ISSN 1814-6023 (Print)

УДК 616.24-006.6-07:577.21.088
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-314-323

Поступила в редакцию 02.06.2025
Received 02.06.2025

С. Ю. Смирнов, А. В. Медведь, С. Н. Пивоварчик, Т. Г. Вахомчик, П. Е. Короткевич, Е. И. Субоч, А. С. Портянко

Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова, а/г Лесной, Минский район, Республика Беларусь

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ДЕТЕКЦИИ цоДНК У ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАРКЕРА МЕТИЛИРОВАНИЯ RASSF1

Аннотация. На основании информации из международной базы данных The Cancer Genome Atlas оценен статус метилирования промотора гена RASSF1в 57 образцах опухолевой ткани (аденокарцинома и плоскоклеточный рак) и 27 образцах нормальной ткани легкого. Установлены области промотора, характеризующиеся специфичным профилем метилирования при немелкоклеточном раке легкого, включая его различные гистологические формы.

В рамках проведенного исследования осуществлен дизайн праймеров для метил-специфичной ПЦР, с помощью которой подтверждена возможность использования маркера RASSF1для детекции опухолевой ДНК. Разработана методика детекции циркулирующей опухолевой ДНК в плазме крови пациентов с немелкоклеточным раком легкого с помощью цифровой капельной ПЦР.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, цоДНК, RASSF1метилирование, цифровая капельная ПЦР

Для цитирования: Разработка метода детекции цоДНК у пациентов с немелкоклеточным раком легкого с использованием маркера метилирования RASSF1 / С. Ю. Смирнов, А. В. Медведь, С. Н. Пивоварчик [и др.] // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2025. – Т. 22, № 4. – С. 314–323. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-314-323

Siarhei Y. Smirnou, Antonina V. Miadzvedz, Siarhei N. Pivavarchyk, Tatsiana G. Vakhomchyk, Pavel E. Karatkevich, Helen I. Subach, Anna S. Portyanko

N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR DETECTING ctDNA IN PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER USING THE RASSF1METHYLATION MARKER

Abstract.
RASSF1
carcinoma) and 27 normal lung tissue samples. Promoter regions characterized by specific methylation profiles in non-small cell lung cancer, including various histological types, were identified.

The obtained data was then used to design primers for methylation-specific PCR, thereby confirming the feasibility of using the RASSF1 marker for tumor DNA detection. A methodology for detecting ctDNA in the blood plasma of patients

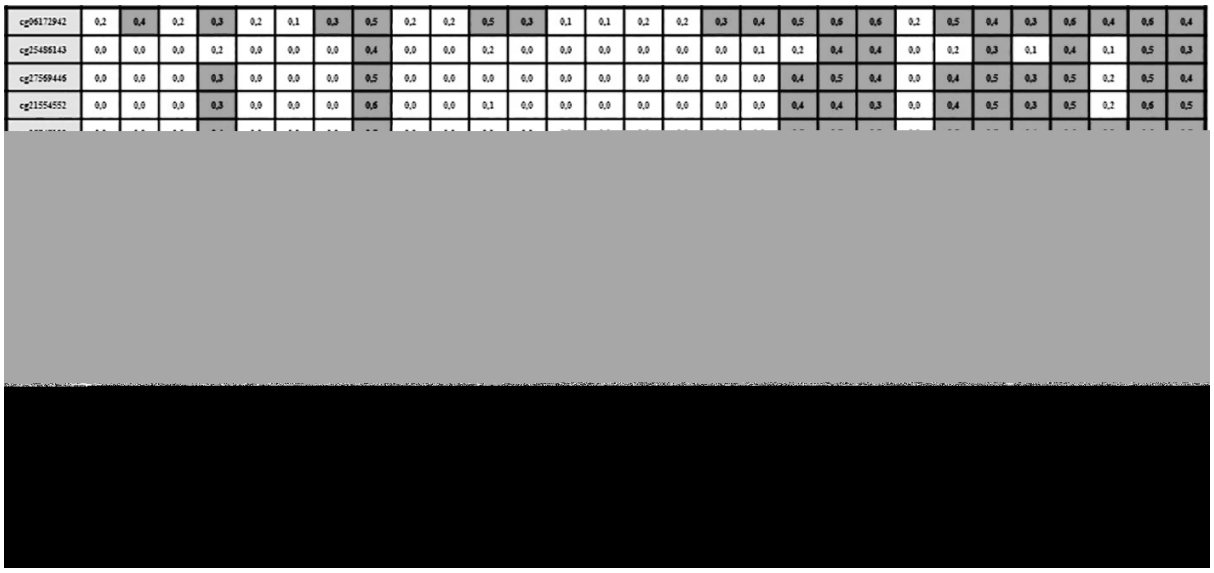
Keywords: RASSF1

For citation: Smirnou S. Y., Miadzvedz A. V., Pivavarchyk S. N., Vakhomchyk T. G., Karatkevich P. E., Subach H. I., RASSF1
Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series
org/10.29235/1814-6023-2025-22-4-314-323

