

Для цитирования: Волков А.Ю., Сафронова В.М., Неред С.Н., Любченко Л.Н., Стилиди И.С. Генетический полиморфизм забрюшинных миксоидных липосарком. Сибирский онкологический журнал. 2020; 19(3): 89–96. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-89-96.

For citation: Volkov A. Yu., Safronova V. M., Nered S. N., Lyubchenko L. N., Stilidi I. S. Genetic polymorphism of retroperitoneal myxoid liposarcoma. Siberian Journal of Oncology. 2020; 19(3): 89–96. – doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-3-89-96.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЗАБРЮШИННЫХ МИКСОИДНЫХ ЛИПОСАРКОМ

А.Ю. Волков¹, В.М. Сафронова¹, С.Н. Неред¹, Л.Н. Любченко^{1,2},
И.С. Стилиди¹

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва, Россия¹

Россия, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 23. E-mail: 79164577128@yandex.ru¹

ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)»,
г. Москва, Россия²

Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2²

Аннотация

Цель исследования – выявление новых молекулярно-генетических маркеров и терапевтических целей при забрюшинных миксоидных липосаркомах. **Материал и методы.** В качестве материала для исследования были использованы образцы ДНК, выделенные из опухолевой ткани, полученной из срезов парафиновых блоков. Экстракция ДНК производилась с помощью набора «GeneRead DNA FFPE Kit (50)» (Qiagen). Молекулярно-генетическое исследование проводилось методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) с использованием коммерческой панели для целевого обогащения генов GeneReader Actionable Insights Tumor Panel (GRTP – 101X) на платформе QCI Analyser version 1.1 (Qiagen), позволяющей анализировать 12 генов, вовлеченных в канцерогенез: KRAS, NRAS, KIT, BRAF, PDGFRA, ALK, EGFR, ERBB2, PIK3CA, ERBB3, ESR1, RAF1. **Результаты.** Таргетное секвенирование забрюшинных неорганных миксоидных липосарком продемонстрировало генетическую гетерогенность. Нами впервые выявлены мутации и полиморфные варианты в генах EGFR, PIK3CA, ALK, BRAF, ERBB2/3, ESR1, KIT, PDGFRA. **Заключение.** Данное исследование демонстрирует широкий спектр молекулярно-генетических перестроек при забрюшинных неорганных миксоидных липосаркомах. Синонимичные мутации в генах EGFR (Q787Q) и PDGFRA (P567P) выявлены во всех случаях (100 %), миссенс-мутация в гене ERBB2 (P1170A) и синонимичные мутации в генах ALK (G845G) и BRAF (G643G) – в 75 %, а миссенс-мутация в гене PIK3CA (I391M) обнаружена в 25 % случаев. Представленные в работе полиморфизмы генов, вероятнее всего, вовлечены в канцерогенез ретроперитонеальных миксоидных липосарком. Необходимы дальнейшие исследования с включением большего количества пациентов и многофакторным анализом отдаленных результатов лечения.

Ключевые слова: липосаркома, миксоидные липосаркомы, неорганные забрюшинные опухоли, высокопроизводительное секвенирование (NGS), полиморфизм, мутации, EGFR, PDGFRA, ERBB2, BRAF.

GENETIC POLYMORPHISM OF RETROPERITONEAL MYXOID LIPOSARCOMA

A.Yu. Volkov¹, V.M. Safronova¹, S.N. Nered¹, L.N. Lyubchenko^{1,2}, I.S. Stilidi¹

N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia,
Moscow, Russia¹

23, Kashirskoye Shosse, 115478, Moscow, Russia. E-mail: 79164577128@yandex.ru¹

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation
(Sechenov University), Moscow, Russia²

8/2, Trubetskaya str., 119991, Moscow, Russia²

Abstract

Objective: to detect new molecular genetic markers and therapeutic targets in retroperitoneal myxoid liposarcoma. **Material and Methods.** DNA samples isolated from tumor tissue and obtained from formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) slides were used. DNA was extracted using the GeneRead DNA FFPE Kit (50) (Qiagen). High-throughput next generation sequencing (NGS) using the GeneReader Actionable Insights Tumor Panel (GRTP – 101X) on the QCI Analyzer version 1.1 platform (Qiagen) was used for molecular genetic analysis of 12 genes involved in carcinogenesis: KRAS, NRAS, KIT, BRAF, PDGFRA, ALK, EGFR, ERBB2, PIK3CA, ERBB3, ESR1, RAF1. **Results.** Targeted sequencing of retroperitoneal extra-organ myxoid liposarcoma demonstrated genetic heterogeneity. Our study was the first to describe mutations and polymorphic variants in genes, such as EGFR, PIK3CA, ALK, BRAF, ERBB2/3, ESR1, KIT, PDGFRA in myxoid liposarcoma. **Conclusion.** This study demonstrated a wide range of molecular genetic rearrangements in retroperitoneal extra-organ myxoid liposarcoma. Synonymous mutations in the EGFR (Q787Q) and PDGFRA (P567P) genes were detected in all cases (100 %). Missense mutations in the ERBB2 gene (P1170A) and synonymous mutations in the ALK (G845G) and BRAF genes were identified in 75 % of cases. Missense mutation in the PIK3CA gene (I391M) was detected in 25 % of cases. The gene polymorphisms presented in this paper are most likely involved in the carcinogenesis of retroperitoneal myxoid liposarcoma. Further studies with larger patient groups and multivariate analysis of long-term treatment results are required.

Key words: liposarcoma, myxoid liposarcoma, extra-organ retroperitoneal tumor, next-generation sequencing (NGS), polymorphism, mutation, EGFR, PDGFRA, ERBB2, BRAF.

