

Для цитирования: Воропаева Е.Н., Воевода М.И., Поспелова Т.И., Максимов В.Н. Случаи диффузной В-крупноклеточной лимфомы с функционально значимыми интронными мутациями в гене *TP53*. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(1): 134–140. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-1-134-140.

For citation: Voropaeva E.N., Voevoda M.I., Pospelova T.I., Maximov V.N. Cases of diffuse large B-cell lymphoma with functional intron mutations in the *TP53* gene. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(1): 134–140. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-1-134-140.

СЛУЧАИ ДИФFUЗНОЙ В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЫ С ФУНКЦИОНАЛЬНО ЗНАЧИМЫМИ ИНТРОННЫМИ МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ *TP53*

Е.Н. Воропаева¹, М.И. Воевода¹, Т.И. Поспелова², В.Н. Максимов¹

Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия¹

Россия, г. Новосибирск, 630089, ул. Б. Богаткова, 175/1. E-mail: vena.81@mail.ru¹

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Новосибирск, Россия²

Россия, г. Новосибирск, 630091, Красный проспект, 52²

Аннотация

Актуальность. Наличие в гене *TP53* функционально значимых интронных изменений было продемонстрировано в экспериментах *in vitro* и на выборках больных отдельными вариантами неходжкинских лимфом. До настоящего времени при изучении *TP53* в опухолевой ткани больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой (ДВККЛ) исследования были сосредоточены на поиске мутаций в 5–8 экзонах гена. По этим причинам требуются дальнейшие исследования спектра изменений в интронных последовательностях гена *TP53* и определение их функционального эффекта при ДВККЛ. **Описание.** В статье представлены два клинических наблюдения, которые представляют интерес как впервые публикуемые в российской научной литературе случаи выявления функционально значимых интронных мутаций *TP53* в опухолевой ткани ДВККЛ. Первый клинический случай ДВККЛ характеризовался экстранодальным опухолевым поражением в дебюте заболевания, выраженными симптомами опухолевой интоксикации, высокой параклинической активностью опухоли, развитием раннего рецидива гемобластоза с экстранодальным очагом поражения в забарьерной ткани, резистентным к лечению. Второй описанный клинический случай ДВККЛ характеризовался исходно массивным опухолевым поражением, быстро прогрессирующим течением заболевания, выраженными симптомами опухолевой интоксикации, высокой параклинической активностью опухоли и плохим ответом на терапию с последующей генерализацией лимфомы. **Заключение.** Мутации в гене *TP53* являются драйвером опухолевого процесса, служат не только маркером агрессивного течения опухоли, но и независимым предиктором снижения чувствительности к лечению. Представленные клинические случаи показывают, что необходимы углубленный анализ результатов секвенирования *TP53* при опухолях и функциональная оценка всех выявляемых изменений, в том числе в интронах гена и с привлечением методов анализа *in silico*.

Ключевые слова: секвенирование, интронные мутации, ген *TP53*, неходжкинские лимфомы, прогноз.

CASES OF DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA WITH FUNCTIONAL INTRON MUTATIONS IN THE *TP53* GENE

Е.Н. Voropaeva¹, М.И. Voevoda¹, Т.И. Pospelova², В.Н. Maximov¹

Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia¹

175/1, B. Bogatkova Street, Novosibirsk, 630089, Russia. E-mail: vena.81@mail.ru¹

Novosibirsk State Medical University of the Russian Ministry of Health, Novosibirsk, Russia²

52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia²

Abstract

Background. The presence of functionally significant intron mutations in the *TP53* gene was demonstrated in experiments *in vitro* and on samples of patients with some variants of non-Hodgkin's lymphomas. To date, the studies of *TP53* in tumor tissue of patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) have been focused on the mutations in 5–8 exons of the gene. For these reasons, further studies of the spectrum of changes in the intron sequences of the *TP53* gene and the determination of their functional effect in DLBCL are required.