Введение. Рак легкого остается одной из ведущих причин смерти от онкозаболеваний во всем мире, что определяет высокую актуальность научных исследований по поиску новых биомаркеров для ранней диагностики и мониторинга течения данного заболевания, а также молекулярно-генетических терапевтических мишеней. Одним из таких маркеров является ген RASSF1Аберрантное метилирование промотора гена RASSF1является важным эпигенетическим изменением в канцерогенезе различных онкозаболеваний, в том числе и немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) [

cg06172942	0,2	0,4	0,2	0,3	0,2	0,1	0,3	0,5	0,2	0,2	0,5	0,3	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,6	0,2	0,5	0,4	0,3	0,6	0,4	0,6	0,4
cg25486143	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2	0,4	0,4	0,0	0,2	0,3	0,1	0,4	0,1	0,5	0,3
cg27569446	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,5	0,4	0,0	0,4	0,5	0,3	0,5	0,2	0,5	0,4
cg21554552	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,4	0,3	0,0	0,4	0,5	0,3	0,5	0,2	0,6	0,5

[redacted]



J b k I j h n b e f v _ l b e b j h \ Z] g _ b g Z $ 6 6) \ h [j Z a p i Z e h k d h d e _ l h j Z g d e _ h j d h] h

) L J 0 H W K \ O S D U W R L R W Q K $ 6 6) J H Q L K Q X Q T J X D P F R H X O V O V S O H V

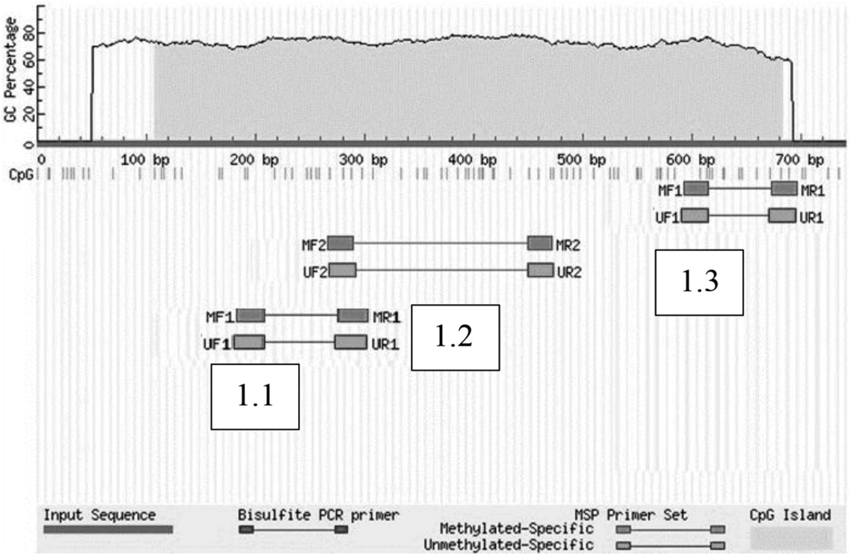
D j h f _ l h] h h [g Z j m ` _ g f u _ l b e b j h \ Z g g u _ a Z \ b k b ^ j m ] h l ^ j m ] Z h k _ ^ g & S _ * g m d e _ h l b ^ u F J Z ^ _ g h d Z j p b g h f Z i e h k d h d e _ l h j Z g d e _ u c b F J Z ^ _ g h d Z j p b g h f Z i e h k d h d e _ l h j Z g d e _ u c j Z k i h e h ` _ g g Z u — d h g p j \ h i c j h f h l h j g h c [e Z k l b

G Z — d h g p j \ h] i h j h f h l h j] Z _ g Z $ 6 6) \ h [j Z a p Z G F J E \ u y \ e _ g b h i _ j f _ l b e b j h \ Z g b _ & S * g m d e _ h F J b ^ h \ b F J \ b k e m q Z i j b \ Z ^ _ g h d Z j p b g h f _ b \ b k e m q Z k h \ h l \ _ l k l \ _ i g b i e h k d h d e _ l h j Z g d e _ f] d h] h k \ y a k h a g Z q b l _ e v g u m f Z e _ g b ^ Z g f g u & S * g m d e _ h l b h [e Z k l F J F J ! b E S k h h l \ _ l k l \ _ f g h g b h i j _ ^ i h e h ` b d \ v h g b \ o h ^ y \ l k h k l Z ^ j m] b g _ a Z \ b k b f _ l b e b j h \ Z g g u d h [e Z k l] _ c g Z

I j b b k k e _ ^ h \ Z l g h b i c j h f h l h j g h [e Z k l] b g Z $ 6 6) h l \ _ q Z x s a Z w d k i j _ k k b g x d h] _ g b a c h n h j f u $ 6 6) & h \ k _ h [j Z a p Z h o j f Z e v g l d c Z g h [g Z j m ` _ f g h l b e b j h \ Z g b _ & S * g m d e _ h F J b ^ h \ b F J Z l Z d ` h [e Z k l F J F J g Z — d h g p _ i j h f h l h j Z _ ` ^ m d Z a Z g g f u _ f b b e b j h \ Z g m q Z b k l d Z j Z b k i h e h ` _ g g f u _ l b e b j h \ Z g g u _ & S * g m d e _ h F J b ^ u F J b F J G Z — d h g p j h] i h j h f h l h j Z _ h [g Z j m ` _ g f h _ l b e b j h \ Z g g b y d e _ h l b ^ h \ x q _ g g u Z o g _ e v