Введение

Саркомы мягких тканей относятся к редким опухолям, развивающимся из разных типов соединительной ткани. Ежегодно в России регистрируется около 3,5 тысяч новых случаев, что составляет менее 1 % от всех онкологических заболеваний [1]. В 10–15 % случаев саркомы мягких тканей расположены ретроперитонеально [2, 3]. Липосаркома является наиболее часто встречаемой забрюшинной мезенхимальной опухолью, на долю которой приходится более 50 % случаев от общего числа сарком [4].

Отдельным гистологическим типом представлены миксоидные липосаркомы, которые составляют 30–35 % от всех липосарком [5–7]. В 95 % случаев при этом гистологическом типе присутствует реципрокная транслокация хромосом 12 и 16 $t(12;16)(q13;p11)$, выявление которой помогает дифференцировать данную опухоль от других гистологических типов липосарком [6–8]. Основным методом лечения забрюшинных неорганных липосарком является хирургический. У большинства пациентов после радикально выполненной операции возникают рецидивы, являющиеся причиной смерти [9–14]. При лечении распространенной или метастатической формы заболевания применяют антрациклины (доксорубицин и эпирубицин) и алкилирующий агент ифосфамид [14]. Несмотря на то, что по сравнению с другими гистотипами липосарком для миксоидных характерна высокая частота ответа на проводимую химиотерапию (48 % против 18 %, $p=0,012$) [15], отдаленные результаты лечения данной категории пациентов неудовлетворительны.

В настоящее время отсутствуют убедительные данные об эффективности таргетной терапии в лечении липосарком. Недавние исследования показали наличие определенных генетических перестроек в липосарcomaх, одни из которых влияют на

прогноз, общую и безрецидивную выживаемость, а роль других не определена. По мере накопления данных выявленные изменения, предположительно, могут стать предикторами прогноза и новыми терапевтическими целями. В исследовании, проведенном в Китае, показаны мутации в гене PIK3CA при миксоидных липосарcomaх, частота встречаемости которых составляет 11 % [16]. Аналогичная работа из США по генотипированию образцов миксоидных липосарком продемонстрировала мутации в генах cMET и PIK3CA [18]. Следующее исследование, проведенное в США, экспонирует не только наличие мутаций в гене PIK3CA в 18,3 % случаев миксоидных/круглоклеточных липосарком, но и значимую корреляцию с плохим прогнозом – у больных с PIK3-ассоциированными липосарcomaми отмечены более низкие показатели общей выживаемости, чем у пациентов с диким типом гена PIK3CA в опухоли ($p=0,036$) [19]. База данных COSMIC (catalog of somatic mutations in cancer) демонстрирует молекулярно-генетическую гетерогенность миксоидных липосарком: мутации в генах Trp53 (7 %), cKIT (3 %), EGFR (2 %), KRAS (2 %) и др., клиническая значимость которых не оценена при забрюшинных неорганных липосарcomaх.

С целью поиска новых молекулярно-генетических маркеров и терапевтических решений мы выполнили пилотное исследование с использованием высокопроизводительного секвенирования (NGS) образцов опухолевой ткани миксоидных липосарком. В работе представлены полученные результаты проведенного исследования и обзор мировой литературы по выявленным маркерам.

Материал и методы

В исследование были включены пациенты с забрюшинными неорганными миксоидными липосарcomaми, которым выполнялось хирургическое

лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в 2011, 2012, 2015 и 2016 гг. После пересмотра морфологических образцов сертифицированным патоморфологом и подтверждения гистологического типа липосаркомы выделены зоны, содержащие наибольшее количество опухолевых клеток (не менее 40 %).

Следующим этапом с использованием микродиссектора был сделан срез толщиной 10 микрон с каждого образца опухолевой ткани, фиксированной в формалине и заключенной в парафин (FFPE). Из данного среза выделили ДНК с помощью набора «GeneRead DNA FFPE Kit (50)» (Qiagen) согласно инструкции.

Молекулярно-генетическое исследование проводилось методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) с использованием коммерческой панели для целевого обогащения генов GeneReader Actionable Insights Tumor Panel (GRTP – 101X) на платформе QCI Analyser version 1.1 (Qiagen), позволяющей анализировать 12 генов, вовлеченных в канцерогенез: KRAS, NRAS, KIT, BRAF, PDGFRA, ALK, EGFR, ERBB2, PIK3CA, ERBB3, ESR1, RAF1. Дизайн используемой панели позволяет эффективно выявлять клинически значимые мутации и полиморфные варианты с глубиной покрытия 5 000 для каждого ампликона.

Технологические этапы секвенирования включали: выделение образцов ДНК, таргетное обогаще-

ние, клональную амплификацию, секвенирование, интерпретацию результатов. Библиотеки образцов ДНК нормализовали по концентрации с последующим пулированием. В результате секвенирования были получены прочтения с качеством выше Q25 для более чем 70 % исследованной ДНК. Программное обеспечение автоматически производило фильтрацию полученных фрагментов по качеству, тримминг адаптеров и картирование полученных фрагментов на референсный геном hg19.

Поиск информационных источников произведен в системах NCBI, включая PubMed, SNP database, ClinVar, Ensemble, COSMIC cancer database. Проанализированы данные ретроспективных и проспективных клинических исследований.

Результаты

В работе исследован послеоперационный материал (парафиновые блоки и гистологические стекла) 4 пациентов, оперированных по поводу забрюшинных миксоидных липосарком в 2011–16 г. Выполнено таргетное секвенирование с целью молекулярного профилирования. Нами впервые выявлены ранее не описанные в мировой литературе при миксоидных липосарcomaх мутации и полиморфные варианты в генах EGFR, PIK3CA, ALK, BRAF, ERBB2/3, ESR1, KIT, PDGFRA (рис. 2). Также для каждого образца сформирован валидный результат (рис. 1).