Description. We present two case reports that are of interest as the cases for detection of functionally significant intron *TP53* mutations in DLBCL tissue, first published in the Russian scientific literature. The first clinical case of DLBCL was clinically characterized by extranodal tumor at the onset of the disease, severe symptoms of tumor intoxication, high paraclinical tumor activity, and early hemoblastosis recurrence. The second case of DLBCL was characterized by initially massive tumor lesion, rapidly progressive course of the disease, severe symptoms of tumor intoxication, high paraclinical tumor activity and poor response to therapy with subsequent generalization of lymphoma. **Conclusion.** Mutations in the *TP53* gene are the driver of the tumor process, serve not only as a marker of aggressive tumor progression, but also as an independent predictor of reduced sensitivity to treatment. The presented clinical cases show that an in-depth analysis of the results of the *TP53* sequencing in tumors and functional assessment of all detected changes, including changes in the introns of the gene and involving *in silico* analysis techniques, are necessary.

Key words: sequencing, intron mutations, *TP53* gene, non-Hodgkin lymphomas, prognosis.

Введение

Несмотря на всю сложность генетических изменений, происходящих в геноме злокачественной клетки, мутации гена *TP53* являются наиболее частым, универсальным нарушением, обнаруживаемым при широком круге злокачественных новообразований. Являясь драйвером опухолевого процесса, они служат не только маркером агрессивного течения опухоли, но и независимым предиктором снижения чувствительности к лечению [1].

Частота и спектр мутаций в гене *TP53* описаны при диффузной В-крупноклеточной лимфоме (ДВККЛ) на небольших выборках пациентов [2, 3]. Однако в центре внимания исследователей, как правило, были мутации в 5–8 экзонах гена, кодирующих ДНК-связывающий домен белка. Интронные мутации *TP53* долгие годы не входили в круг интересов исследователей. Например, в Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer, The *TP53* UMD mutation database in human cancer (2017 release) и IARC *TP53* mutation Database (2012 release) перечислены только aberrации в кодирующих последовательностях гена *TP53* [4–6]. Лишь небольшое число интронных мутаций гена *TP53* аннотировано в Human Gene Mutation Database [7].

Наличие в гене *TP53* функционально значимых интронных изменений было продемонстрировано в экспериментах *in vitro* и на выборках больных отдельными вариантами неходжкинских лимфом [8, 9]. В частности, описаны интронные мутации, которые в результате альтернативного сплайсинга приводят к генерированию изоформ белка p53, отсутствующих в норме. Для данных изоформ характерны не только утрата транскрипционной активности и канонических функций опухолевого супрессора, но и появление способности придавать несущим их клеткам высокий метастатический потенциал [10].

До настоящего времени при изучении *TP53* в опухолевой ткани больных ДВККЛ исследования были сосредоточены на поиске мутаций в 5–8 экзонах гена [1, 2], поэтому требуются дальнейшие исследования спектра изменений в интронных последовательностях гена *TP53* и определения их функционального эффекта при ДВККЛ.

В статье описаны 2 клинических наблюдения ДВККЛ, которые представляют интерес как впервые публикуемые в российской научной литературе случаи выявления функционально значимых интронных мутаций *TP53* в опухолевой ткани лимфомы.

Клиническое наблюдение 1

Пациент Ч., 73 лет, поступил в гематологическое отделение Городского гематологического центра г. Новосибирска с жалобами на боли в десне, лихорадку до 38,5 °C в вечернее время суток, трудности при пережевывании пищи, потливость по ночам, повышенную утомляемость.

Считает себя больным в течение 2 мес, когда отметил боль в 6 верхнем зубе слева, отек щеки и десны. После удаления зуба сохранялся отек тканей. При рентгенографии костей черепа выявлено образование верхней челюсти слева, выполнена биопсия. При иммуногистохимическом исследовании верифицирована ДВККЛ CD20+, неспецифицированная. По данным мультиспиральной компьютерной томографии лицевого скелета выявлено объемное образование левой гайморовой пазухи размером 23,8×22×19,5 мм, вызывающее деструкцию нижней и латеральной стенок пазухи, а также альвеолярного отростка верхней челюсти, распространяющееся на жировую клетчатку шеи и ротовую полость.

При дообследовании: ЛДГ – 708 МЕ/л, Фг – 5,7 г/л, СОЭ – 38 мм/ч. По данным трепанобиопсии: специфическое поражение костного мозга.