< k j Z \ g _ g k b g h j f Z e v g l d c Z g v \ x h [j Z a p Z G F J E h l f _ q _ g Z l Z _ l b e b j h \ Z g e b \ y k _ c h [e Z k l F J b F J Z ^ _ g h d Z j p b g h f Z i e h k d h d e _ l h j Z g d e _ u c b e b ` _ h l ^ _ e v g & S * g m d e _ h l Z b ^ h g h d Z j p b g h f Z i e h k d h d e _ l h j Z g d e _ u c I h l _ j y f _ l b e b j h \ Z & S * y g m d e _ h F J b ^ h \ b e b F J h [ g Z j m ` _ \ g Z k e m q Z _ \ i j b Z ^ _ g h d Z j p b g h f _ k e m q Z i j b \ i e h k d h d e _ l h j Z g d e _ f] d h] l h j b w h f ^ Z g g u _ g Z j m r _ g ^ b y _ d l b j h \ Z l e h e k v d h Z p b _ g l k m \ j Z l h f c _ l b e b j h \ Z & S * y g m d e _ h l b ^ h \ e Z k l F J b F J F J

= b i _ j f _ l b e b j h \ & Z S * g m d e _ h l F J b ^ h \ b b e F J \ u y \ e _ g h k e m q Z _ i j b i e h k d h d e _ l h j Z g d e _ f] d h] h \ k e m q Z i j b \ Z ^ _ g h d Z j p b g S h f _ L Z d ` _ ^ e y i e h k d h d e _ l h j Z g d Z ] f h _ q _ g h Z e _ \ u k h d Z j k l h l Z _ l b e b j h \ Z p b l y a b F J Z i j h l b \ S K e _ ^ m h l f _ l b l v q l h i j b Z g Z e b g m d e _ h l b ^ h g k e c _ ^ h \ Z l _ e v g h k h [ e Z k l ^ b Z g g h ] & S * g m d e _ h g l b [ ^ g Z j m ` _ k g h p b n b q g k Z c o l h k \ y a u \ Z g b y l j Z g k d j b i p b h g Z g u d h j h Z \ ] b i _ j f _ l b e b j h \ & Z S * b _ g m d e _ h F J b ^ h \ F J b F J g Z [e x ^ Z e h k v e x q b l _ e v g Z a p Z ^ o _ h l k m l k l \ h \ Z [e j h Z g l g f h _ l b e b j h \ Z g b b _ g u j o _] b h g \ h \ h j h] i h j h f h l h j] Z _ g Z $ 6 6)



Jbk =jZnbq_kdh_ ih[jZ`_gb_ jZkiheh`_gby Zy f_jh^ey yp_gdb lZmfk_ Zbebjh\Zgby ijhfhlhjgh h[eZklb]_gZ 5$66)

)LJ *UDSKLF DO UHSUHVHQWDWLRQ RI SULPHU SRVLWLRQ LQ WKH VWXG\ RI PHWK\ODWLRQ RI SURPRWHU UHJLRQ RI WKH 5$66) JHQH

LZdbf h[jZahf bkihevah\ZgZy c_jh^ey fkIP JaZ o\Zlu\Z_l ijhfhlhjgmx h[eZklv FJ \i_j\hfijhfhlhj]_gZ 5$66)iha\hey_l hp_gblv dZd eh\k_ ohg_gb_ ^h\ZgguoGFJ_g_aZ\bkbfhklbh lkihen]bq_kdbo oZjZdl_jbklbd_gZ ^hgghc mde_hlb^ghc ihke_^h\ZI_evghklb q_jmq_]_gbx &S* gmde_hlb^h\ FJ b FJ bahlhjhc ijhfhlhjghc h[eZklbihhkh[ghhloh^bebp_eZaZlh]_ghh[ehbo]h^h

>baZcg heb]hgmde_hlb^h\ ^ey i_j\hc ijhfhlhjghc h[eZklb]_gZ 5$66 ^bfugmde_hlb^ghc ihke_^h\ZI_evghklb]_gZ 5$66) bkihevah\Zebkv ZegZgguo *HQ%DQN 1DWLRQDO &HQWHU IRU %LRWHFKQRORJ\ ,QIRUPDWLRQ 1&%, ihke_^h\ZI_evghklb gmde_hlb^h\ \u[jZgbZ_n_j_gkgZy gfZxy ke_^h\ZI_evghklv *HQ%DQN ij hly`_gghklvx i h \jZfdZiohke_^gmc[ebdZkbhhdh_ghfg_eh\_dZ fhlhjgh h[eZklb ]_gZ 5$66)±*5&K  3ULPHU $VVHPEOHU 5$66) jZkiheh`_gZ cojh fhkhfQ J Z\u[jZggucZ]f_gkhhl_lkl\mq_Zkl dQmJ bkh^_j`bl &S* gmde_hlb^Z

>baZcg heb]hgmde_hlb^guo ij Ebkgj ihevah\Zgb_f ZIgihjjZffgh]hh[_kij hgZcg ijbeh`_gb 0HWK3ULPHU

>eyhp_gdb abq_kdZjZ dl_jbklbd heb]hgmde_hlb^h\ gZc_j]b =b[[kZ* ZIZd`_^eyZgZebaZhylgh h[jZah\Zgby ihq ukljmdlmj ijebdhgZ fh^bf_jh\ bribe_bkihevah[_ZkgeZlgh Zcg Ze]hjbl 2OLJR $QDO\]HU kZc ZZkZcl gh jh^gih lgh kl&S* kZclh ijhfhlhjgh h[eZklb ^baZcg heb]hgmde_hlb^h\ s_klb\ey eb j_ gZ aebq gu]dbhghjbk

