

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.311-002.157
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-278-288>

Поступила в редакцию 05.12.2022
Received 05.12.2022

**Н. А. Карпук¹, С. П. Рубникович², И. В. Жильцов¹, О. Ч. Мазур³,
И. Ю. Карпук¹, Е. П. Михаленко³**

¹Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

³Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗИ СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ С ФОРМИРОВАНИЕМ ЛЕЙКОПЛАКИИ И ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ

Аннотация. Молекулярно-генетические основы патогенеза лейкоплакий и плоскоклеточного рака слизистой оболочки ротовой полости (СОРП) недостаточно изучены. Исследований, посвященных данной проблеме, мало, а их результаты противоречивы. При этом ранняя диагностика рака СОРП и прогнозирование его развития являются важными проблемами здравоохранения.

Цель исследования – провести анализ взаимосвязи соматических мутаций с формированием лейкоплакии и плоскоклеточного рака слизистой оболочки ротовой полости.

Материалом для исследования являлись 48 образцов измененного эпителия СОРП пациентов с лейкоплакией СОРП (ЛСОРП) (24 образца) и с плоскоклеточным раком СОРП (ПРСОРП) (24 образца).

Выявленные в настоящем исследовании патогенные и вероятно патогенные варианты генов *TP53*, *NRAS* и *BRAF*, как поодиночке, так и в сочетаниях, с высокой вероятностью (ОР 3000–11000) ассоциированы с ЛСОРП с дисплазией эпителия первой степени, а варианты генов *ERCC3*, *HOXB13*, *KRAS*, *MSH3*, *MSH6*, *PIK3CA* и *TP53* с высокой вероятностью (ОР 90–22 000) ассоциированы с развитием ПРСОРП. Описанные патогенные варианты генов *KRAS* и *TP53*, как правило, приводят к формированию ЛСОРП с дисплазией эпителия первой степени, а последующее образование патогенных вариантов генов *PIK3CA* и/или *HOXB13* и *MSH3* вызывает злокачественную трансформацию измененных клеток эпителия СОРП ($p = 0,0000048$). Данная информация позволяет разработать тест-системы на основе ПЦР и NGS для ранней диагностики ПРСОРП и прогнозирования его развития.

Ключевые слова: ДНК-секвенирование, соматические мутации, лейкоплакия слизистой оболочки рта, плоскоклеточный рак слизистой оболочки рта

Для цитирования: Анализ взаимосвязи соматических мутаций с формированием лейкоплакии и плоскоклеточного рака слизистой оболочки ротовой полости / Н. А. Карпук [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. науки. – 2023. – Т. 20, № 4. – С. 278–288. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-278-288>

**Natalia A. Karpuk¹, Sergey P. Rubnikovich², Ivan V. Zhylytsou¹, Oksana C. Mazur³,
Ivan Yu. Karpuk¹, Alena P. Mikhalkenka³**

¹Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

³Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

ANALYSIS OF THE RELATIONSHIP OF SOMATIC MUTATIONS WITH THE DEVELOPMENT OF LEUKOPLAKIA AND SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE ORAL MUCOSA

Abstract. The molecular genetic basis for pathogenesis of leukoplakia and squamous cell carcinoma of the oral mucosa (OM) is not well understood. Few studies are devoted to this problem and their results are incomplete and contradictory. At the same time, the early diagnosis of OM cancer and the prediction of its development are important public health problems.

The aim of the study was to analyze the relationship of somatic mutations with the formation of leukoplakia and squamous cell carcinoma of the oral mucosa.

48 altered OM epithelium samples of patients with OM leukoplakia (OML) (24 samples) and OM squamous cell carcinoma (OMSCC) (24 samples) were taken as material for research.

The pathogenic and probably pathogenic variants of the *TP53*, *NRAS*, and *BRAF* genes identified in this study, both as one by one and in combination, are associated with high probability (RR 3000–11 000) with OML with grade 1 epithelial squamous intraepithelial neoplasia. Identified pathogenic and probably pathogenic variants of the *ERCC3*, *HOXB13*, *KRAS*, *MSH3*, *MSH6*, *PIK3CA*, and *TP53* genes are associated with a high probability (RR 90–22 000) with the OMSCC development. The observed pathogenic variants of the *KRAS* and *TP53* genes are highly likely to lead to the formation of OML with grade 1 squamous intraepithelial neoplasia of the epithelium; a subsequent formation of pathogenic variants of the *PIK3CA*

and/or HOXB13 and MSH3 genes leads to malignant transformation of altered OM epithelial cells ($p = 0.0000048$). This information allows designing PCR- and NGS-test systems for predicting the development and early diagnosis of OMSCC.

Keywords: DNA sequencing, somatic mutations, leukoplakia of the oral mucosa, squamous cell carcinoma of the oral mucosa

For citation: Karpuk N. A., Rubnikovich S. P., Zhylytsou I. V., Mazur O. C., Karpuk I. Yu., Mikhalenka A. P. Analysis of the relationship of somatic mutations with the development of leukoplakia and squamous cell carcinoma of the oral mucosa. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2023, vol. 20, no. 4, pp. 278–288 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-278-288>

Введение. Слизистая оболочка ротовой полости (СОРП) относится к тканям с высокой интенсивностью пролиферации, что резко увеличивает частоту накопления ошибок деления клеточной массы и способствует развитию диспластических процессов и озлокачествлению эпителиальной ткани [1]. Рак слизистой оболочки рта и губ составляет 3 % от всех случаев рака. Известно, что 1/9 всех заболеваний СОРП имеют высокий риск злокачественной трансформации [2].

Молекулярно-генетические механизмы развития лейкоплакий СОРП (ЛСОРП) практически не изучались. Результаты крайне немногочисленных исследований показывают, что в эпителиоцитах при ЛСОРП имеются патогенные мутации гена *TP53*, особенно часто они обнаруживаются при диспластических процессах в эпителии, у курящих и злоупотребляющих алкоголем лиц [3, 4]. Есть указания на то, что количество одновременно выявляемых при ЛСОРП мутаций гена *TP53* напрямую связано со степенью эпителиальной дисплазии, ввиду чего подобные мутации являются ранними событиями канцерогенеза СОРП [5]. Имеются также сведения о возможной роли мутаций гена *NOTCH1* в патогенезе злокачественного перерождения оральных лейкоплакий. Указанные мутации, по данным авторов, обнаруживаются в 60 % случаев предраковых заболеваний эпителия СОРП [6].

Систематический обзор, выполненный Warnakulasuriya с соавт., показал, что общая частота злокачественной трансформации лейкоплакий составляет 3,5 %, однако во включенных в обзор исследованиях она варьировалась от 0,13 до 34 % [7].