Поставлен диагноз: ДВККЛ CD20+, неспецифицированная, IVE стадии с поражением левой гайморовой пазухи, альвеолярного отростка верхней челюсти, жировой клетчатки шеи и ротовой полости, костного мозга, впервые выявленная; группа высокого риска по Международному прогностическому индексу (МПИ).

В связи с возрастом и соматической отягощенностью рекомендованы курсы по протоколу R-COP (ритуксимаб, циклофосфан, винкристин и преднизолон). После 2 курсов терапии отмечено уменьшение объема образования, нормализация носового дыхания. После 6 курсов терапии констатируется ремиссия, проводилось введение Ритуксимаба 1 раз в 3 мес. Однако спустя полгода пациент отметил увеличение правого яичка, консультирован онкоурологом, выполнена орхэктомия справа. По данным гистологического и иммуногистохимического исследований верифицирована ДВККЛ CD20+, неспецифицированная. По данным КТ в малом тазу выявлено мягкотканное образование 12×10×6,6 см. Диагностирована ДВККЛ CD20+, неспецифицированная, IVE стадии с поражением левой гайморовой пазухи, альвеолярного отростка верхней челюсти, жировой клетчатки шеи и ротовой полости, костного мозга, первая ремиссия; I ранний рецидив IVE стадии с поражением правого яичка, лимфоузлов малого таза, индукция ремиссии; группа высокого риска по МПИ. Проведено 6 курсов полихимиотерапии, после второго по протоколу R-CHOP (ритуксимаб, циклофосфан, винкристин, доксорубин и преднизолон) констатируется резистентность к лечению, направлен на высокодозную химиотерапию. На очередной курс терапии пациент не явился в связи с летальным исходом от прогрессирования заболевания.

В ходе прямого секвенирования по Сенгеру в опухолевой ткани ДВККЛ выявлены изменения в гене TP53: сэймсенс мутация p.L252L в кодирующей последовательности; мутация в 6 интроне IVS6-36G>C (рис. 1).

Данный клинический случай ДВККЛ характеризовался экстранодальным опухолевым по-

ражением в дебюте заболевания, выраженными симптомами опухолевой интоксикации, высокой параклинической активностью опухоли, развитием раннего рецидива гемобластоза с экстранодальным очагом поражения в забарьерной ткани, резистентным к лечению.

Выявленная у пациента при секвенировании интронная мутация IVS6-36G>C имеет доказанную биологическую значимость. В экспериментах *in vitro* было показано, что IVS6-36G>C в отсутствие изменений в кодирующей последовательности гена приводит к выживанию клеток в условиях химиотерапии и длительно ингибирует апоптоз [11]. Согласно данным литературы, она связана с семейными формами рака молочной железы, риском возникновения рака простаты и предрасположенностью к раку щитовидной железы у детей [11, 12].

Мутация расположена в 6 интроне гена TP53 и, согласно данным The Human Cancer Mutation Database, относится к изменениям, влияющим на сплайсинг [7]. Хотя замена IVS6-36G>C расположена далеко от экзон/интронного стыка, где обычно находятся сайты сплайсинга, описаны другие механизмы влияния изменения нуклеотидной последовательности в некодирующих регионах на созревание молекулы мРНК. В частности, мутации в интронах способны генерировать новые сайты сплайсинга, которые, конкурируя с исходными сайтами, замедляют сплайсинг мРНК. В ряде случаев такой новый сайт может распознаваться системой процессинга РНК как аутентичный сайт сплайсинга, тогда в процессированную мРНК включается часть интрона. Это приводит к сдвигу рамки считывания и образованию укороченного белка.

Клиническое наблюдение 2

Пациент Г., 46 лет, поступил в гематологическое отделение Городского гематологического центра г. Новосибирска с жалобами на слабость, температуру в вечернее время до 38 °С, ночную профузную потливость, потерю веса на 9 кг за 12 мес, увеличение всех групп периферических лимфоузлов.

