuki J., Akasaka T., Kato N. Emu/miR-125b transgenic mice develop lethal B-cell malignancies // Leukemia. 2011. 25. (12). 1849–1856.
7. Flowers C.R., Sinha R., Vose J.M. Improving outcomes for patients with diffuse large B-cell lymphoma // Cancer J. Clin. 2010. 60. 393–408.
8. Krug U., Ganser A., Koeffler H.P. Tumour suppressor genes in normal and malignant hematopoiesis // Oncogene. 2002. 21. 3475–3495.
9. Leroy B., Fournier J.L., Ishioka C., Monti P., Inga A., Fronza G. The TP53 website: an integrative resource centre for the TP53 mutation database and TP53 mutant analysis // Nucl. Acids Res. 2013. 41. D962–D969.
10. Liu Y.Y. PTEN tumor suppressor plays less prognostic role than p53 tumor suppressor in diffuse large B-cell lymphoma // Leuk. Lymph. 2010. 51. (9). 1692–1698.
11. Miyazaki K. Diffuse large B-cell lymphoma: therapeutic development based on clinical and biological heterogeneity // Rinsho Ketsueki. 2015. 56. (10). 2047–2055.
12. Olivier M., Hollstein M., Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use // Spring Harb. Perspect. Biol. 2010. 2. a001008.
13. Soussi T., Kato S., Levy P.P., Ishioka C. Reassessment of the TP53 mutation database in human disease by data mining with a library of TP53 missense mutation // Hum. Mutat. 2005. 25. 6–17.
14. Stefancikova L. Prognostic impact of p53 aberrations for R-CHOP-treated patients with diffuse large B-cell lymphoma // Int. J. Oncol. 2011. 39. 1413–1420.
15. Sturm I. Mutation of p53 and consecutive selective drug resistance in B-CLL occurs as a consequence of prior DNA-damaging chemotherapy // Cell Death Differ. 2003. 10. (4). 477–484.
16. Tamimi Y. 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). 50–58.
17. Van de Schans S.A. Improving relative survival, but large remaining differences in survival for non-Hodgkin's lymphoma across Europe and the United States from 1990 to 2004 // J. Clin. Oncol. 2011. 29. (2). 192–199.
18. 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. (Mosc.). 2017. 51. (1). 53–60.
19. Xu-Monette Z.Y. Mutational profile and prognostic significance of TP53 in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP: report from an International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study // Blood. 2012. 120. 3986–3996.
20. Xu-Monette Z.Y., Medeiros L.J., Li Y., Orłowski R.Z., Andreeff M., Bueso-Ramos C.E. Dysfunction of the TP53 tumor suppressor gene in lymphoid malignancies // Blood. 2012. 119. (16). 3668–3683.
21. Young K.H., Leroy K., Møller M.B., Colleoni G.W., Sánchez-Beato M., Kerbauy F.R., Haioun C. Structural profiles of TP53 gene mutations predict clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma: an international collaborative study // Blood. 2008. 112. (8). 3088–98.
22. Zhang M., Heldin A., Palomar-Siles M., Öhlin S., Bykov V.J.N., Wiman K.G. Synergistic rescue of nonsense mutant tumor suppressor p53 by combination treatment with aminoglycosides and Mdm2 inhibitors // Front. Oncol. 2018. 7. 323.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF THE TP53 MUTATION STATUS IN DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA

**Elena Nikolaevna VOROPAeva¹, Tatyana Ivanovna POSPELOVA²,
Mikhail Ivanovich VOEVODA¹, Vladimir Nikolaevich MAKSIMOV¹**

¹ *Research Institute of Internal and Preventive Medicine –
Branch of Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

² *State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52*

Objective: to reveal the clinical significance of the mutation status of the *TP53* gene in the group of receiving rituximab therapy patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) in Novosibirsk. **Material and methods.** A total of 74 patients with DLBCL, who have been hospitalized at the City Hematology Center in Novosibirsk for the period 2012–2015, were examined. All patients received therapy with rituximab. The nucleotide sequence of the coding region of the *TP53* gene (exons 5–10) and adjacent regions of introns was analyzed by the Sanger direct capillary sequencing. Functional analysis of the revealed mutations was carried out. The results of the patients' therapy were evaluated. **Results and discussion.** For the first time, it has been revealed in the course of the study of Russian patients with DLBCL setting that *TP53* mutation status is associated with the greater incidence of B-symptoms, splenomegaly, leukemia of the lymphoma, and poor prognostic groups according to the International Prognostic Index. A tendency toward a greater frequency of achieving complete clinical and hematologic remission during the therapy was revealed in the subgroup of patients with DLBCL having a canonical sequence of a gene or a mutation in *TP53* with an unproven oncogenic potential. Patients with functionally significant *TP53* mutations had a lower overall survival rates. **Conclusion.** For this reason, hopefully therapeutic approaches aimed at the inactivated pathway of *TP53* can further improve clinical outcomes in DLBCL.

Key words: gene *TP53*, mutations, diffuse large B-cell lymphoma, rituximab, prognosis, target therapy.

Voropaeva E.N. – doctor of medical sciences, senior researcher of laboratory of molecular genetic studies of therapeutic diseases, e-mail: vena.81@mail.ru.

Pospelova T.I. – doctor of medical sciences, professor, vice rector on scientific work, head of the department of therapy, hematology and transfusiology, e-mail: post_gem@mail.ru

Voevoda M.I. – doctor of medical sciences, professor, academician of RAS, director, e-mail: office@iimed.ru

Maksimov V.N. – doctor of medical sciences, professor, head of laboratory of molecular genetic studies of therapeutic diseases, e-mail: medik11@mail.ru