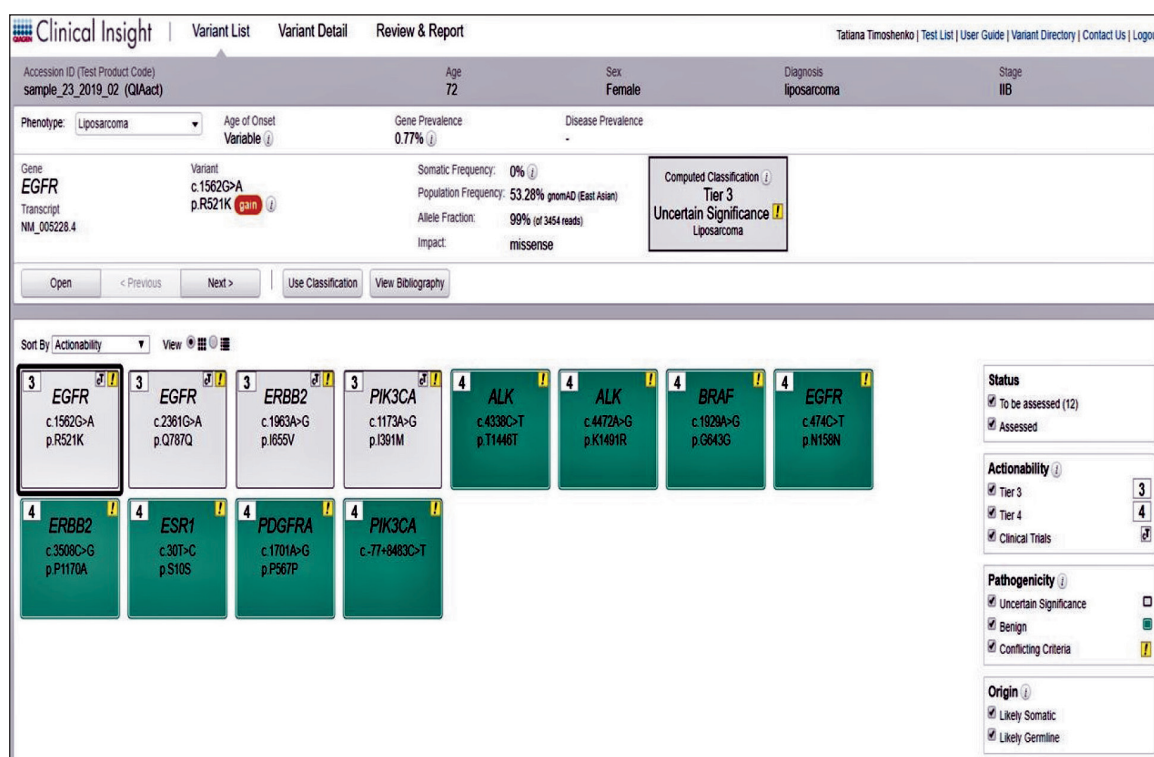


Рис. 1. Результат молекулярно-генетического тестирования методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) опухолевой ткани пациента с забрюшинной миксоидной липосаркомой

Fig. 1. The result of molecular genetic testing by next-generation sequencing (NGS) of a tumor tissue of a patient with retroperitoneal myxoid liposarcoma

Ген	Вид мутации	Экзон	Номенклатура				MAF minor allele frequency	Highest population MAF	Частота встречаемости n=4
ERBB2(HER2)	миссенс	17	p.I655V	c.1963A>G	rs1136201	NM_004448.3:c.1963A>G (p.Ile655Val)	0.12 (G)	0.32	1/4 (25%)
	миссенс	27	p.P1170A	c.3508C>G	rs1058808	NM_004448.3:c.3508C>G (p.Pro1170Ala)	0.45 (G)	0.48	3/4 (75%)
PIK3CA	N/A	1	N/A	c.-77+8483C>T	N/A	N/A	N/A	N/A	1/4 (25%)
	миссенс	7	p.I391M	c.1173A>G	rs2230461	NM_006218.3(PIK3CA):c.1173A>G (p.Ile391Met)	0.09 (G)	0.29	1/4 (25%)
ALK	N/A	29	p.T1446T	c.4338C>G	N/A	N/A	N/A	N/A	1/4 (25%)
	миссенс	29	p.K1491R	c.4472A>G	rs1881420	NM_004304.4(ALK):c.4472A>G (p.Lys1491Arg)	0.42 (C)	0.49	2/4(50%)
	синонимичный вариант	15	p.G845G	c.2535T>C	rs2256740	NM_004304.4(ALK):c.2535T>C (p.Gly845=)	N/A	0.49	3/4 (75%)
	синонимичный вариант	18	p.T1012T	c.3036G>A	rs2293563	NM_004304.4(ALK):c.3036G>A (p.Thr1012=)	0.17 (T)	0.29	1/4 (25%)
	синонимичный вариант	16	p.G643G	c.1929A>G	rs9648696	NM_004333.5(BRAF):c.1929A>G (p.Gly643=)	0.35 (C)	0.39	3/4 (75%)
EGFR	синонимичный вариант	4	p.N158N	c.474C>T	rs2072454	NM_005228.4(EGFR):c.474C>T (p.Asn158=)	0.48 (T)	0.50	3/4 (75%)
	миссенс	13	p.R521K	c.1562G>A	rs11543848, rs2227983	NM_005228.4(EGFR):c.1562G>A (p.Arg521Lys)	0.29 (A)	0.50	3/4 (75%)
	синонимичный вариант	20	p.Q787Q	c.2361G>A	rs10251977, rs1050171	NM_005228.4(EGFR):c.2361G>A (p.Gln787=)	0.43 (A)	0.50	4/4(100%)
	N/A	16	p.H656H	c.1968C>A	N/A	N/A	N/A	N/A	1/4 (25%)
	N/A	18	N/A	c.2184+19G>A	N/A	N/A	N/A	N/A	1/4 (25%)
	синонимичный вариант	25	p.D994D	c.2982C>T	rs2293347	NM_005228.4(EGFR):c.2982C>T (p.Asp994=)	0.14 (T)	0.32	1/4 (25%)
ESR1	N/A	8	N/A	c.1369+1377T>G	N/A	N/A	N/A	N/A	1/4 (25%)
	N/A	3	p.S10S	c.30T>C	N/A	N/A	N/A	N/A	3/4 (75%)
PDGFRA	синонимичный вариант	12	p.P567P	c.1701A>G	rs1873778	NM_006206.5(PDGFR):c.1701A>G (p.Pro567=)	0.04 (A)	0.19	4/4(100%)
ERBB3	N/A	12	p.I449I	c.1347T>C	N/A	N/A	N/A	N/A	1/4 (25%)
	миссенс	27	p.S1119C	c.3355A>T	N/A	N/A	N/A	N/A	1/4 (25%)
KIT	N/A	17	N/A	c.2362-77G>A	N/A	N/A	N/A	N/A	1/4 (25%)