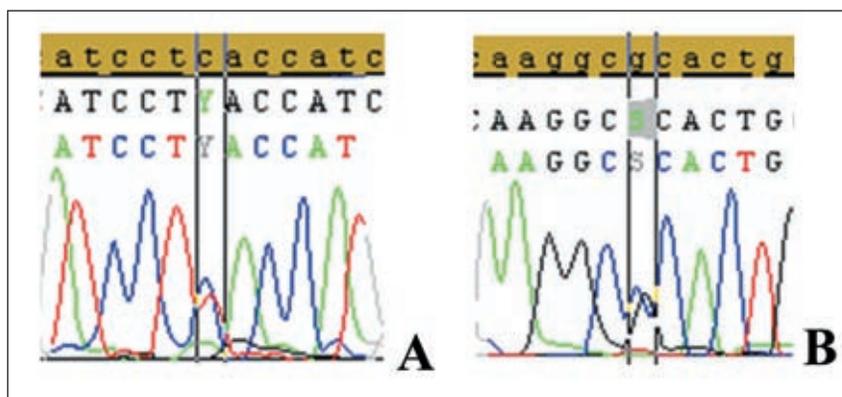


Рис. 1. Результаты секвенирования: А – мутация p.L252L, В – интронная мутация IVS6-36G>C
Fig. 1. Sequencing results: А – p.L252L mutation, В – intron mutation of IVS6-36G>C

Считает себя больным в течение полугода, когда впервые обнаружил безболезненное увеличение надключичного лимфоузла справа до 0,5 см. Консультирован ЛОР-врачом – без патологии, инфекционистом – выявлен хронический вирусный гепатит С минимальной степени активности. После консультации онколога проведена операционная биопсия увеличенного лимфоузла. По данным гистологического и иммуногистохимического исследования верифицирована диффузная В-крупноклеточная неспецифицированная лимфома CD20+; уровень экспрессии маркера Ki67 опухолевыми клетками 35 %, BCL6-, CD10-. Направлен к гематологу.

Объективно: состояние средней степени тяжести, пальпируются все группы периферических лимфоузлов, плотные, безболезненные, шейные лимфоузлы справа – массивное поражение. Селезенка на 5 см ниже реберной дуги. По данным дообследования: УЗИ органов брюшной полости – выраженная спленомегалия (площадь селезенки – 78 см²); КТ органов грудной клетки – лимфоузлы в средостении увеличены до 3–4 см; в биохимическом анализе крови: Фг – 4,4 г/л, ЛДГ – 741 МЕ/л, ЩФ – 456 Е/л, Тп – 6 Ед, СРБ – 24 Ед.; в ОАК – СОЭ 25 мм/ч. В трепанобиоптате скопления крупноклеточных опухолевых элементов.

На основании жалоб, анамнеза, объективного осмотра, данных лабораторно-инструментального обследования был выставлен диагноз: диффузная В-крупноклеточная, неспецифицированная CD20+ лимфома IVS стадии с поражением всех групп периферических лимфоузлов, лимфоузлов средостения, селезенки, костного мозга, впервые выявленная. Группа промежуточного/высокого риска по МПИ.

Получил 6 курсов полихимиотерапии по протоколу R-СНОР с положительной динамикой в виде уменьшения объема опухоли, однако в августе 2011 г. в межкурсовой промежуток отметил интенсивные боли в эпигастрии. По данным обследования имеются признаки прогрессирования заболевания: увеличение абдоминальных лимфоузлов, лимфоузлов малого таза до массивных, выраженная спленомегалия (объем селезенки 452 мл), появление очагов поражения в костях – позвонках L2, L4, L5, S1, костях таза, поражение стенки мочевого пузыря, плевры с двух сторон. Экстренно госпитализирован в отделение с выраженным болевым синдромом.

По жизненным показаниям проведена терапия по протоколу высокодозной химиотерапии DHAP (цисплатин, цитозар, дексаметазон), которую перенес удовлетворительно. Однако в межкурсовой период пациент скончался от прогрессирования гемобластоза.