Исследования молекулярно-генетических механизмов развития плоскоклеточного рака СОРП (ПРСОРП) немногочисленны, характеризуются небольшим количеством обследованных пациентов и противоречивостью полученных результатов. Согласно результатам этих исследований, ПРСОРП может быть ассоциирован с мутациями в генах семейства *NOTCH* [6, 8], *MCM2* (с сопутствующей повышенной экспрессией данного гена) [9], *TP53* (описана патогенная мутация данного гена TP53Arg72Pro) [10], в генах *FBXL5*, *UGT2B15*, *UGT2B28*, *KANSL1*, *GSTT1* и *DUSP22* [11], в семействе генов *RAS* (*Ha-ras*, *Ki-ras* и *N-ras*) [12], в генах *FAT1* и *COL9A1* (генетические варианты rs28647489 и rs550675 соответственно) [13] и др.

В Республике Беларусь исследований подобного рода ранее не предпринималось. Можно предположить, что существуют региональные особенности генетических вариантов, ассоциированных с развитием ЛСОРП и ПРСОРП. Знание подобных вариантов позволило бы разработать тест-системы на основе ПЦР и NGS для выявления клинически значимых генетических вариантов, что, в свою очередь, позволило бы расширить и дополнить существующие протоколы по оказанию помощи пациентам с заболеваниями СОРП, прежде всего в аспекте ранней диагностики указанных заболеваний и прогнозирования особенностей их течения и исхода.

Цель исследования – провести анализ взаимосвязи соматических мутаций с формированием лейкоплакии и плоскоклеточного рака слизистой оболочки ротовой полости.

Материалы и методы исследования. Характеристика пациентов, включенных в исследование. В исследование было включено 24 пациента с морфологически верифицированным диагнозом ЛСОРП с дисплазией эпителия первой степени (15 мужчин, 9 женщин). Средний возраст пациентов составил 59 лет (min – 42 года, max – 72 года, 95 % ДИ: 57–65 лет). Во всех случаях имела место плоская форма ЛСОРП, наиболее распространенная в популяции.

Также в исследование было включено 24 пациента с установленным диагнозом рака СОРП (13 мужчин, 11 женщин). Средний возраст пациентов составил 60,5 года (min – 38 лет, max – 75 лет, 95 % ДИ: 55–65 лет). Во всех случаях имела место первичная опухоль; у 100 % пациентов был диагностирован плоскоклеточный рак.

Лабораторные методы исследования. *Выполнение биопсии СОРП.* Перед проведением биопсии проводили инфильтрационную анестезию. Для этого вводили 0,3–1 мл анестетика под неизменную слизистую оболочку на расстоянии 2–3 мм от элемента поражения на глубину приблизительно 2 мм и продвигали иглу под элементом поражения под слизистой оболочкой на протяжении 5 мм, приподнимая за счет давления анестетика пораженного участка СОРП на 1–3 мм. Участок СОРП иссекали с помощью скальпеля, делая два сходящихся полуовальных разреза. Размер биоптата зависел от размера очага поражения. При невозможности получения полноценного биоптата пациента исключали из исследования.

Биоптат СОРП делили на две равные части, одну из которых погружали в 10%-ный забуференный формалин (для получения гистологических и иммуногистохимических препаратов), а вторую переносили в пробирку Эппендорфа объемом 1,5 мл, заполненную буфером-стабилизатором нуклеиновых кислот, например буфером VXL (Qiagen, Германия), инактивирующим нуклеазы, после чего образец ткани транспортировали в молекулярно-генетическую лабораторию для экстракции ДНК.

Послеоперационную рану промывали раствором антисептика и накладывали 2–3 отдельных узловых шва.

Выделение ДНК из биопсийного материала слизистой оболочки ротовой полости и крови, секвенирование ДНК. Для выделения ДНК использовали набор QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen, Германия).

Все операции по экстракции ДНК из биологических образцов и подготовке ДНК-библиотек к секвенированию выполняли пошагово, в строгом соответствии с инструкциями по применению, прилагаемыми производителем (QIAGEN, Германия) к набору реагентов QIAamp DNA FFPE Tissue Kit для экстракции ДНК [14]. Таргетное ДНК-секвенирование выполняли при помощи высокопроизводительного секвенатора Illumina NextSeq 550 с применением набора реагентов для таргетного секвенирования TruSight™ Oncology 500 DNA Kit, For Use with NextSeq, который позволяет устанавливать первичные нуклеотидные последовательности 523 генов, ассоциированных с канцерогенезом. Процедуру секвенирования выполняли пошагово, в строгом соответствии с инструкцией, прилагаемой производителем (Illumina, Inc., США) к набору реагентов TruSight™ Oncology 500 DNA Kit, For Use with NextSeq [15].

Биоинформационный анализ. Биоинформационный анализ результатов ДНК-секвенирования выполняли с помощью специализированных комплексов программного обеспечения Illumina BaseSpace и Galaxy Project и в соответствии с актуальными методическими рекомендациями [16–18].

Статистическая обработка данных. Для статистической обработки данных использовали специализированные программные пакеты STATISTICA (версия 12) и MedCalc (версия 18.9.1). Центральную тенденцию и разброс значений анализируемых количественных показателей описывали в виде медианно-квартильных характеристик: медианы, 25-го и 75-го квартилей. Для сравнения категориальных переменных использовали критерий χ^2 и точный тест Фишера, для выявления статистической значимости различий количественных признаков – *U*-тест Манна–Уитни, для выявления генетических вариантов, статистически значимо ассоциированных с развитием плоскоклеточного рака СОРП, – корреляционный анализ Спирмена, а также логистический регрессионный анализ. В регрессионный анализ включали показатели с уровнем значимости $p < 0,1$. Для оценки влияния отдельных генетических вариантов на вероятность развития изучаемой патологии рассчитывали отношения шансов (ОШ) и отношения рисков (ОР), а также их 95%-ные доверительные интервалы (ДИ). Во всех случаях выявленные закономерности считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$, при этом оптимальным уровнем значимости, общепризнанным среди биоинформатиков и однозначно указывающим на наличие взаимосвязи между генетическим вариантом и фенотипом, считали $p \leq 5 \cdot 10^{-8}$ [19].

Результаты и их обсуждение. Результаты биоинформационного анализа данных таргетного секвенирования образцов тканей лейкоплакии СОРП приведены в табл. 1.