Рис. 2. Результаты молекулярно-генетического тестирования методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) опухолевой ткани пациентов с забрюшинными миксоидными липосаркоммами

Fig.2. The results of molecular genetic testing by next-generation sequencing (NGS) of tumor tissue of patients with retroperitoneal myxoid liposarcoma

Обсуждение

Таргетное секвенирование забрюшинных неорганных миксоидных липосарком продемонстрировало генетическую гетерогенность. Синонимичные мутации в генах EGFR (Q787Q) и PDGFRA (P567P) выявлены во всех четырех случаях, другие молекулярно-генетические изменения определены с меньшей частотой. Полученные данные о полиморфизме каждого гена проанализированы с учетом опыта зарубежных исследователей, представленного в научных базах данных.

Ген EGFR (ENSG00000146648)

У пациентов с миксоидными липосаркоммами в структуре гена EGFR мы выявили мутации в 4, 13, 16, 18, 20 и 25 экзонах. EGFR – ген, кодирующий трансмембранный гликопротеин молекулярной массой 170 kD, обладающий тирозинкиназной активностью. EGFR (или HER1) относится к семейству рецепторов эпидермального фактора роста. Данное семейство включает эпидермальный фактор роста (EGFR или ERBB1), ERBB-2, ERBB-3 и ERBB-4. EGFR экспрессируется на поверхности как нормальных, так и трансформированных эпителиальных клеток и участвует в регуляции клеточного роста и дифференцировки. В ряде опухолей обнаруживаются аномальные рецепторы эпидермального фактора роста, что обусловлено наличием мутации в соответствующем гене. В клетках с

мутацией происходит активация сигнального пути EGFR, что, в свою очередь, инициирует процессы злокачественной трансформации в большинстве опухолей. Сигнальные пути контролируют процессы пролиферации, дифференцировки, апоптоза, ангиогенеза, инвазии и метастазирования [19].

В нашем исследовании в забрюшинных миксоидных липосаркоммах мы выявили синонимичную мутацию Q787Q (rs10251977, rs1050171) в 20 экзоне гена EGFR в 100 % случаев. В базе данных Национального центра биотехнологической информации США (NCBI) представлены исследовательские работы, демонстрирующие влияние rs1050171 на клиническое течение заболевания при другой нозологии. Ученые анонсировали клиническую значимость полиморфизма Q787Q в гене EGFR как фактора прогноза при плоскоклеточном раке легкого. При частоте выявляемости, равной 23,9 %, отмечено значимое отрицательное влияние на общую выживаемость. Группа пациентов с наличием полиморфизма Q787Q гена EGFR имела меньшую продолжительность жизни не только по сравнению с пациентами, имеющими дикий тип гена EGFR, но и с пациентами – носителями мутаций в экзонах 18, 19, 21 гена EGFR [21].

Следующая работа демонстрирует прогностическую и предиктивную роль EGFR(Q787Q) полиморфизма при терапии тирозинкиназными

ингибитором (Gefitinib) у пациентов с немелкоклеточным раком легкого после хирургического лечения. Пациенты с диким типом гена EGFR(GG) имели лучший прогноз, чем больные – носители аллелей GA или AA ($p=0,0653$) [22].

В нашем исследовании в забрюшинных миксоидных липосарcomaх в 25 % случаев выявлен синонимичный вариант мутации D994D (rs2293347) в 25 экзоне гена EGFR. Работа коллег из Китая свидетельствует о предиктивной роли полиморфизма D994D в гене EGFR при терапии тирозинкиназным ингибитором (Gefitinib) у пациентов с немелкоклеточным раком легкого. Пациенты с аллелью rs2293347A имели значительно более низкую частоту ответа на терапию тирозинкиназным ингибитором, чем пациенты с аллелями s2293347G (37,5 % против 71,2 %, $p=0,004$) [23].

В 75 % случаев нами выявлена миссенс-мутация R521K (rs11543848, rs2227983) в 13 экзоне гена EGFR. По данным литературы, полиморфизм R521K в гене EGFR может рассматриваться как предиктор ответа на терапию тирозинкиназным ингибитором (Cetuximab) и фактор благоприятного прогноза при колоректальном раке. Пациенты с генотипами G/A или A/A гена EGFR имеют значительно более высокую частоту ответа на лечение – 78,9 % против 55,6 % ($p=0,01$), более длительный период без прогрессирования – 16 мес против 8 мес ($p<0,01$) и общую выживаемость – 24 мес против 16 мес ($p<0,01$) [24].