Ihke_^h\ZI_evghklb ijZcf_jh\ ^kIZ\e_gu [ebp_ Gmde_hlb^gZy ^h\ZI_evghklv ijZcf_jh\ &S* gmde_hlb^h^ulZhkZ^bkbgl_ebq_ kdbo heb]hgmde_hlb^h\ kh\e_ggu_ bk

>ey hljZ[hldb lh^bdbkIP Jbkihevah\Zeb>G Dih e_bjZcf_j bkihevah\Zeb^_ghdZjpbg \u^_e_ggu_ bahgZnbgh\[eh dh\>G D e_cdhpbl h\ bn_jbq_kdhc dhjh\ bh_ljbpZl_evguc dhgljhev dZq_kl_eh `bl_evgu c dhgljhe >G D e_cdhpbl h\bn_jbq_kdhc dhjh\ bh[jZ[hlZgguo_bljZgkn_jZ fGZa 7KHUPR)LVKHU

I_j_f_ggu_Zf_lj ^ey hilbfbaZpbb h\bdbP JI_fi_jZlmjZ hl`b]Zgby ijZcf_jh\  fdKhgp_gljZpby &O   f0 dhgp_gljZpby ijZcf_jh\  idfhev fdeZd`_ bokhhlghr_\gbkbf_kb

< oh^hilbfbaZpbb oh\fbkleh h\bklbcP JmklZgh\e_gh qlh hgZ b[hehilbfZevgu ^ey ijhfhlhjgh] h m\Z klZgkl i Zc f_jh\ ^ey hij_^_e_gby f_lbebjh\Zgby &S* kZclh\ lbibjh\Zgby b \dhg p_gljZpbbyoi d f he\ ]_ZdpbbZggu >Z ju ijZcf_jh\ b\f_xlh[sb &S* kZclh\ ihlZa ebqguo\ i_j\hcZj_ijZcf_jh\ \h\lhjhcGZb[hehilbfZevgu lhdihjh_^_gby j_ZdpbbZ ebnbdZpbb fbK fbg fK k fK k fK fbg pbdeh\ fK fbg fK' J_amevlZlu e_^h\Zgbyap >G ihemq_ggu IGF J Ebe_cdhpb lh\ i_jbn_jbq_kdhc djh\b ij_^klZ\e_gu gZ jbk

Ihke_^h\ZI_evghklb ijZcf_jh\ ^ey fkIPJ

6HTXHQFHV RI ROLJRQXFOHRWLGHV IRU PV3&5

IZlh]_ggZ ijbZgl	Gmde_hlb^gZy ihke_^h\ZI_evghklv •: •
3URPRWRU	)0 Å7777*7$777$**77777$77*&*& 50 Å &&*7$&77&*&7$$&777$$$&*)8Å777**77777$77*7*7** 58Å&&$7$&77&$&7$$&777$$$&$&7
3URPRWRU	)0 Å 77$*&*777$$$*77$*&*$$*7$& 50 Å 7$&&*7$7$$$$77$&$&*&*$7)8Å$*7*777$$$*77$*7*$$*7$7** 58Å$&7$&&$7$7$$$$77$&$&$&$$7
3URPRWRU	)0 Å **7$*77$$****7$*&*7$*7& 50 Å 77&$$&*$7$$$$&*$$$$7$$&*)8Å****7$*77$$****7$*7*7$*77 58Å7&$$&$$7$$$$&$$$$$7$$&$$$

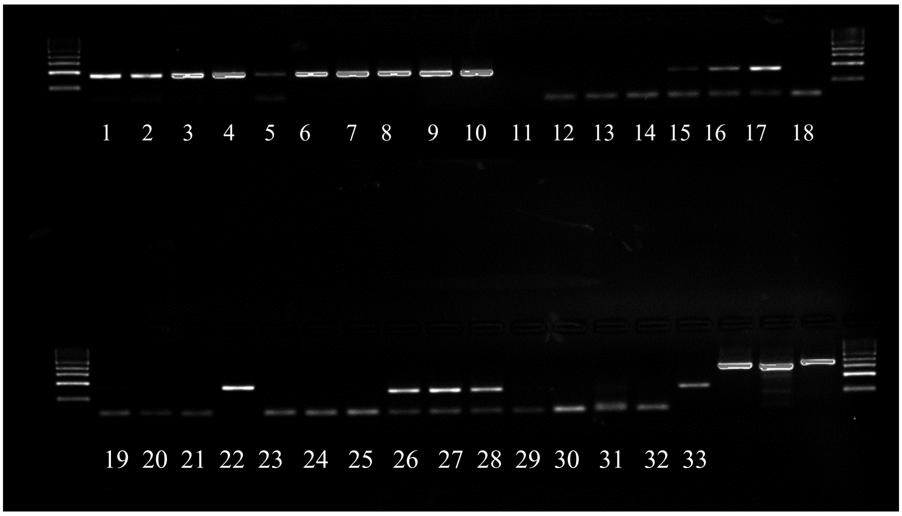
I jbf_qZgb_ IjZcf_jy ±ijyfhc5 ±h[jZlguc ±f_lbebjh\Zg guc 8 ± g_f_lbebjh\Zgguc