Как следует из табл. 2, варианты генов *ALK* и *MET*, выявленные в настоящем исследовании, встречаются в популяции очень часто (это особенно справедливо для мутации гена *MET* 2:g.29193615T>C, которая встречается у трети населения земного шара, ввиду чего с очень

Т а б л и ц а 1. Патогенные и вероятно патогенные генетические варианты, выявленные в образцах тканей пациентов с ЛСОРП

T a b l e 1. Pathogenic and probably pathogenic genetic variants detected in tissue samples of patients with OML

Ген	Тип мутации, ее хромосомная локализация	Последствия мутации
KRAS proto-oncogene, GTPase (KRAS)	ОНП 12:g.25245347C>T	Миссенс: p.Gly13Asp
	ОНП 12:g.25245350C>T	Миссенс: p.Gly12Asp
	ОНП 12:g.25245350C>A	Миссенс: p.Gly12Val
	ОНП 12:g.25245351C>A	Миссенс: p.Gly12Cys
	ОНП 12:g.25245284G>T	Миссенс: p.Pro34Gln
NRAS proto-oncogene, GTPase (NRAS)	ОНП 1:g.114716126C>T	Миссенс: p.Gly12Asp
B-Raf proto-oncogene, serine/ threonine kinase (BRAF)	ОНП 7:g.14075336A>T	Миссенс: p.Val640Glu
Tumor protein p53 (TP53)	ОНП 17:g.7673803G>A	Миссенс: p.Arg273Cys
	ОНП 17:g.7675088C>T	Миссенс: p.Arg175His
	ОНП 17:g.7674220C>T	Миссенс: p.Arg248Gln
Catenin beta 1 (CTNNB1)	ОНП 3:g.41224633A>G	Миссенс: p.Thr41Ala
ASXL transcriptional regulator 1 (ASXL1)	Делеция 20:g.32433361TC>T	Сдвиг рамки чтения: p.Pro389GlnfsTer73
	ОНП 20:g.32433573G>T	Миссенс: p.Ala459Ser

П р и м е ч а н и е. ОНП – однонуклеотидный полиморфизм. Тип мутации обозначен как номер хромосомы (номер позиции нуклеотида в геноме) по номенклатуре HUGO, соответствующей началу генетического варианта (вид нуклеотидной замены или сдвига). Изменения в белковых продуктах соответствующих генов вследствие мононуклеотидных полиморфизмов обозначены как исходная аминокислота (номер позиции этой аминокислоты в белковой молекуле – аминокислота, заменившая исходную).

высокой вероятностью является доброкачественной). Вследствие этого разница между частотами их встречаемости в изученной выборке пациентов с ЛСОРП и в генеральной совокупности статистически незначима; соответственно, данные генетические варианты не могут быть ассоциированы с ЛСОРП.

Результаты биоинформационного анализа данных таргетного секвенирования образцов тканей ПРСОРП представлены в табл. 3.

Помимо вышеперечисленных патогенных генетических вариантов, в ходе анализа данных таргетного секвенирования нами выявлены и вероятно патогенные варианты, которые тоже могут быть ассоциированы с формированием ПРСОРП (табл. 4).

Анализ взаимосвязи между выявленными патогенными и вероятно патогенными генетическими вариантами, лейкоплакией и плоскоклеточным раком слизистой оболочки ротовой полости. Большинство патогенных и вероятно патогенных генетических вариантов, выявленных в ходе исследования, встречалось у единичных пациентов с ЛСОРП и ПРСОРП. Относительно часто встречались патогенные и вероятно патогенные варианты генов *TP53*, *KRAS*, *APC* и *PIC3CA* (табл. 5).

Из табл. 5 следует, что наиболее часто у пациентов с ЛСОРП и ПРСОРП наблюдались патогенные и вероятно патогенные варианты генов *KRAS* и *TP53*. При этом разница в частоте встречаемости вариантов между группами была статистически незначима. Обнаружена статистически

Таблица 2. Сравнительная частота встречаемости патогенных и вероятно патогенных генетических вариантов, выявленных в выборке пациентов с ЛСОП и в человеческой популяции в целом

Table 2. Comparative frequency of occurrence of pathogenic and probably pathogenic genetic variants identified in a sample of patients with OML and in the human population as a whole

Ген	Тип мутации	Частота gnomAD, %	Частота в выборке, n (%)	ОР (95 % ДИ) ОШ (95 % ДИ)
<i>KRAS</i>	12:g.25245347C>T (p.Gly13Asp)	Нет данных	1 (4,17)	–
	12:g.25245350C>T (p.Gly12Asp)	0,0004	3 (12,50)	9519 (1026–88314) 10879 (1087–108869)
	12:g.25245350C>A (p.Gly12Val)	Нет данных	4 (16,67)	–
	12:g.25245351C>A (p.Gly12Cys)	Нет данных	1 (4,17)	–
	12:g.25245284G>T (p.Pro34Gln)	Нет данных	1 (4,17)	–
<i>TP53</i>	17:g.7673803G>A (p.Arg273Cys)	0,0012	2 (8,33)	6346 (595–67680) 6923 (605–79161)
	17:g.7675088C>T (p.Arg175His)	0,0004	2 (8,33)	6346 (595–67680) 6923 (605–79161)
	17:g.7674220C>T (p.Arg248Gln)	0,00119	1 (4,17)	3173 (204–49281) 3311 (201–54550)
	17:g.7673704G>A (p.Arg306Ter)	Нет данных	1 (4,17)	–
	17:g.7673717TG>T (p.Pro301GlnfsTer44)	Нет данных	1 (4,17)	–
	17:g.7670685G>A (p.Arg342Ter)	Нет данных	1 (4,17)	–
	17:g.7674894G>A (p.Arg213Ter)	Нет данных	1 (4,17)	–
	17:g.7673824C>T (p.Gly266Arg)	Нет данных	1 (4,17)	–
	17:g.7675085C>A (p.Cys176Phe)	0,0004	1 (4,17)	3173 (204–49281) 3311 (201–54550)
<i>APC</i>	5:g.112839606C>T (p.Gln1338Ter)	0,0004	1 (4,17)	3173 (204–49281) 3311 (201–54550)
	5:g.112828889C>T (p.Arg554Ter)	Нет данных	1 (4,17)	–
	5:g.112839942C>T (p.Arg1450Ter)	Нет данных	1 (4,17)	–
<i>ASXL1</i>	20:g.32433361TC>T (p.Pro389GlnfsTer73)	Нет данных	1 (4,17)	–
	20:g.32433573G>T (p.Ala459Ser)	Нет данных	1 (4,17)	–
<i>NRAS</i>	1:g.114716126C>T (p.Gly12Asp)	0,0008	1 (4,17)	3173 (204–49281) 3311 (201–54550)
	1:g.114713908T>A (p.Gln61Leu)	Нет данных	1 (4,17)	–
<i>BRAF</i>	7:g.140753336A>T (p.Val640Glu)	0,0004	2 (8,33)	6346 (595–67680) 6923 (605–79161)
<i>ALK</i>	2:g.29193615T>C (p.Lys1491Arg)	27,9	1 (4,17)	0,15 (0,022–1,017)* 0,11 (0,015–0,83)
<i>CTNNB1</i>	3:g.41224633A>G (p.Thr41Ala)	Нет данных	1 (4,17)	–
<i>MET</i>	7:g.116771936C>T (p.Thr992Ile)	0,7891	1 (4,17)	5,28 (0,77–36,03)* 5,47 (0,74–40,54)*
<i>PIK3CA</i>	3:g.179234302G>C (p.Gly1049Arg)	Нет данных	1 (4,17)	–
<i>PTEN</i>	10:g.87952142C>T (p.Arg173Cys)	Нет данных	1 (4,17)	–