В ходе прямого секвенирования по Сенгеру в опухолевой ткани ДВККЛ были выявлены следующие изменения в гене TP53: миссенс мутация p.T155I, мутация сдвига рамки считывания p.A189Pfs и интронная мутация IVS5+43G>T (рис. 2). Все мутации были в гомозиготном состоянии, что свидетельствовало о потере гетерозиготности в гене TP53 в опухолевой ткани ДВККЛ у данного пациента.

Описанный клинический случай ДВККЛ характеризовался исходно массивным опухолевым поражением, быстро прогрессирующим течением заболевания, выраженными симптомами опухолевой интоксикации, высокой параклинической активностью опухоли и плохим ответом на терапию с последующей генерализацией лимфомы.

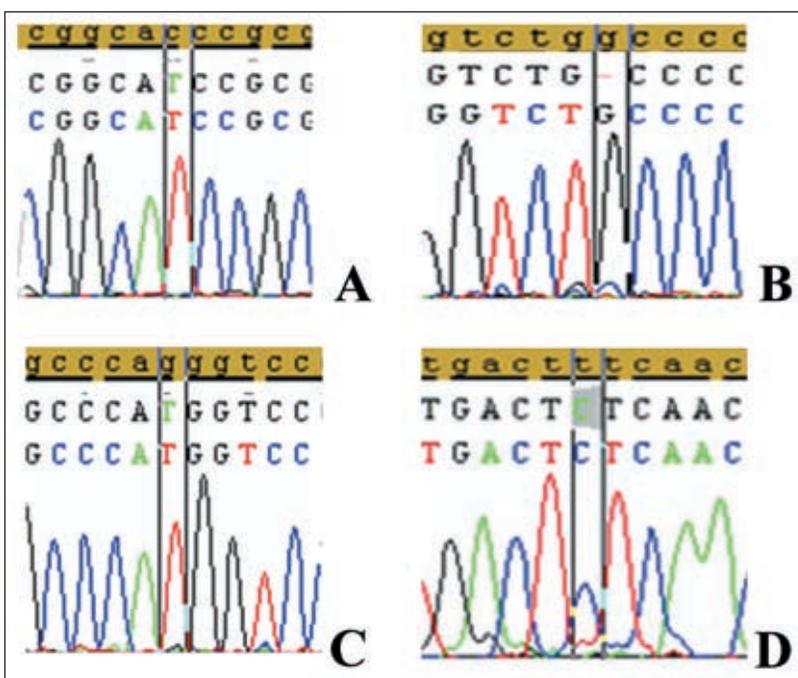


Рис. 2. Результаты секвенирования: А – мутация p.T155I, В – мутация p.A189Pfs, С – интронная мутация IVS5+43G>T, D – интронная мутация IVS4-30T>C
 Fig. 2. Sequencing results: A – p.T155I mutation, B – p.A189Pfs mutation, C – intron mutation of IVS5+43G>T, D – intron mutation of IVS4-30T>C

В ходе секвенирования, помимо патогенной миссенс-мутации р.Т155I и мутации сдвига рамки считывания р.А189Pfs, приводящей к синтезу укороченного неактивного белка р53, в опухолевом материале было выявлено две интронные мутации, не фиксированные в специализированных базах данных.

В базе данных dbSNP в позиции IVS5+43 описана другая однонуклеотидная замена G>C (rs765032410, NC_000017.11:g.7675010C>G), однако ни популяционная частота редкого аллеля (Minor allele frequency – MAF), ни клиническое значение rs765032410 не известны [13]. Однако согласно прогнозу NetGene2 [14], IVS5+43G>T приводит к образованию дополнительного акцепторного сайта сплайсинга, который отсутствует в норме, что может приводить к включению в последовательность м-РНК части 5 интрона, преждевременному образованию стоп-кодона в 189 положении и синтезу укороченного варианта белка р53, лишённого функциональной активности. Отдельно также следует отметить IVS4-30T>C ввиду того, что в 4 интроне *TP53* расположен альтернативный промотор гена, участвующий в синтезе изоформы delta133, которая в норме экспрессируется в лимфоидной ткани [15]. Однако на данный момент оценить ее влияние на транскрипцию гена не представляется возможным.

Таким образом, результаты молекулярно-генетического анализа свидетельствуют о наличии в опухолевой ткани ДВККЛ у данного пациента множественных функционально значимых мутаций *TP53*, в том числе интронных, сочетающихся с потерей нормального аллеля гена.