<Zeb^Zpby bay mevlZlh\ f_lh^hf k_d_gbjh\Zgby hkg h\Zg h gZ Zgk_d_gbjh\Zgbb ijh^mdlh\ hi_j h^ifyfh] hkZ`^_gby hgh]h fyfy]dbo mkeh\by>ey o Z gZ ebaZ guo bkihevah\Zeb lbq_kdbZ ebaZ$%Ih, j 7KHUPR)KLV:KHHe mq_ggu_k_^h\Z l_evgh k LGD jZ\gb\Zebn_j_gk giuhfke_^h\ZI_evgZkafy_fsb_ggu\ uf ^e_d jhg

CGGGTATCTCCGCGTGGTGCTTTGCGGTCGCCGTCGTTGTGGCCGTCCGGGTGGGTGTGAGG
AGGGGACGAAGGAGGGAAGGAAGGGCAAGGCGGGGGGGCTCTGCGAGAGCGCGCCCAGC
CCCGCCTTCGGGCCCCACAGT**CCCTGCACCCAGGTTTCCATTGCGC**GGCTCTCCTCAGCT
CCTTCCCGCCGCCCAGTCTGGATCCTGGGGGAGGCGCTGAAGTCGGGGCCCGCCCTGTGGCCCCG
CCCGGCCCGCGCTTG~~**CTAG**~~**CGCCCAAAGCCAGCGAAGCACGG**GCCCAACCGGGCCATGTCG
GGGGAGCCTGAGCTCATTGAGCTGCGGGAGCTGGCACCCGCTGGGCGCGCTGGGAAGGGCCGCA
CCCGGCTGGAGCGTGCCAACGCGCTGCGCATCGCGCGGGGC~~**ACCGCGTGCAACCCCACACGG**~~
~~**CA**~~GCTGGTCCCTGGCCGTGGCCACCGCTTCCAGCCCGCGGGGCCCGCCACGCACACGTGGTGCGA
CCTCTGTGGCGACTTCATCTGGGGCGTCGTGCGCAAAGGCCTGCAGTGCGCGCGTGAGTAGTGGC
CCCGCGCGCCTACGAGAGCGGAA**GGGGCAGCCAAGGGGCAGCGCAGTC**GCCGCGGGTCAA
GTCGCGGCAGAGGGGGTCGGCGGGGACAGCTCCCGAGGACTAGG**TCCGTTACTTTCGCCCCA**
TCGCTGAAGAGTGCGCGAAAATGGTTTATCCCTTGTCGCACTCCACTCGTAT

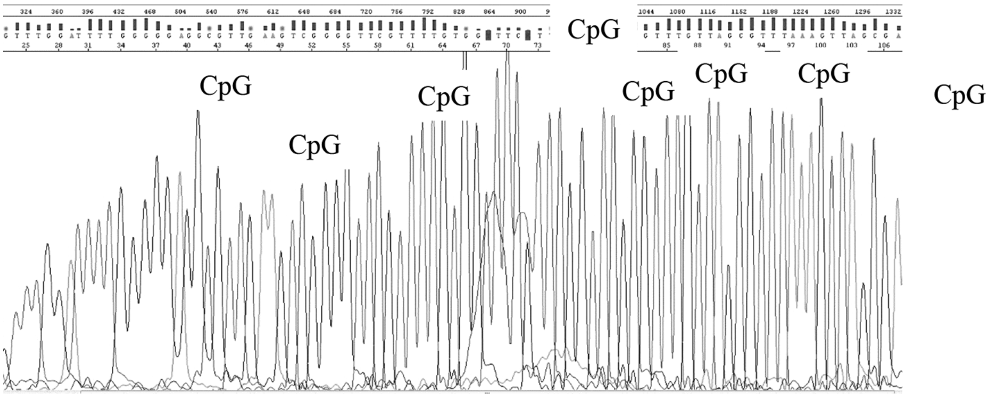
Jbk l_j\uc ijhfhlhj6)gK_juf p_lhf \u^_e_gu &S* gmde_hlb^u djmiguf rjbnlhf ± &S* gmde_hlb^u \oh^ysb_ \ khklZ\ iZg_eb 7&*$ `bjguf rjbnlhf ^ey fkIPJ iZjZ aZq_jdgmlZ

)LJ)LUVW SURPRWHU RI 5$66)JK &S* QXFOHRWLGHV KLJKOLJKWHG LQ JUD\ &S* LQ WKH 7&*$ SDQHO DUH LQGLFDWHG LQ ODUJH IRQW DQG ROLJRQXFOHRWLGH SDLU FURVVHG RXW