Примечание. ОР – отношение рисков, ОШ – отношение шансов, «Нет данных» – сведения о частоте данной мутации в человеческой популяции в базе данных gnomAD отсутствуют (т. е. ОР и ОШ рассчитать невозможно).
* – показатель статистически незначим (диапазон значений доверительного интервала включает в себя ОР, ОШ).

Т а б л и ц а 3. Патогенные генетические варианты, выявленные в ходе таргетного секвенирования образцов тканей ПРСОРП ($n = 24$)T a b l e 3. Pathogenic genetic variants identified during targeted sequencing of OMSCC tissue samples ($n = 24$)

Ген	Вариант гена	Последствия мутации
<i>APC</i>	5:g.112175423C>T	p.Gln1378Ter (формирование стоп-кодона, терминация синтеза белка)
<i>TP53</i>	17:g.7577538C>T	p.Arg248Gln (замена одной аминокислоты в кодируемом белке)
<i>MSH2</i>	2:g.47657020C>T	p.Arg406Ter (формирование стоп-кодона, терминация синтеза белка)
<i>MSH3</i>	5:g.79970914CA>C	p.Lys383ArgfsTer32 (сдвиг рамки чтения с образованием аномального белкового продукта в ходе трансляции гена)
<i>MSH6</i>	2:g.48030639A>AC	p.Phe1088LeufsTer5 (сдвиг рамки чтения с образованием аномального белкового продукта в ходе трансляции гена)
<i>PTEN</i>	10:g.89720726G>T	p.Gly293Ter (формирование стоп-кодона, терминация синтеза белка)
<i>KRAS</i>	12:g.25398284C>T 12:g.25398281C>T	p.Gly13Asp, p.Gly12Asp (замена одной аминокислоты в кодируемом белке)
<i>ERCC3</i>	2:g.128044348G>A	p.Arg425Ter (формирование стоп-кодона, терминация синтеза белка)
<i>SMARCA4</i>	19:g.11130337C>T	p.Thr859Met (замена одной аминокислоты в кодируемом белке)

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 4: генетический вариант обозначен как номер хромосомы (номер позиции нуклеотида, соответствующего началу генетического варианта в геноме) по номенклатуре HUGO (вид нуклеотидной замены или сдвига); изменения в белковых продуктах соответствующих генов вследствие однонуклеотидных полиморфизмов обозначены как исходная аминокислота (номер позиции этой аминокислоты в белковой молекуле – аминокислота, заменившая исходную).

Т а б л и ц а 4. Вероятно патогенные генетические варианты, выявляемые у пациентов с ПРСОРП

T a b l e 4. Probably pathogenic genetic variants detected in patients with OMSCC

Ген	Вариант гена	Последствия мутации
<i>PIK3CA</i>	3:g.178936091G>A 3:g.178936096G>T	p.Glu545Lys p.Gln546His (замена одной аминокислоты в кодируемом белке)
<i>KRAS</i>	12:g.25380275T>A	p.Gln61His (замена одной аминокислоты в кодируемом белке)
<i>TP53</i>	17:g.7578431G>A	p.Gln167Ter (формирование стоп-кодона, терминация синтеза белка)
<i>HOXB13</i>	17:g.46805705C>T	p.Gly84Glu (замена одной аминокислоты в кодируемом белке)
<i>PTCH1</i>	9:g.98209362GT>G	p.Asn1392ThrfsTer60 (сдвиг рамки чтения с образованием аномального белкового продукта в ходе трансляции)
<i>NOTCH3</i>	19:g.15302831G>T	p.Arg207Ser (замена одной аминокислоты в кодируемом белке)

Т а б л и ц а 5. Сравнительная частота встречаемости патогенных и вероятно патогенных генетических вариантов, выявленных в образцах тканей пациентов с ЛСОРП и ПРСОРП

T a b l e 5. Comparative frequency of occurrence of pathogenic and probably pathogenic genetic variants detected in tissue samples of patients with OML and OMSCC

Ген	Частота генетических вариантов, n (%)		Статистическая значимость различий, p (точный тест Фишера)
	ЛСОРП	ПРСОРП	
<i>KRAS</i>	10 (41,67)	12 (50,0)	0,77
<i>TP53</i>	11 (45,83)	10 (41,67)	1,0
<i>APC</i>	3 (12,50)	6 (25,0)	0,46
<i>ASXL1</i>	2 (8,33)	0	0,48
<i>NRAS</i>	2 (8,33)	0	0,48
<i>BRAF</i>	2 (8,33)	0	0,48
<i>ALK</i>	1 (4,17)	0	0,5
<i>CTNNB1</i>	1 (4,17)	0	0,5
<i>MET</i>	1 (4,17)	0	0,5
<i>PIK3CA</i>	1 (4,17)	11 (45,83)	0,0018*
<i>PTEN</i>	1 (4,17)	4 (16,67)	0,35
<i>HOXB13</i>	0	4 (16,67)	0,11

Окончание табл. 5

Ген	Частота генетических вариантов, n (%)		Статистическая значимость различий, <i>p</i> (точный тест Фишера)
	ЛСОРП	ПРСОРП	
<i>MSH3</i>	0	4 (16,67)	0,11
<i>MSH2</i>	0	3 (12,50)	0,23
<i>ERCC3</i>	0	2 (8,33)	0,48
<i>SMARCA4</i>	0	2 (8,33)	0,48
<i>NOTCH3</i>	0	2 (8,33)	0,48
<i>MSH6</i>	0	1 (4,17)	0,5
<i>PTCH1</i>	0	1 (4,17)	0,5

Примечание. * – разница статистически значима ($p \leq 0,05$).