Кроме того, у 3 пациентов мы выявили соматическую мутацию N158N (rs2072454) в 4 экзоне гена EGFR. Клиническая значимость мутации N158N в гене EGFR оценена при раке молочной железы в работе, представленной авторами из Ирландии. Пациенты, гомозиготные по аллелю (C) или имеющие гетерозиготный аллель (C/T) в гене EGFR(N158N), получавшие трастузумаб, имели более длительную общую выживаемость, чем носители аллеля (T) ($p=0,05$) [25]. Также исследование коллег из Иордании демонстрирует увеличение риска развития рака легкого при наличии у пациентов синонимичной мутации N158N в гене EGFR [26]. В исследовании авторов из Китая отражена взаимосвязь полиморфного варианта N158N в гене EGFR с увеличением риска развития рака желудка [27]. А исследовательская работа из США демонстрирует увеличение риска развития плоскоклеточного рака головы и шеи при наличии мутации N158N в гене EGFR [28].

Ген ERBB2 (ENSG00000141736)

При таргетном секвенировании забрюшинных неорганных миксоидных липосарком мы выявили мутации в 17 и 27 экзонах гена ERBB2, который входит в состав семейства тирозинкиназных рецепторов ERBB, состоящего из четырех функционально взаимосвязанных рецепторных молекул, которые играют важную роль в клеточной пролиферации, дифференцировке и апоптозе. Под

действием лигандов ERBB2 образует гетеродимеры с другими рецепторами данного семейства, приобретая мощный потенцирующий эффект на работу соответствующих сигнальных каскадов. Влияние ERBB2 может резко усиливаться при гиперэкспрессии гена. Суперэкспрессия ERBB2 повышает туморогенность клеток в культуре вследствие спонтанного фосфорилирования гетеродимеров, образуемых рецепторами, и включения соответствующих сигнальных каскадов, таких как MAPK и PI3K. При мутации в гене происходит активация сигнальных путей, инициирующих процессы злокачественной трансформации [29].

В 25 % случаев у пациентов с забрюшинными миксоидными липосарcomaми нами выявлена миссенс-мутация I655V (rs1136201) в 17 экзоне гена ERBB2. Анализируя значимость данной мутации, найдены многочисленные работы, в том числе метаанализы, демонстрирующие связь полиморфизма I655V гена ERBB2 с высоким риском развития рака молочной железы [30–34]. Также в 75 % случаев мы выявили миссенс-мутацию P1170A (rs1058808) в 27 экзоне гена ERBB2 у пациентов с забрюшинными миксоидными липосарcomaми. Представленная в NCBI исследовательская работа оценивает полиморфизм P1170A гена ERBB2 как фактор высокого риска развития рака легкого у населения Кореи [35]. Особый интерес представляет сочетание полиморфизмов rs1058808 и rs1136201 в опухоли. Авторы из Китая в своей работе экспонируют связь миссенс-мутаций I655V и P1170A в гене ERBB2 с высоким риском развития остеосаркомы [36].

Ген ALK (ENSG00000171094)

При молекулярно-генетическом тестировании опухолевой ткани забрюшинных миксоидных липосарком методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) мы выявили мутации в гене ALK: в 75 % случаев аберрации представлены синонимичной мутацией G845G(rs2256740) в 15 экзоне гена ALK, в 50 % случаев миссенс-мутацией K1491R(rs1881420) в 29 экзоне. Синонимичный вариант T1012T(rs2293563) в 18 экзоне гена ALK нами выявлен в 25 % случаев. Также у одного из четырех пациентов определен полиморфный вариант T1446T в 29 экзоне.

Ген ALK кодирует рецепторную тирозинкиназу (Anaplastic Lymphoma Kinase; киназа анапластической лимфомы). ALK может приобретать онкогенные свойства вследствие транслокации. Если в норме ферментативная активность ALK контролируется участками белка, расположенными в начале его аминокислотной последовательности, то в случае перестройки каталитического домена ALK оказывается прикреплённым к совершенно другой молекуле (чаще всего – к фрагменту белка EML4). В результате этого ALK теряет способность подчиняться физиологической регуляции и начинает непрерывно посылать пролиферативные

сигналы [36]. Мутации в гене ALK являются целями для терапии тирозинкиназными ингибиторами, такими как Crizotinib, Ceritinib, Alectinib, Brigatinib, Lorlatinib.

Ген BRAF (ENSG00000157764)

Синонимичная мутация G643G (rs9648696) в гене BRAF при забрюшинных миксоидных липосарcomaх нами выявлена в 75 % случаев. BRAF – ген, кодирующий белок B-Raf (серин/треонин-протеинкиназа) [38]. Белок B-Raf участвует в передаче внутриклеточных сигналов управления ростом клеток. В клетках с мутацией происходит активация сигнального пути и инициация процессов злокачественной трансформации [39]. Мутации в гене BRAF являются предметом для рассмотрения вопроса о включении в терапию ингибиторов тирозинкиназы (Dabrafenib, Trametinib).