Заключение

В литературе описаны интронные мутации в гене *TP53*, которые приводят к генерированию в результате альтернативного сплайсинга отсутствующих в норме изоформ белка р53. Для данных изоформ характерны не только утрата

транскрипционной активности и канонических функций опухолевого супрессора, но и появление способности придавать несущим их клеткам высокий метастатический потенциал [10].

Большинство потенциально значимых интронных замен расположены в непосредственной близости к экзон-интронным стыкам, где в норме находятся сайты сплайсинга, представляющие собой консервативные последовательности с/aAG|GURAGU у 5'-конца сайтов сплайсинга, и последовательность Pu11NYAG| у 3'-конца сайтов сплайсинга млекопитающих [16]. Эффективное распознавание сайтов сплайсинга сплайсосомой зависит от сохранности его консервативной последовательности и последовательностей его окружающих и является критически важным для правильного и упорядоченного удаления интронов из пре-мРНК.

Известны механизмы влияния на нормальное созревание молекулы м-РНК изменений, расположенных в глубине интронных регионов. В частности, мутации в интронах способны генерировать новые сайты сплайсинга, которые, конкурируя с исходными сайтами, замедляют сплайсинг мРНК [17].

Очевидно, что в настоящее время углубленный анализ результатов секвенирования вне кодирующих последовательностей гена *TP53* отсутствует, количество и функциональные эффекты выявляемых в них aberrаций недооценены. Ситуация осложняется тем, что для успешного решения данной задачи требуется разработка усовершенствованных методов анализа *in silico*. Вместе с тем описанные в данном сообщении клинические случаи свидетельствуют, что интронные последовательности *TP53* при ДВККЛ также подвержены мутациям, способствующим опухолевому росту. Новые биомаркеры, расположенные в интронах гена *TP53*, могут быть важны для диагностики, прогноза и предсказания ответа опухолей на лечение.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Xu-Monette Z.Y., Wu L., Visco C., Tai Y.C., Tzankov A., Liu W.M., Montes-Moreno S., Dybkaer K., Chiu A., Orazi A., Zu Y., Bhagat G., Richards K.L., Hsi E.D., Zhao X.F., Choi W.W., Zhao X., van Krieken J.H., Huang Q., Huh J., Ai W., Ponzoni M., Ferreri A.J., Zhou F., Kahl B.S., Winter J.N., Xu W., Li J., Go R.S., Li Y., Piris M.A., Møller M.B., Miranda R.N., Abruzzo L.V., Medeiros L.J., Young K.H. 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 Nov 8; 120(19): 3986–96. doi: 10.1182/blood-2012-05-433334.
- Young K.H., Weisenburger D.D., Dave B.J., Smith L., Sanger W., Iqbal J., Campo E., Delabie J., Gascoyne R.D., Ott G., Rimsza L., Müller-Hermelink H.K., Jaffe E.S., Rosenwald A., Staudt L.M., Chan W.C., Greiner T.C. Mutations in the DNA-binding codons of TP53, which are associated with decreased expression of TRAIL receptor-2, predict for poor survival in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2007 Dec 15; 110(13): 4396–405. doi: 10.1182/blood-2007-02-072082.
- Tamimi Y., Al-Harthy S., Al-Haddabi I., Al-Kindi M., Babiker H., Al-Moundhri M., Burney I. 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 Feb; 14(1): e50–8. doi: 10.12816/0003336.