В табл. 6 представлены результаты корреляционного анализа Спирмена, выполненного с целью поиска статистических взаимосвязей между выявлением патогенных и вероятно патогенных вариантов определенных генов и наличием у пациентов ЛСОРП и ПРСОРП.

Таблица 6. Корреляционный анализ взаимосвязей между выявлением патогенных/вероятно патогенных вариантов различных генов и наличием у пациентов ЛСОРП и ПРСОРП

Table 6. Correlation analysis of the relationship between the detection of pathogenic/probably pathogenic variants of various genes and the presence of OML and OMSCC in patients

Пары переменных	<i>N</i>	Коэффициент корреляции (Rho Спирмена)	<i>p</i>
Плоскоклеточный рак & <i>TP53</i>	48	-0,017	0,91
Плоскоклеточный рак & <i>KRAS</i>	48	0,084	0,57
Плоскоклеточный рак & <i>APC</i>	48	0,16	0,28
Плоскоклеточный рак & <i>PIK3CA</i>	48	0,48	0,00054*
Плоскоклеточный рак & <i>PTEN</i>	48	0,20	0,16
Плоскоклеточный рак & <i>HOXB13</i>	48	0,30	0,037*
Плоскоклеточный рак & <i>MSH3</i>	48	0,30	0,037*
Лейкоплакия & <i>TP53</i>	48	0,017	0,91
Лейкоплакия & <i>KRAS</i>	48	-0,084	0,57
Лейкоплакия & <i>APC</i>	48	-0,16	0,28
Лейкоплакия & <i>PIK3CA</i>	48	-0,48	0,00054*
Лейкоплакия & <i>PTEN</i>	48	-0,20	0,16
Лейкоплакия & <i>HOXB13</i>	48	-0,30	0,037*
Лейкоплакия & <i>MSH3</i>	48	-0,30	0,037*

Примечание. * – разница статистически значима ($p \leq 0,05$).

значимая разница в частоте встречаемости патогенных и вероятно патогенных вариантов гена *PIK3CA*, которые были выявлены почти у 11 пациентов с ПРСОРП и только у 1 пациента с ЛСОРП ($p = 0,0018$, Fisher's exact test).

Патогенные варианты прочих генов встречались в выборке слишком редко, чтобы надежно ассоциировать их с изучаемой патологией.

Из представленных в табл. 6 данных видно, что патогенные и вероятно патогенные варианты по крайней мере трех из перечисленных в таблице генов статистически значимо ассоциированы с наличием ПРСОРП – *PIK3CA* ($R = 0,48$, $p = 0,00054$), *HOXB13* и *MSH3* (для обоих $R = 0,30$, $p = 0,037$). Во всех перечисленных случаях вычисленный показатель p превышает уровень значимости, рекомендованный для исследований взаимозависимости между генотипом и фенотипом ($\alpha \leq 5 \cdot 10^{-8}$), что связано с относительно небольшим размером использованной выборки. Тем не менее следует все же принять во внимание выявленную взаимосвязь между наличием патогенных вариантов гена *PIK3CA* и ПРСОРП, поскольку уровень значимости данной зависимости достаточно высок для биомедицинских исследований ($p = 0,00054$), а коэффициент корреляции – средней силы.

Логістычны рэгрэсійны аналіз, выкананы шляхам паслядоўнага ўключэння ў рэгрэсійнае ўраўненне варыянтаў генаў з табл. 6 ў якасці незалежных катэгорыяльных пераменных, паказаў, што толькі патогенныя і верагодна патогенныя варыянты генаў *PIC3CA* ($p = 0,00039$), *HOXB13* ($p = 0,015$) і *MSH3* ($p = 0,015$) статыстычна значыма асацыяваны з наяўнасцю ў пацыентаў ПРСОРП; патогенныя і верагодна патогенныя варыянты прачых генаў, уключаных у аналіз, не асацыяваны з наяўнасцю ПРСОРП. Пры імяжыванні ў якасці прадиктара наяўнасця ПРСОРП камбінацыі патогенных і верагодна патогенных варыянтаў всех трох генаў (*PIC3CA*, *HOXB13* і *MSH3*) адначасова статыстычная значымоць мадэлі сутэственна возрасае ($p = 0,0000048$). Пры гэтым дабаваенне к даннай камбінацыі варыянтаў любых другіх генаў толькі ухужашае якасць мадэлі. Соотвественно, рэгрэсійная мадэль, уключаючая патогенныя і верагодна патогенныя варыянты генаў *PIC3CA*, *HOXB13* і *MSH3*, была прынята дастаточнай па крытэрыю «скупості» (простоты). Чувствительность данной модели составляет 70,8 % (правільна класіфіцыравана 17 случаев наяўнасця ПРСОРП з 24), спецыфічнасць – 95,8 % (правільна класіфіцыравана 23 случая адсутствія ПРСОРП з 24); адношэнне несогласія для даннай мадэлі складае 55,9, што указывае на дастаточна высокае якасць пастроенай мадэлі (прыблізна ў 56 раз лухше, чым еслі бы класіфікацыя сабытій была прайзведана наугад). Диагностическая эффективность модели составляет 83,33 % (доля правильно классифицированных случаев от общего количества наблюдений в выборке). Общая доля объясненной дисперсии, или коэффициент детерминации R^2 модели, составляет 80,45 %, што являеца хорашым паказателем (значення ў інтэрвале 50–80 % счлтаюцца прыемлемымі для біомедыцынскіх іслעדзаваній, >80 % – хорашымі).

На аснове рэзультаў выкананага намі логістычнага рэгрэсійнага аналіза мажно ўтверджаць, што адначасовае выяўленне ў змяненых клетках эпителиа СОПП патогенных і/або верагодна патогенных варыянтаў генаў *PIC3CA*, *HOXB13* і *MSH3* статыстычна значыма асацыявана з наяўнасцю ў пацыента ПРСОРП. Патогенныя і верагодна патогенныя варыянты даных генаў асацыяваны з наяўнасцю ў пацыента ПРСОРП і пры выяўленні іх незалежыма друг ад друга, но статыстычная значымоць такой асацыяцыі сутэственна ніжэ.

К сожалению, оценить влияние различных генетических вариантов на процесс эпителиальной дисплазии и развитие ЛСОПП не представлялось возможным, поскольку в изученной нами выборке отсутствовали здоровые лица, которые могли бы составить контрольную группу. Тем не менее, если вернуться к табл. 2, видно, что патогенные и вероятно патогенные варианты генов *KRAS*, *TP53*, *APC*, *NRAS*, *BRAF* встречаются у пациентов с ЛСОПП на три-четыре порядка чаще, чем в человеческой популяции в целом, что может указывать на ассоциацию указанных генетических вариантов с развитием дисплазии при ЛСОПП. Особо обращают на себя внимание патогенные варианты генов *KRAS* и *TP53*, которые, с одной стороны, достаточно часто встречаются у пациентов как с ЛСОПП, так и с ПРСОРП, а с другой стороны – регистрируются в данных клинических группах пациентов с сопоставимой частотой (см. табл. 5).