Ген PDGFRA (ENSG00000134853)

Во всех 4 случаях (100 %) у пациентов с забрюшинными миксоидными липосарcomaх нами выявлена синонимичная мутация P567P (rs1873778) в 12 экзоне гена PDGFRA, который кодирует тирозинкиназный рецептор фактора роста тромбоцитов, являющегося митогенным для клеток мезенхимального происхождения. Исследования показывают, что ген PDGFRA играет

важную роль в развитии органов, заживлении ран и канцерогенезе. Мутации в гене PDGFRA связаны с идиопатическим гиперэозинофильным синдромом, соматическими и семейными желудочно-кишечными стромальными опухолями и многими другими злокачественными новообразованиями [40]. При наличии данной мутации у определенной категории пациентов возможно применение мультикиназных ингибиторов (Sunitinib)

Заключение

Проведенное исследование демонстрирует широкий спектр молекулярно-генетических перестроек при забрюшинных неорганных миксоидных липосарcomaх. Принимая во внимание данные мировой литературы, непосредственно связанные с выявленными нами полиморфизмами в различных генах, можно сделать выводы о том, что эти молекулярно-генетические изменения вовлечены в канцерогенез и могут стать как предиктивными, так и прогностическими факторами, а также и новыми терапевтическими целями. Необходимы дальнейшие исследования в данном направлении с включением большего количества пациентов и многофакторным анализом отдаленных результатов лечения.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. М., 2018. 236 с. [Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. The status of cancer care for the population of Russia in 2017. Moscow, 2018. 236 p. (in Russian)].
- Liles J.S., Tzeng C.W., Short J.J., Kulesza P., Heslin M.J. Retroperitoneal and intra-abdominal sarcoma. *Curr Probl Surg.* 2009 Jun; 46(6): 445–503. doi: 10.1067/j.cpsurg.2009.01.004.
- Thomas J.M. Retroperitoneal sarcoma. *Br J Surg.* 2007 Sep; 94(9): 1057–8. doi: 10.1002/bjs.5967.
- Dalal K.M., Kattan M.W., Antonescu C.R., Brennan M.F., Singer S. Subtype specific prognostic nomogram for patients with primary liposarcoma of the retroperitoneum, extremity, or trunk. *Ann Surg.* 2006 Sep; 244(3): 381–91. doi: 10.1097/01.sla.0000234795.98607.00.
- Fletcher C.D.M., Bridge J.A., Hogendoorn P., Mertens F. WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone. Geneva, 2013. 468 p.
- Lindberg M.R. Diagnostic Pathology: Soft Tissue Tumors. 2nd edition. Canada, 2015. 800 p.
- Evans H.L. Liposarcoma: a study of 55 cases with reassessment of its classification. *Am J Surg Pathol.* 1979 Dec; 3(6): 507–23. doi: 10.1097/0000478-197912000-00004.
- Aman P., Ron D., Mandahl N., Fioretos T., Heim S., Arheden K., Willén H., Rydholm A., Mitelman F. Rearrangement of the transcription factor gene CHOP in myxoid liposarcomas with t(12; 16)(q 13;p 11). *Genes Chromosomes Cancer.* 1992 Nov; 5(4): 278–85. doi: 10.1002/gcc.2870050403.
- Knight J.C., Renwick P.J., Dal Cin P., Van den Berghe H., Fletcher C.D. Translocation t(12; 16)(q 13;p 11) in myxoid liposarcoma and round cell liposarcoma: molecular and cytogenetic analysis. *Cancer Res.* 1995; 55: 24–7.
- Bonvalot S., Rivoire M., Castaing M., Stoeckle E., Le Cesne A., Blay J.Y., Laplanche A. Primary retroperitoneal sarcomas: a multivariate analysis of surgical factors associated with local control. *J Clin Oncol.* 2009 Jan 1; 27(1): 31–7. doi: 10.1200/JCO.2008.18.0802.
- Eilber F.C., Eilber F.R., Eckardt J., Rosen G., Riedel E., Maki R.G., Brennan M.F., Singer S. The impact of chemotherapy on the survival of patients with high-grade primary extremity liposarcoma. *Ann Surg.* 2004 Oct; 240(4): 686–95. doi: 10.1097/01.sla.0000141710.74073.0d.
- Gronchi A., Lo Vullo S., Fiore M., Mussi C., Stacchiotti S., Colini P., Loza L., Pennacchioli E., Mariani L., Casali P.G. Aggressive surgical policies in a retrospectively reviewed single-institution case series of retroperitoneal soft tissue sarcoma patients. *J Clin Oncol.* 2009 Jan 1; 27(1): 24–30. doi: 10.1200/JCO.2008.17.8871.
- Pervaiz N., Colterjohn N., Farrokhyar F., Tozer R., Figueredo A., Ghert M. A systematic meta-analysis of randomized controlled trials of adjuvant chemotherapy for localized resectable soft-tissue sarcoma. *Cancer.* 2008 Aug 1; 113(3): 573–81. doi: 10.1002/cncr.23592.
- Woll P.J., Reichardt P., Le Cesne A., Bonvalot S., Azzarelli A., Hoekstra H.J., Leahy M., Van Coevorden F., Verweij J., Hogendoorn P.C., Ouali M., Marreard S., Bramwell V.H., Hohenberger P.; EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group and the NCIC Clinical Trials Group Sarcoma Disease Site Committee. Adjuvant chemotherapy with doxorubicin, ifosfamide, and lenograstim for resected soft-tissue sarcoma (EORTC 62931): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2012 Oct; 13(10): 1045–54. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70346-7.
- Krikelis D., Judson I. Role of chemotherapy in the management of soft tissue sarcomas. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2010 Feb; 10(2): 249–60. doi: 10.1586/era.09.176.
- Jones R.L., Fisher C., Al-Muderis O., Judson I.R. Differential sensitivity of liposarcoma subtypes to chemotherapy. *Eur J Cancer.* 2005 Dec; 41(18): 2853–60. doi: 10.1016/j.ejca.2005.07.023.
- Li C., Shen Y., Ren Y., Liu W., Li M., Liang W., Liu C., Li F. Oncogene Mutation Profiling Reveals Poor Prognosis Associated with FGFR1/3 Mutation in Liposarcoma. *Hum Pathol.* 2016 Sep; 55: 143–50. doi: 10.1016/j.humpath.2016.05.006.
- Movva S., Wen W., Chen W., Millis S.Z., Gatalica Z., Reddy S., von Mehren M., Van Tine B.A. Multi-platform profiling of over 2000 sarcomas: Identification of biomarkers and novel therapeutic targets. *Oncotarget.* 2015 May 20; 6(14): 12234–47. doi: 10.18632/oncotarget.3498.
- Barretina J., Taylor B.S., Banerji S., Ramos A.H., Lagos-Quintana M., Decarolis P.L., Shah K., Socci N.D., Weir B.A., Ho A., Chiang D.Y., Reva B., Mermel C.H., Getz G., Antipin Y., Beroukhi R., Major J.E., Hatton C., Nicoletti R., Hanna M., Sharpe T., Fennell T.J., Cibulskis K., Onofrio R.C., Saito T., Shukla N., Lau C., Nelder S., Silver S.J., Sougnez C., Viale A., Winckler W., Maki R.G., Garraway L.A., Lash A., Greulich H., Root D.E., Sellers W.R., Schwartz G.K., Antonescu C.R., Lander E.S., Varmus H.E., Ladanyi M., Sander C., Meyerson M., Singer S. Subtype-specific genomic alterations define new targets for soft tissue sarcoma therapy. *Nat Genet.* 2010 Aug; 42(8): 715–21. doi: 10.1038/ng.619.
- Woodburn J.R. The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy. *Pharmacol Ther.* 1999 May-Jun; 82(2–3): 241–50. doi: 10.1016/s0163-7258(98)00045-x.
- Koh Y.W., Kim H.J., Kwon H.Y., Han J.H., Lee C.K., Lee M.S., Kim C.J., Baek M.J., Jeong D. Q787Q EGFR Polymorphism as a Prognostic Factor for Lung Squamous Cell Carcinoma. *Oncology.* 2016; 90(5): 289–98. doi: 10.1159/000444495.