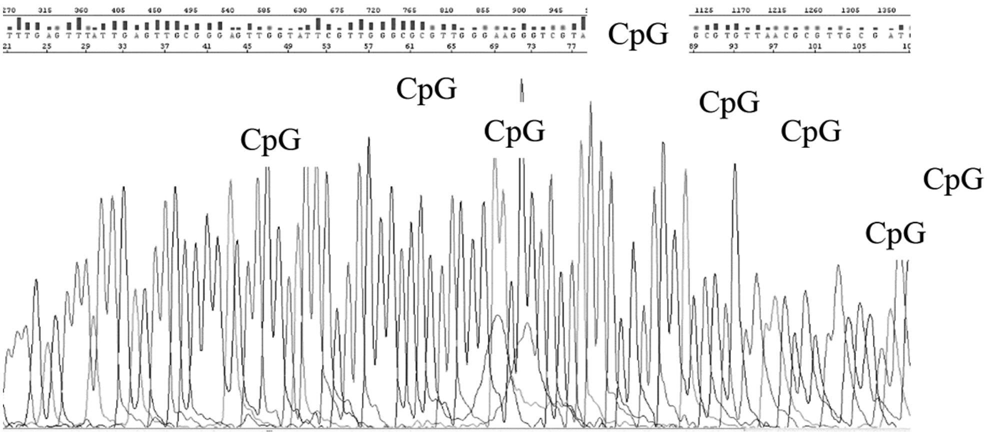
Jbk J_amevlZlu]_ev we_dljhnhj_aZ Ajh^mdlh\ fhe_dmeyjgh]h ZgZeba ijZ ijZcf_jh\ ‹ ESÓ Å GFJEÓ Å djh\vÅ h[jZ[hldZ f_lbeljZgkn_jZahc bebjh\ZggZy iZjZ ijZcf_jh\ ‹ ÓESÅ GFJEÓ Å djh\vÅ h[jZ[hldZ f_lbeljZgkn_jZahc bebjh\ZggZy iZjZ ijZcf_jh\ ‹ ÓESÅ GFJEÓ Å djh\vÅ h[jZ[hldZ f_lbeljZkn_jZahc

)LJ 5HVXOWV RI JHO HOHFWURSKRUHVLV RI SURGXFWV RI WKH 06 3&5 SULPHU SDLU 1R (Ó Å 16&/&Ó Å EORRG PHWK\OWUDQVIHUDVH WUHDWPHQW SULPHU SDLU 1R (Ó Å 16&/&Ó Å EORRG PHWK\OWUDQVIHUDVH WUHDWPHQW SULPHU SDLU 1R (Ó Å 16&/&Ó Å EORRG PHWK\OWUDQVIHUDVH WUHDWPHQW



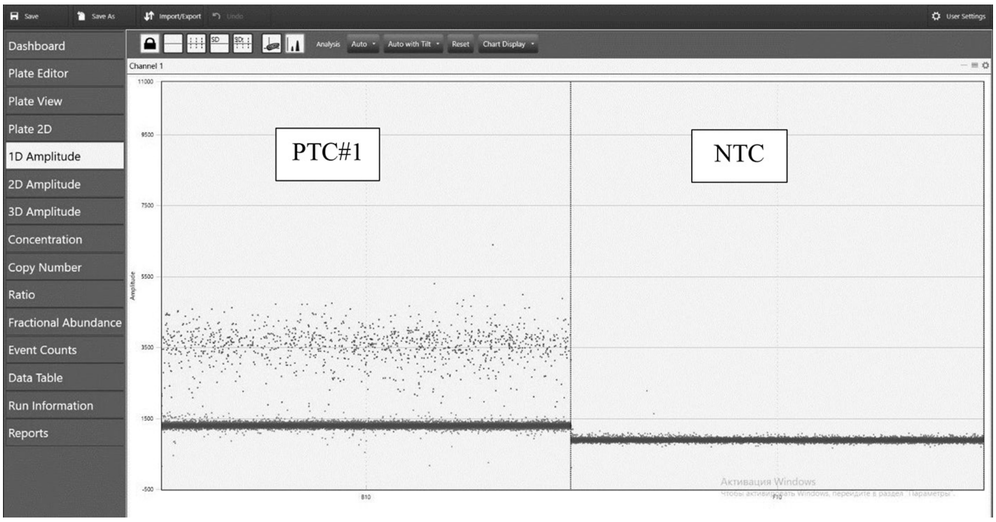
Jbk We_dljhnhj_]jZffZ dhgljhevgh]h h[jZapZ k bkihevah\Zgb_f f_lbebjh\Zgg

)LJ (OHFWURSKHURJUDP RI WKH FRQWURO VDPSOH XVLQJ PHW



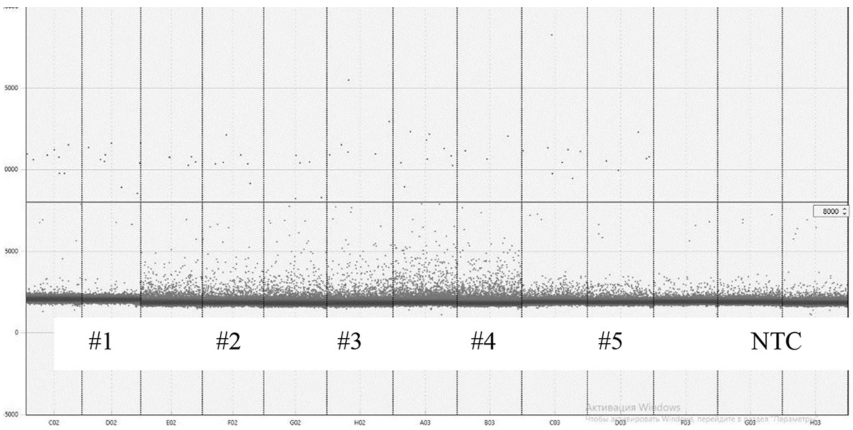
Jbk We_dljhnhj_]jZffZ dhgljhevgh]h h[jZapZ k bkihevah\Zgb_f f_lbebjh\Zgg