- Bouaoun L., Sonkin D., Ardin M., Hollstein M., Byrnes G., Zavadil J., Olivier M. TP53 Variations in Human Cancers: New Lessons from the IARC TP53 Database and Genomics Data. *Hum Mutat*. 2016 Sep; 37(9): 865–76. doi: 10.1002/humu.23035.
- Leroy B., Fournier J.L., Ishioka C., Monti P., Inga A., Fronza G., Soussi T. The TP53 website: an integrative resource centre for the TP53 mutation database and TP53 mutant analysis. *Nucleic Acids Res*. 2013 Jan; 41(Database issue): D9629. doi: 10.1093/nar/gks1033.
- Sondka Z., Bamford S., Cole C.G., Ward S.A., Dunham I., Forbes S.A. The COSMIC Cancer Gene Census: describing genetic dysfunction across all human cancers. *Nat Rev Cancer*. 2018 Nov; 18(11): 696–705. doi: 10.1038/s41568-018-0060-1.
- Stenson P.D., Mort M., Ball E.V., Evans K., Hayden M., Heywood S., Hussain M., Phillips A.D., Cooper D.N. The Human Gene Mutation Database: towards a comprehensive repository of inherited mutation data for medical research, genetic diagnosis and next-generation sequencing studies. *Hum Genet*. 2017 Jun; 136(6): 665–677. doi: 10.1007/s00439-017-1779-6.
- Charbonneau B., Maurer M.J., Fredericksen Z.S., Zent C.S., Link B.K., Novak A.J., Ansell S.M., Weiner G.J., Wang A.H., Witzig T.E., Dogan A., Slager S.L., Habermann T.M., Cerhan J.R. Germline variation in complement genes and event-free survival in Follicular and Diffuse

Large B-Cell Lymphoma. *Am J Hematol.* 2012 Sep; 87(9): 880–5. doi: 10.1002/ajh.23273.

9. Voropaeva E.N., Voevoda M.I., Pospelova T.I., Maksimov V.N. Prognostic impact of the TP53 rs1625895 polymorphism in DLBCL patients. *Br J Haematol.* 2015 Apr; 169(1): 32–5. doi: 10.1111/bjh.13237.

10. Senturk S., Yao Z., Camiolo M., Stiles B., Rathod T., Walsh A.M., Nemajerova A., Lazzara M.J., Altorki N.K., Krainer A., Moll U.M., Lowe S.W., Cartegni L., Sordella R. P53 Ψ is a transcriptionally inactive p53 isoform able to reprogram cells toward a metastatic-like state. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014 Aug 12; 111(32): E3287–96. doi: 10.1073/pnas.1321640111.

11. Lehman T.A., Haffty B.G., Carbone C.J., Bishop L.R., Gumbs A.A., Krishnan S., Shields P.G., Modali R., Turner B.C. Elevated frequency and functional activity of a specific germ-line p53 intron mutation in familial breast cancer. *Cancer Res.* 2000 Feb 15; 60(4): 1062–9.

12. Hillebrandt S., Streffer C., Demidchik E.P., Biko J., Reiners C. Polymorphisms in the p53 gene in thyroid tumors and blood samples of children from areas in Belarus. *Mutat Res.* 1997; 381(2): 201–7. doi: 10.1016/s0027-5107(97)00169-3.

13. Kitts A., Phan L., Ward M., Holmes J.B. The Database of Short Genetic Variation (dbSNP) [Internet]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK174586> (cited 26.02.2019).

14. Brunak S., Engelbrecht J., Knudsen S. Prediction of human mRNA donor and acceptor sites from the DNA sequence. *J Mol Biol.* 1991 Jul 5; 220(1): 49–65. doi: 10.1016/0022-2836(91)90380-o.

15. Marcel V., Dichtel-Danjoy M.L., Sagne C., Hafsi H., Ma D., Ortiz-Cuaran S., Olivier M., Hall J., Mollereau B., Hainaut P., Bourdon J.C. Biological functions of p53 isoforms through evolution: lessons from animal and cellular models. *Cell Death Differ.* 2011; 18(12): 1815–24. doi: 10.1038/cdd.2011.120.

16. Yabas M., Elliott H., Hoyne G.F. The role of alternative splicing in the control of immune homeostasis and cellular differentiation. *Int J Mol Sci.* 2015 Dec 22; 17(1). pii: E3. doi: 10.3390/ijms17010003.

17. Diederichs S., Bartsch L., Berkman J.C., Fröse K., Heitmann J., Hoppe C., Iggena D., Jazmati D., Karschnia P., Linsenmeier M., Maulhardt T., Möhrmann L., Morstein J., Paffenholz S.V., Röpenack P., Rückert T., Sandig L., Schell M., Steinmann A., Voss G., Wasmuth J., Weinberger M.E., Wullenkord R. 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 May 2; 8(5): 442–57. doi: 10.15252/emmm.201506055.