22. Sasaki H., Endo K., Takada M., Kawahara M., Tanaka H., Kitahara N., Matsumura A., Iuchi K., Kawaguchi T., Okuda K., Kawano O., Yukiue H., Yokoyama T., Yano M., Fujii Y. EGFR polymorphism of the kinase domain in Japanese lung cancer. *J Surg Res.* 2008 Aug; 148(2): 260–3. doi: 10.1016/j.jss.2007.09.001.
23. Ma F., Sun T., Shi Y., Yu D., Tan W., Yang M., Wu C., Chu D., Sun Y., Xu B., Lin D. Polymorphisms of EGFR predict clinical outcome in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with Gefitinib. *Lung Cancer.* 2009 Oct; 66(1): 114–9. doi: 10.1016/j.lungcan.2008.12.025.
24. Wang W.S., Chen P.M., Chiou T.J., Liu J.H., Lin J.K., Lin T.C., Wang H.S., Su Y. Epidermal growth factor receptor R497K polymorphism is a favorable prognostic factor for patients with colorectal carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2007 Jun 15; 13(12): 3597–604. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2601.
25. Toomey S., Madden S.F., Furney S.J., Fan Y., McCormack M., Stapleton C., Cremona M., Cavalleri G.L., Milewska M., Elster N., Carr A., Fay J., Kay E.W., Kennedy S., Crown J., Gallagher W.M., Hennessy B.T., Eustace A.J. The impact of ERBB-family germline single nucleotide polymorphisms on survival response to adjuvant trastuzumab treatment in HER2-positive breast cancer. *Oncotarget.* 2016 Nov 15; 7(46): 75518–75525. doi: 10.18632/oncotarget.
26. Bashir N.A., Ragab E.S., Khabour O.F., Khassawneh B.Y., Alfaqih M.A., Momani J.A. The Association between Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Gene Polymorphisms and Lung Cancer Risk. *Biomolecules.* 2018 Jul 13; 8(3). pii: E53. doi: 10.3390/biom8030053.
27. Zhang J., Zhan Z., Wu J., Zhang C., Yang Y., Tong S., Sun Z., Qin L., Yang X., Dong W. Association among polymorphisms in EGFR gene exons, lifestyle and risk of gastric cancer with gender differences in Chinese Han subjects. *PLoS One.* 2013; 8(3): e59254. doi: 10.1371/journal.pone.0059254.
28. Fung C., Zhou P., Joyce S., Trent K., Yuan J.M., Grandis J.R., Weissfeld J.L., Romkes M., Weeks D.E., Egloff A.M. Identification of epidermal growth factor receptor (EGFR) genetic variants that modify risk for head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Lett.* 2015 Feb 28; 357(2): 549–56. doi: 10.1016/j.canlet.2014.12.008.
29. Harari D., Yarden Y. Molecular mechanisms underlying ErbB2/HER2 action in breast cancer. *Oncogene.* 2000; 19(53): 6102–14. doi: 10.1038/sj.onc.1203973.
30. AbdRaboh N.R., Shehata H.H., Ahmed M.B., Bayoumi F.A. HER1 R497K and HER2 I655V polymorphisms are linked to development of breast cancer. *Dis Markers.* 2013; 34(6): 407–17. doi: 10.3233/DMA-130989.
31. Tao W., Wang C., Han R., Jiang H. HER2 Codon 655 polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2009; 114(2): 371–6. doi: 10.1007/s10549-008-0010-9.
32. Lu S., Wang Z., Liu H., Hao X. HER2 Ile655Val polymorphism contributes to breast cancer risk: evidence from 27 case-control studies. *Breast Cancer Res Treat.* 2010 Dec; 124(3): 771–8. doi: 10.1007/s10549-010-0886-z.
33. Xie D., Shu X.O., Deng Z., Wen W.Q., Creek K.E., Dai Q., Gao Y.T., Jin F., Zheng W. Population-based, case-control study of HER2 genetic polymorphism and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst.* 2000 Mar 1; 92(5): 412–7. doi: 10.1093/jnci/92.5.412.
34. Kruszyna L., Lianeri M., Roszak A., Jagodziński P.P. HER2 codon 655 polymorphism is associated with advanced uterine cervical carcinoma. *Clin Biochem.* 2010 Apr; 43(6): 545–8. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2009.12.016.
35. Jo U.H., Han S.G., Seo J.H., Park K.H., Lee J.W., Lee H.J., Ryu J.S., Kim Y.H. The genetic polymorphisms of HER-2 and the risk of lung cancer in a Korean population. *BMC Cancer.* 2008 Dec 4; 8: 359. doi: 10.1186/1471-2407-8-359.
36. Xin D.J., Shen G.D., Song J. Single nucleotide polymorphisms of HER2 related to osteosarcoma susceptibility. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015 Aug; 8(8): 9494–9.
37. Pillai R.N., Ramalingam S.S. The Biology and Clinical Features of Non-small Cell Lung Cancers with EML4-ALK Translocation. *Curr Oncol Rep.* 2012 Apr; 14(2): 105–10. doi: 10.1007/s11912-012-0213-4.
38. Sithanandam G., Kolch W., Duh F.M., Rapp U.R. Complete coding sequence of a human B-raf cDNA and detection of B-raf protein kinase with isozyme specific antibodies. *Oncogene.* 1990 Dec; 5(12): 1775–80.
39. Davies H., Bignell G.R., Cox C., Stephens P., Edkins S., Clegg S., Teague J., Woffendin H., Garnett M.J., Bottomley W., Davis N., Dicks E., Ewing R., Floyd Y., Gray K., Hall S., Hawes R., Hughes J., Kosmidou V., Menzies A., Mould C., Parker A., Stevens C., Watt S., Hooper S., Wilson R., Jayatilake H., Gusterson B.A., Cooper C., Shipley J., Hargrave D., Pritchard-Jones K., Maitland N., Chenevix-Trench G., Riggins G.J., Bigner D.D., Palmieri G., Cossu A., Flanagan A., Nicholson A., Ho J.W., Leung S.Y., Yuen S.T., Weber B.L., Seigler H.F., Darrow T.L., Paterson H., Marais R., Marshall C.J., Wooster R., Stratton M.R., Futreal P.A. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature.* 2002 Jun 27; 417(6892): 949–54. doi: 10.1038/nature00766.
40. Lih C.J., Cohen S.N., Wang C., Lin-Chao S. The platelet-derived growth factor alpha-receptor is encoded by a growth-arrest-specific (gas) gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 May 14; 93(10): 4617–22. doi: 10.1073/pnas.93.10.4617.