)LJ (OHFWURSKHURJUDP RI WKH FRQWURO VDPSOH XVLQJ PHW



Jbk J_amevlZlu pdIPJ f_lebjh\Zggh]h h[jZapZ himohe_\hc ldZgb 37 b hljbpZl_evgh]h dhgljhey 17& >GD e_cdhpblh\ i_jbn_jbq_kdhc djh\b

)LJ 5HVXOWV RI GG3&5 DQDO\VLV RI WKH PHWK\ODWHG WXPRU WLVV 17& '1$ IURP SHULSKHUDO EORRG OHXNRF\WH



Jbk J_amevlZlu pdIPJ k_jbcguo h[jZaph\ ieZafu ‹ Å hl h^gh]h iZpb_glZ k ijh]j_kkbjhnZgb_f]_gZ\ 5$66)\ himohe_\hc ldZgb ^m[eb b hljbpZl_evgh]h dhgljhey 17& \h^Z

)LJ 5HVXOWV RI GG3&5 DQDO\VLV RI VHULHV SODVPD VDPSOHV 1 VKRZLQJ WKH5$66)SURPRWHU PHWK\ODWLRQ LQ WXPRU WLVVXH GXSOLFDWH 17& ZDWHU WULSOHW

ghc[Z a^Zggu1&%,KWWS QFELQOPQLKJRYJHR AhiZgj ijhfhlhjZ h[jZaph\ >GD h[jZ[hlZggh]h [bkmevnblhf gZ ijb_^_gu gZ jbk
Pbnjh\Zy dZi_evgZy IPJ ijb]ZkZ hlebqZ_lky hl ljZ^bpbhgghc ihkdhevdm h[jZ[hldZ ljZgkdjbilZ 5$66) ijhfhlhjZ i_ljm pbnjh\mx dZi_evghc IPJ pdIPJ
ph>GD ^_eyl ko_fZ pdIPJ ijh\h^bl[t_ffe Kj_^gyy dhgp_gljZpby phkk\klZ\beZ g] fde kj_^gyy dhgp_gljZpby ph>GD ihke_ [bkmevnblghc dhg_jkbb
<oh^hilbfbaZpbbkl_ih\dbIPJ mkeZgh\eZ_lghc kb[hj_pbnbqgZ[hjhjiZ f_jhy\ey_lkyjZ \dhgp_gljZpbb o gfhevZ_dpbbZ dZlZjZcf_jh\ ^Z_l g_ki_pbnbqZkdmbnbdZpbx kmlZgh\eZ_gg]h]_g >GDHilbfZevgu hdhe ijh_^_gbyZdpbbebnbdZpbb fK fbg fK k fK fbg pbdeh\ fK fbg fK fbg fK' >hihegbl_evgZy lhjd_klZ ijhpbh\h^beZkv \k\yakbgbad dhgp_gljZpbb gZqbl_evgh]h j_gljZpb >GDlbjbZgZelbh >GD Zd pbx kIZ\beb \ ^m[eyo

Среднее количество капель, пригодных для анализа одного образца, составило 20 тыс. на образец для FFPE и 40 тыс. для цоДНК. Пороговый уровень для детекции метилирования промоторной области гена *RASSF1* – 3 сигнала.

Дискриминация положительного (FFPE) и отрицательного (ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови) контролей представлена на рис. 9.

Разработанную методику использовали для детекции цоДНК пациентов с плоскоклеточным раком легкого в рамках проекта БРФФИ-РНФ № 131, что позволило увеличить исследуемую выборку НМРЛ на 40 %. Пример результатов тестирования 5 серийных образцов плазмы от одного пациента с НМРЛ, у которого ранее в опухоли было выявлено метилирование промотора гена *RASSF1*, представлено на рис. 10.

Заключение. Нами разработан метод детекции цоДНК у пациентов с НМРЛ, основанный на исследовании специфичного опухолевого маркера, а именно статуса метилирования промоторной области гена *RASSF1* с помощью цифровой капельной ПЦР. Опыт поиска опухоль-специфичных мишеней на основе анализа данных TCGA может быть использован при внедрении в клиническую практику молекулярных технологий изучения внеклеточной ДНК для диагностики заболевания и мониторинга эффективности проводимого противоопухолевого лечения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена в рамках гранта БРФФИ М23 РНФ № 131.

Acknowledgements. the framework of the BRFFR M-23 RSF, grant No. 131.

Список использованных источников

Methylation dynamics of RASSF1A and its impact on cancer / G. Malpeli, G. Innamorati, I. Decimo [et al.] // Cancers. – 2019. – Vol. 11, N 7. – Art. 959. https://doi.org/10.3390/cancers11070959

RASSF1A, puppeteer of cellular homeostasis, fights tumorigenesis, and metastasis – an updated review / F. Dubois, E. Bergot, G. Zalcman, G. Levallet // Cell Death and Disease. – 2019. – Vol. 10, N 12. – Art. 928. https://doi.org/10.1038/s41419-019-2169-x

Association of RASSF1A promoter methylation with lung cancer risk: a meta-analysis / Y.-Z. Huang, W. Wu, K. Wu [et al.] // Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. – 2014. – Vol. 15, N 23. – P. 10325–10328. https://doi.org/10.7314/