Как известно, ген *KRAS* действует как «молекулярный переключатель», который активирует белки, необходимые для распространения факторов роста и работы других сигнальных путей, таких как c-Raf и PI3-kinase [20]. Белковый продукт гена *TP53* – фактор, который запускает транскрипцию группы генов и активируется при накоплении повреждений ДНК. Результатом активации p53 является остановка клеточного цикла и репликации ДНК, а при сильном стрессовом сигнале запускается апоптоз [21]. Ген *PIC3CA* (ключевое звено сигнального пути *PI3K/AKT/mTOR*, который является универсальным) характерен для большинства клеток и отвечает за уход от апоптоза, регуляцию роста и пролиферации [22]. Ген *HOXB13* кодирует фактор транскрипции, который участвует в развитии кожи плода и в регенерации кожи в постнатальном периоде [23, 24]. Белковый продукт гена *MSH3* является частью пострепликативной системы репарации длинных петель вставки/делеции и ошибочного спаривания нуклеотидов преимущественно в микросателлитных участках ДНК [25].

Соответственно, имеются все основания предположить, что нарушение функции генов *KRAS* (отвечает за регуляцию роста, пролиферации и дифференцировки клеток) и *TP53* (отвечает за регуляцию репликации ДНК, апоптоза клеток и репарации поврежденной ДНК) вследствие

образования их патогенных вариантов приводит к клеточной дисплазии и формированию ЛСОРП с плоскоклеточной интраэпителиальной неоплазией эпителия первой степени. Дополнительное же образование патогенных вариантов генов *PIC3CA* (также отвечает за регуляцию апоптоза, роста и пролиферации клеток) и/или *HOXB13* (отвечает за регуляцию регенерации эпителия и эпидермиса) и *MSH3* (регулирует пострепликативную репарацию ДНК) приводит к злокачественной трансформации измененных клеток эпителия СОРП, ранее подвергшихся диспластическим процессам. Такая трактовка наших результатов соответствует господствующему в настоящее время варианту мутационной теории канцерогенеза – так называемой гипотезе «двойного удара» Альфреда Кнудсона, согласно которой для того, чтобы завершить процесс начавшейся неоплазии, требуется от трех до шести последовательных генетических повреждений [26].

Заключение. Наличие патогенных вариантов генов *KRAS* и *TP53*, как правило, приводит к клеточной дисплазии и формированию ЛСОРП с дисплазией эпителия первой степени, а последующее образование патогенных вариантов генов *PIC3CA* и/или *HOXB13* и *MSH3* вызывает злокачественную трансформацию измененных клеток эпителия СОРП ($p = 0,0000048$). Такая последовательность событий соответствует господствующему в настоящее время варианту мутационной теории канцерогенеза – гипотезе «двойного удара Альфреда Кнудсона».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена в рамках Государственной программы научных исследований «Установить спектр мутаций эпителия у пациентов с лейкоплакией слизистой оболочки рта» (№ ГР 20200246 от 02.03.2020).

Acknowledgements. The work was carried out within the framework of the state research program “To establish the spectrum of epithelial mutations in patients with leukoplakia of the oral mucosa” (No. GR 20200246 dated of 02.03.2020).

Список использованных источников

1. van der Waal, I. Oral leukoplakia: Present views on diagnosis, management, communication with patients, and research / I. van der Waal // *Curr. Oral Health Rep.* – 2019. – Vol. 6. – P. 9–13. <https://doi.org/10.1007/s40496-019-0204-8>
2. Kalavrezos, N. Mouth cancer for clinicians. Part 1: Cancer / N. Kalavrezos, C. Scully // *Dent. Update.* – 2015. – Vol. 42, N 3. – P. 250–260. <https://doi.org/10.12968/denu.2015.42.3.250>
3. Detection of TP53-mutations in brush biopsies from oral leukoplakias / C. Scheifele [et al.] // *Mund. Kiefer. Gesichtschir.* – 2002. – Vol. 6, N 6. – P. 410–414. <https://doi.org/10.1007/s10006-002-0425-0>
4. Specific characteristics of rapid diagnosis in periodontology / S. P. Rubnikovich [et al.] // *Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук.* – 2021. – Т. 18, № 2. – С. 196–203. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-2-196-203>
5. Reddy, V. M. p53 immunoprofiling of potentially malignant oral disorders: a case series analysis / V. M. Reddy, A. Kamath, R. A. Radhakrishnan // *Indian J. Cancer.* – 2012. – Vol. 49, N 1. – P. 27–32. <https://doi.org/10.4103/0019-509X.98913>
6. Notch1 mutations are drivers of oral tumorigenesis / E. Izumchenko [et al.] // *Cancer Prev. Res. (Phila).* – 2015. – Vol. 8, N 4. – P. 277–286. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-14-0257>
7. Warnakulasuriya, S. Malignant transformation of oral leukoplakia: a systematic review of observational studies / S. Warnakulasuriya, A. Ariyawardana // *J. Oral Pathol. Med.* – 2016. – Vol. 45, N 3. – P. 155–166. <https://doi.org/10.1111/jop.12339>
8. Роль белков NOTCH в процессах канцерогенеза / М. В. Новикова [и др.] // *Успехи молек. онкол.* – 2015. – Т. 2, № 3. – С. 30–42.
9. Minichromosome maintenance-2 (MCM2) expression differentiates oral squamous cell carcinoma from pre-cancerous lesions / S. M. Razavi [et al.] // *Malays. J. Pathol.* – 2015. – Vol. 37, N 3. – P. 253–258.
10. Association between p53 Arg72Pro polymorphism and the risk of human papillomavirus-related head and neck squamous cell carcinoma: a meta-analysis / L. Y. Xia [et al.] // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* – 2013. – Vol. 14, N 10. – P. 6127–6130. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2013.14.10.6127>
11. Genomic profile of oral squamous cell carcinomas with an adjacent leukoplakia or with an erythroleukoplakia that evolved after the treatment of primary tumor: A report of two cases / I. P. Ribeiro [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2017. – Vol. 16, N 5. – P. 6780–6786. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7428>
12. Analysis of ras oncogene mutations in human squamous cell carcinoma of the head and neck / F. Núñez [et al.] // *Surg. Oncol.* – 1992. – Vol. 1, N 6. – P. 405–411. [https://doi.org/10.1016/0960-7404\(92\)90043-k](https://doi.org/10.1016/0960-7404(92)90043-k)
13. Variants in FAT1 and COL9A1 genes in male population with or without substance use to assess the risk factors for oral malignancy / C. M. Chung [et al.] // *PLoS ONE.* – 2019. – Vol. 14, N 1. – P. e0210901. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210901>
14. QIAamp® DNA FFPE Tissue Handbook (February 2020) [Electronic resource]. – Mode of access: <https://www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/dna-rna-purification/dna-purification/genomic-dna/qiaamp-dna-ffpe-tissue-kit/>. – Date of access: 27.10.2022.