Поступила/Received 18.06.2019
Принята в печать/Accepted 19.08.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Волков Александр Юрьевич, аспирант хирургического отделения № 6 (абдоминальной онкологии) торако-абдоминального отдела, НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: 79164577128@yandex.ru.

Сафронова Вера Михайловна, младший научный сотрудник лаборатории клинической онкогенетики отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей, НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 5645-2143. AuthorID (РИНЦ): 1034835.

Неред Сергей Николаевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник хирургического отделения № 6 (абдоминальной онкологии) торако-абдоминального отдела, НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4588-3230. AuthorID (РИНЦ): 394472.

Любченко Людмила Николаевна, доктор медицинских наук, доцент кафедры онкологии института клинической медицины, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (г. Москва, Россия); заведующая лабораторией клинической онкогенетики отдела морфологической и молекулярно-генетической диагностики опухолей, НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9589-9057. AuthorID (РИНЦ): 140311.

Стилиди Иван Сократович, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор, директор ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия); заведующий хирургическим отделением №6 (абдоминальной онкологии) торако-абдоминального отдела, НИИ КО им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 9622-7106. AuthorID (РИНЦ): 443520.

ВКЛАД АВТОРОВ

Волков Александр Юрьевич: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Сафронова Вера Михайловна: разработка концепции научной работы, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Неред Сергей Николаевич: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Любченко Людмила Николаевна: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Стилиди Иван Сократович: анализ научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Alexander Yu. Volkov, Postgraduate, Thoracic and Abdominal Department, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia). E-mail: 79164577128@yandex.ru.

Vera M. Safronova, Junior Researcher of the Laboratory of Clinical Oncogenetics, Department of Morphological and Molecular Genetic Diagnosis of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

Sergei N. Nered, MD, DSc, Leading Researcher, Thoracic and Abdominal Department, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

Lyudmila N. Lyubchenko, MD, DSc, Associate Professor, Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University) (Moscow, Russia); Head of the Laboratory of Clinical Oncogenetics of the Department of Morphological and Molecular Genetic Diagnosis of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

Ivan S. Stilidi, MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia); Head of Thoracic and Abdominal Department, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Health Ministry of Russia (Moscow, Russia).

AUTHOR CONTRIBUTION

Alexander Yu. Volkov: concept design, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Vera M. Safronova: concept design, statistical data analysis, drafting of the manuscript.

Sergei N. Nered: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Lyudmila N. Lyubchenko: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Ivan S. Stilidi: analysis of the study results, critical revision for the important intellectual content.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.