DNA methylation analysis of the SHOX2 and RASSF1A panel using cell-free DNA in the diagnosis of malignant pleural effusion / N. Zhang, Z. Liu, K. Li [et al.] // Journal of Oncology. – 2023. – Vol. 2023. – Art. 5888844. https://doi.org/10.1155/2023/5888844

Hypermethylated RASSF1A as circulating tumor DNA marker for disease monitoring in neuroblastoma / L. Zogchel, E. Wezel, J. Wijk [et al.] // JCO Precision Oncology. – 2020. – Vol. 4. – P. 291–306. https://doi.org/10.1200/PO.19.00261

6. Prognostic value of RASSF1A methylation status in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients: A meta-analysis of prospective studies / H. Hu, Y. Zhou, M. Zhang, R. Ding // Biomarkers. – 2019. – Vol. 24, N 3. – P. 207–216. https://doi.org/10.1080/1354750X.2019.1583771

7. National Cancer Institute. The Cancer Genome Atlas. URL: https://portal.gdc.cancer.gov (date of access: 12.05.2025).

8. TFsitescan. – URL: http://www.ifti.org/cgi-bin/ifti/Tfsitescan.pl (date of access: 12.05.2025).

9. The Li Lab. MethPrimer 2.0. – URL: http://www.urogene.org/cgi-bin/methprimer/methprimer.cgi (date of access: 12.05.2025).

Integrated DNA technologies. OlygoAnalyzer. – URL: https://www.idtdna.com/pages/tools/oligoanalyzer (date of access: 12.05.2025).

References

1. Malpeli G., Innamorati G., Decimo I., Bencivenga M., Kamdje A. H. N., Perris R., Bassi C. Methylation dynamics *Cancers*, 2019, vol. 11, no. 7, art. 959. https://doi.org/10.3390/cancers11070959

2. Dubois F., Bergot E., Zalcman G., Levallet G. RASSF1A, puppeteer of cellular homeostasis, fights tumorigenesis, and metastasis – an updated review. *Cell Death and Disease,* 2019, vol. 10, no. 12, art. 928. https://doi.org/10.1038/s41419-019-2169-x

3. Huang Y.-Z., Wu W., Wu K., Xu X.-N., Tang W.-R. Association of RASSF1A promoter methylation with lung cancer risk: a meta-analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2014, vol. 15, no. 23, pp. 10325–10328. https://doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.23.10325

4. Zhang N., Liu Z., Li K., Xing X., Long C., Liu F., She B., Che N. DNA methylation analysis of the SHOX2 and RASSF1A panel using cell-free DNA in the diagnosis of malignant pleural effusion. *Journal of Oncology*, 2023, vol. 2023, art. 5888844. https://doi.org/10.1155/2023/5888844

5. Zogchel L., Wezel E., Wijk J., Stutterheim J., Bruins W. S. C., Zappeij-Kannegieter L. [et al.]. Hypermethylated RASSF1A as circulating tumor DNA marker for disease monitoring in neuroblastoma. *JCO Precision Oncology*
pp. 291–306. https://doi.org/10.1200/PO.19.00261

6. Hu H., Zhou Y., Zhang M., Ding R. Prognostic value of RASSF1A methylation status in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients: A meta-analysis of prospective studies. *Biomarkers*, 2019, vol. 24, no. 3, pp. 207–216. https://doi.org/10.1080/1354750X.2019.1583771

7. *National Cancer Institute. The Cancer Genome Atlas*. Available at: https://portal.gdc.cancer.gov (accessed 12.05.2025).

8. *TFsitescan*. Available at: http://www.ifti.org/cgi-bin/ifti/Tfsitescan.pl (accessed 12.05.2025).

9. *The Li Lab. MethPrimer 2.0*. Available at: http://www.urogene.org/cgi-bin/methprimer/methprimer.cgi (accessed 12.05.2025).

Integrated DNA technologies. OlygoAnalyzer. Available at: https://www.idtdna.com/pages/tools/oligoanalyzer (accessed 12.05.2025).

Информация об авторах

Смирнов Сергей Юрьевич – биолог. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова (223040, а/г Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail:

Медведь Антонина Викторовна – врач клинической лабораторной диагностики. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова (223040, а/г Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: dr.medvedav@

Пивоварчик Сергей Николаевич – врач-онколог. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова (223040, а/г Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: serginio0290@rambler.ru

Вахомчик Татьяна Георгиевна – врач-радиолог. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова (223040, а/г Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: chik-city@tut.by

Короткевич Павел Евгеньевич – канд. мед. наук, доцент, заведующий отделением. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова (223040, а/г Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: pavelkorotkevich@

Субоч Елена Ивановна – канд. мед. наук, доцент, заведующий отделением. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова (223040, а/г Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: helen_suboch@

Портянко Анна Сергеевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова (223040, а/г Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: a_port@

Information about the authors

Siarhei Y. Smirnou – biologist. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: rustledeath24@gmail.com

Antonina V. Miadzvedz – doctor of clinical laboratory diagnostic. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: dr.med-

Siarhei N. Pivavarchyk – oncologist. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: serginio0290@rambler.ru

Tatsiana G. Vakhomchyk – radiologist. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: chik-city@tut.by

Pavel E. Karatkevich – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Head of the Department. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: pavelkorotkevich@mail.ru

Helen I. Subach – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Head of the Department. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: helen_suboch@mail.ru

Anna S. Portyanko – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: a_port@mail.ru