Поступила/Received 26.02.2019

Принята в печать/Accepted 15.05.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Воропаева Елена Николаевна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ИЦИГ СО РАН (г. Новосибирск, Россия). E-mail: vena.81@mail.ru. SPIN-код: 4424-2094. Researcher ID (WOS): A-5360-2014. Author ID (Scopus): 36020818100. ORCID: 0000-0001-7542-7285.

Воевода Михаил Иванович, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ИЦИГ СО РАН (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 6133-1780. Researcher ID (WOS): N-6713-2015. Author ID (Scopus): 7004003785. ORCID: 0000-0001-9425-413X.

Пospelova Татьяна Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Новосибирск, Россия). Author ID (Scopus): 7005792562. ORCID: 0000-0002-1261-5470.

Максимов Владимир Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярно-генетических методов исследования терапевтических заболеваний, НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ИЦИГ СО РАН (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 9953-7867. Researcher ID (WOS): H-7676-2012. Author ID (Scopus): 7202540327. ORCID: 0000-0002-7165-4496.

ВКЛАД АВТОРОВ

Воропаева Елена Николаевна: выполнение секвенирования образцов, анализ и интерпретация данных, написание черновика рукописи, окончательное одобрение статьи.

Воевода Михаил Иванович: биоинформационный анализ полученных данных, критический пересмотр рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания, окончательное одобрение статьи.

Пospelova Татьяна Ивановна: разработка концепции и дизайна исследования, критический пересмотр рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания, окончательное одобрение статьи.

Максимов Владимир Николаевич: обзор публикаций по теме статьи, анализ и интерпретация данных, написание текста статьи, окончательное одобрение статьи.

Финансирование

Работа выполнена в рамках бюджетной темы по Государственному заданию № 0324-2018-0002. Работа получила поддержку гранта Президента РФ молодым ученым МД-2706.2019.7. Работа выполнена в рамках бюджетной темы по Государственному заданию № 0324-2018-0002.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Elena N. Voropaeva, MD, DSc, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetic Studies of Therapeutic Diseases, Research Institute of Internal and Preventive Medicine Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, (Novosibirsk, Russia). E-mail: vena.81@mail.ru. Researcher ID (WOS): A-5360-2014. Author ID (Scopus): 36020818100. ORCID: 0000-0001-7542-7285.

Mikhail I. Voevoda, MD, Member of the Russian Academy of Sciences, Professor, Director of the Research Institute of Internal and Preventive Medicine –Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian

Academy of Sciences (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): N-6713-2015. Author ID (Scopus): 7004003785. ORCID: 0000-0001-9425-413X.

Tatiana I. Pospelova, MD, Professor, Head of the Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University of the Russian Ministry of Health (Novosibirsk, Russia). Author ID (Scopus): 7005792562. ORCID: 0000-0002-1261-5470.

Vladimir N. Maksimov, MD, Professor, Head of the Laboratory of Molecular-genetic Methods for the Study of Therapeutic Diseases of the Research Institute of Internal and Preventive Medicine Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): H-7676-2012. Author ID (Scopus): 7202540327. ORCID: 0000-0002-7165-4496.

AUTHOR CONTRIBUTION

Elena N. Voropaeva: sequencing of samples, analysis and interpretation of data, drafting of the manuscript, final approval of the manuscript.

Mikhail I. Voevoda: data bio-information analysis, critical review of the manuscript with the introduction of valuable intellectual content, final approval of the manuscript.

Tatiana I. Pospelova: concept development, study design, critical review of the manuscript with the introduction of valuable intellectual content, final approval of the manuscript.

Vladimir N. Maksimov: review of publications, analysis and interpretation of data, writing of the manuscript, final approval of the manuscript.

Funding

The work was carried out within the framework of the Budget theme on the State task No. 0324-2018-0002. The work was supported by Grant of the President of the Russian Federation for young scientists MD-2706.2019.7. The work was carried out within the framework of the Budget theme on the State task No. 0324-2018-0002.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.