15. Illumina TruSight Oncology 500 Reference Guide [Electronic resource]. – Mode of access: https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/trusight/oncology-500/trusight-oncology-500-reference-guide-1000000067621_07.pdf. – Date of access: 26.05.2021.
16. Экспериментальное обоснование применения мезенхимальных стволовых клеток для восстановления тканей периодонта / Ю. Л. Денисова [и др.] // Мед. вестн. Север. Кавказа. – 2020. – Т. 15, № 3. – С. 333–337.
17. Каюмов, А. Р. Молекулярный анализ генома: учеб.-метод. пособие / А. Р. Каюмов. – Казань : Казань, Казан. федер. ун-т. – 2016. – 60 с.
18. Next generation sequencing for the detection of actionable mutations in solid and liquid tumors / A. J. Fox [et al.] // J. Vis. Exp. – 2016. – Vol. 115. – P. e52758. <https://doi.org/10.3791/52758>
19. Assessing statistical significance in multivariable genome wide association analysis / L. Buzdugan [et al.] // Bioinformatics. – 2016. – Vol. 32, N 13. – P. 1990–2000. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw128>
20. Evaluation of KRAS concomitant mutations in advanced lung adenocarcinoma patients / V. Aran [et al.] // Medicina (Kaunas). – 2021. – Vol. 57, N 10. – P. 1039–1048. <https://doi.org/10.3390/medicina57101039>
21. Lane, D. P. p53: oncogene or anti-oncogene? / D. P. Lane, S. Benchimol // Genes Dev. – 1990. – Vol. 4, N 1. – P. 1–8. <https://doi.org/10.1101/gad.4.1.1>
22. Canaud, G. A review of mechanisms of disease across PIK3CA-related disorders with vascular manifestations / G. Canaud, A. M. Hammill, D. Adams // Orphanet J. Rare Dis. – 2021. – Vol. 16, N 1. – P. 306–316. <https://doi.org/10.1186/s13023-021-01929-8>
23. Oncoprotein HBXIP enhances HOXB13 acetylation and co-activates HOXB13 to confer tamoxifen resistance in breast cancer / B. Liu [et al.] // J. Hematol. Oncol. – 2018. – Vol. 11, N 1. – Art. 26. <https://doi.org/10.1186/s13045-018-0577-5>
24. Hoxb13, a potential prognostic biomarker for prostate cancer / A. Ouhitit [et al.] // Front Biosci (Elite Ed.). – 2016. – Vol. 1, N 8. – P. 40–45. <https://doi.org/10.2741/E749>
25. Exome sequencing identifies biallelic MSH3 germline mutations as a recessive subtype of colorectal adenomatous polyposis / R. Adam [et al.] // Am. J. Hum. Genet. – 2016. – Vol. 99, N 2. – P. 337–351. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.06.015>
26. Berger, A. H. A continuum model for tumour suppression / A. H. Berger, A. G. Knudson, P. P. Pandolfi // Nature. – 2011. – Vol. 476, N 7359. – P. 163–169. <https://doi.org/10.1038/nature10275>

References

1. van der Waal I. Oral leukoplakia: Present views on diagnosis, management, communication with patients, and research. *Current Oral Health Reports*, 2019, vol. 6, pp. 9–13. <https://doi.org/10.1007/s40496-019-0204-8>
2. Kalavrezos N., Scully C. Mouth cancer for clinicians. Part 1: Cancer. *Dental Update*, 2015, vol. 42, no. 3, pp. 250–260. <https://doi.org/10.12968/denu.2015.42.3.250>
3. Scheifele C., Schlechte H., Bethke G., Reichart P. A. Detection of TP53-mutations in brush biopsies from oral leukoplakias. *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie*, 2002, vol. 6, no. 6, pp. 410–414. <https://doi.org/10.1007/s10006-002-0425-0>
4. Rubnikovich S. P., Dedova L. N., Semizhon P. A., Denisova, Yu. L., Kandrukevich, O. V. Specific characteristics of rapid diagnosis in periodontology. *Vestsi Natsyyanal' nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 2, pp. 196–203. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-2-196-203>
5. Reddy V. M., Kamath A., Radhakrishnan R. A. p53 immunoprofiling of potentially malignant oral disorders: a case series analysis. *Indian Journal of Cancer*, 2012, vol. 49, no. 1, pp. 27–32. <https://doi.org/10.4103/0019-509X.98913>
6. Izumchenko E., Sun K., Jones S., Brait M., Agrawal N., Koch W. [et al.]. Notch1 mutations are drivers of oral tumorigenesis. *Cancer Prevention Research (Phila)*, 2015, vol. 8, no. 4, pp. 277–286. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-14-0257>
7. Warnakulasuriya S., Ariyawardana A. Malignant transformation of oral leukoplakia: a systematic review of observational studies. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 2016, vol. 45, no. 3, pp. 155–166. <https://doi.org/10.1111/jop.12339>
8. Novikova M. V., Rybko V. A., Khromova N. V., Farmakovskaya M. D., Kopnin P. B. The role of notch pathway in carcinogenesis. *Uspekhi molekulyarnoi onkologii* [Advances in molecular oncology], 2015, vol. 2, no. 3, pp. 30–42 (in Russian).
9. Razavi S. M., Jafari M., Heidarpour M., Khalesi S. Minichromosome maintenance-2 (MCM2) expression differentiates oral squamous cell carcinoma from pre-cancerous lesions. *Malaysian Journal of Pathology*, 2015, vol. 37, no. 3, pp. 253–258.
10. Xia L. Y., Zeng X. T., Li C., Leng W. D., Fan M. W. Association between p53 Arg72Pro polymorphism and the risk of human papillomavirus-related head and neck squamous cell carcinoma: a meta-analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2013, vol. 14, no. 10, pp. 6127–6130. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2013.14.10.6127>
11. Ribeiro I. P., Marques F., Barroso L., Rodrigues J., Caramelo F., Melo J. B., Carreira I. M. Genomic profile of oral squamous cell carcinomas with an adjacent leukoplakia or with an erythroleukoplakia that evolved after the treatment of primary tumor: A report of two cases. *Molecular Medicine Reports*, 2017, vol. 16, no. 5, pp. 6780–6786. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7428>
12. Núñez F., Domínguez O., Coto E., Suarez-Nieto C., Perez P., Lopez-Larrea C. Analysis of ras oncogene mutations in human squamous cell carcinoma of the head and neck. *Surgical Oncology*, 1992, vol. 1, no. 6, pp. 405–411. [https://doi.org/10.1016/0960-7404\(92\)90043-k](https://doi.org/10.1016/0960-7404(92)90043-k)
13. Chung C. M., Hung C. C., Lee C. H., Lee C. P., Lee K. W., Chen M. K., Yeh K. T., Ko Y. C. Variants in FAT1 and COL9A1 genes in male population with or without substance use to assess the risk factors for oral malignancy. *PLoS ONE*, 2019, vol. 14, no. 1, p. e0210901. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210901>
14. *QIAamp® DNA FFPE Tissue Handbook (February 2020)*. Available at: <https://www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/dna-rna-purification/dna-purification/genomic-dna/qiaamp-dna-ffpe-tissue-kit/> (accessed 27.10.2022).

15. *Illumina TruSight Oncology 500 Reference Guide*. Available at: https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/trusight/oncology-500/trusight-oncology-500-reference-guide-1000000067621_07.pdf (accessed 26.05.2021).

16. Denisova Yu. L., Sirak S. V., Rubnikovich S. P., Andreeva V. A., Kuz'menko E. V., Khomich I. S., Volotovskii I. D., Vladimirskaia T. E. Experimental substantiation of mesenchymal stem cell application for the restoration of periodontal tissue. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza = Medical News of North Caucasthis*, 2020, vol. 15, no. 3, pp. 333–337 (in Russian).

17. Kayumov A. R. *Molecular analysis of the genome*. Kazan, Kazan Federal University, 2016. 60 p. (in Russian).

18. Fox A. J., Hiemenz M. C., Lieberman D. B., Sukhadia S., Li B., Grubb J. [et al.]. Next generation sequencing for the detection of actionable mutations in solid and liquid tumors. *Journal of Visualized Experiments*, 2016, vol. 115, p. e52758. <https://doi.org/10.3791/52758>

19. Buzdugan L., Kalisch M., Navarro A., Schunk D., Fehr E., Bühlmann P. Assessing statistical significance in multi-variable genome wide association analysis. *Bioinformatics*, 2016, vol. 32, no. 13, pp. 1990–2000. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw128>

20. Aran V., Zalis M., Montella T., de Sousa C. A. M., Ferrari B. L., Ferreira C. G. Evaluation of KRAS concomitant mutations in advanced lung adenocarcinoma patients. *Medicina (Kaunas)*, 2021, vol. 57, no. 10, pp. 1039–1048. <https://doi.org/10.3390/medicina57101039>

21. Lane D. P., Benchimol S. p53: oncogene or anti-oncogene? *Genes & Development*, 1990, vol. 4, no. 1, pp. 1–8. <https://doi.org/10.1101/gad.4.1.1>

22. Canaud G., Hammill A. M., Adams D. A review of mechanisms of disease across PIK3CA-related disorders with vascular manifestations. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2021, vol. 16, no. 1, pp. 306–316. <https://doi.org/10.1186/s13023-021-01929-8>

23. Liu B., Wang T., Wang H., Zhang L., Xu F., Fang R. [et al.]. Oncoprotein HBXIP enhances HOXB13 acetylation and co-activates HOXB13 to confer tamoxifen resistance in breast cancer. *Journal of Hematology & Oncology*, 2018, vol. 11, no. 1, art. 26. <https://doi.org/10.1186/s13045-018-0577-5>

24. Ouhtit A., Al-Kindi M. N., Kumar P. R., Gupta I., Shanmuganathan S., Tamimi Y. Hoxb13, a potential prognostic biomarker for prostate cancer. *Frontiers in Bioscience (Elite Ed.)*, 2016, vol. 1, no. 8, pp. 40–45. <https://doi.org/10.2741/E749>

25. Adam R., Spier I., Zhao B., Kloth M., Marquez J., Hinrichsen I. [et al.]. Exome Sequencing Identifies biallelic MSH3 germline mutations as a recessive subtype of colorectal adenomatous polyposis. *American Journal of Human Genetics*, 2016, vol. 99, no. 2, pp. 337–351. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.06.015>

26. Berger A. H., Knudson A. G., Pandolfi P. P. A continuum model for tumour suppression. *Nature*, 2011, vol. 476, no. 7359, pp. 163–169. <https://doi.org/10.1038/nature10275>

Информация об авторах

Карпук Наталья Анатольевна – канд. мед. наук, доцент. Витебский государственный медицинский университет (пр-т Фрунзе, 27, 210009, г. Витебск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0001-9991-7034>. E-mail: ms.karpuk@mail.ru

Рубникович Сергей Петрович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, ректор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-7450-3757>. E-mail: rubnikovich@mail.ru

Жильцов Иван Викторович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Витебский государственный медицинский университет (пр-т Фрунзе, 27, 210009, г. Витебск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-4912-2880>. E-mail: zhyltsou@tut.by

Мазур Оксана Чеславовна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-6093-4548>. E-mail: terezia@mail.ru

Карпук Иван Юрьевич – д-р мед. наук, доцент, профессор, декан. Витебский государственный медицинский университет (пр-т Фрунзе, 27, 210009, г. Витебск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0001-9991-7035>. E-mail: ikarpuk@mail.ru

Михаленко Елена Петровна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0003-4543-2862>. E-mail: michalenko75@mail.ru

Information about the authors

Natalia A. Karpuk – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Vitebsk State Medical University (27, Frunze Ave., 210009, Vitebsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0001-9991-7034>. E-mail: ms.karpuk@mail.ru

Sergey P. Rubnikovich – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Rector. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-7450-3757>. E-mail: rubnikovich@mail.ru

Ivan V. Zhyltsou – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Vitebsk State Medical University (27, Frunze Ave., 210009, Vitebsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-4912-2880>. E-mail: zhyltsou@tut.by

Oksana C. Mazur – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-6093-4548>. E-mail: terezia@mail.ru

Ivan Yu. Karpuk – D. Sc. (Med.), Associate Professor, Professor, dean. Vitebsk State Medical University (27, Frunze Ave., 210009, Vitebsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0001-9991-7035>. E-mail: ikarpuk@mail.ru

Alena P. Michalenska – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0003-4543-2862>. E-mail: michalenko75@mail.ru