ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 577.96:578.233.42/44:616.36-006.6
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-2-126-139

Поступила в редакцию 20.02.2023
Received 20.02.2023

О. Е. Кузнецов

Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Республика Беларусь

ВЗАИМОСВЯЗЬ ЭКСПРЕССИИ ПРОТЕИНОВ NF1, p53, bcl-2, pRB С ДНК/РНК ВИРУСОВ И МУТАЦИЯМИ ГЕНОВ *BRCA 1/2* и *hMSH2* ПРИ РАКЕ ПЕЧЕНИ

Аннотация. Среди опухолей желудочно-кишечного тракта заболеваемость и смертность от первичного рака печени остается высокой. За последние 20 лет заболеваемость раком печени в Беларуси увеличилась на 45,7 %.

Цель исследования – установить взаимосвязь экспрессии протеинов NF1, p53, bcl-2 и pRB с ДНК/РНК вирусов и мутациями генов *BRCA 1/2* и *hMSH2* при раке печени.

Обследованы пациенты (n = 303) с морфологически установленным первичным раком печени, гепатитом и здоровые лица. Выполнено молекулярно-биологическое и иммунологическое исследование уровней антител к протеинам клеточного цикла NF1, p53, bcl-2, pRB, ДНК/РНК вирусов, выявлены мутации генов *BRCA 1/2* и *hMSH2*. Уровни антител к p53, bcl-2, pRB и NF1 в сыворотке здоровых лиц отличались от аналогичных показателей в образцах крови и экстрактов ткани пациентов с гепатитом, раком печени и в образцах нативной ткани печени. Мутации при раке печени в опухолевой ткани составили 6,13 % (p = 0,004), в крови – 0,85 %. Изменения гена *hMSH2* в ткани установлены в 15,48 % случаев. В ткани опухоли выделены ДНК/РНК вируса простого герпеса 1-го и 2-го типа (56,1 %), вируса герпеса 6-го типа (24,4 %), цитомегаловируса (17,1 %), вируса гепатита С (17,1 %), вируса гепатита В (4,9 %), вируса папилломы человека (4,1 %), вируса Эпштейна–Барр (2,4 %), а также микст-персистирующих форм инфекций (26,8 %). При гепатите (С, В) и раке печени с носительством цитомегаловируса наблюдался рост экспрессии bcl-2, NF1 и pRB (p = 0,001). Наличие вируса Эпштейна–Барр приводило к активности белка p53 при раке печени (p = 0,003). Наличие протеинов p53, bcl-2, pRB и NF1 в ткани печени не зависело от возраста и пола пациентов. Предполагается, что по степени их влияния на функцию генов, с учетом присутствующей в геноме ДНК/РНК вирусов и мутаций (*BRCA 1/2* и *hMSH2*), можно определить степень онкогенности вирусов. Превышение предсказанных для лиц возрастной группы 50,8 года концентраций p53, bcl-2, pRB и NF1 в крови свидетельствовало о риске развития/наличия опухолевого процесса в печени.

Ключевые слова: рак печени, гены *BRCA 1/2* и *hMSH2*, вирусы, клеточный цикл, опухоль

Для цитирования: Кузнецов, О. Е. Взаимосвязь экспрессии протеинов NF1, p53, bcl-2, pRB с ДНК/РНК вирусов и мутациями генов *BRCA 1/2* и *hMSH2* при раке печени / О. Е. Кузнецов // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2023. – Т. 20, № 2. – С. 126–139. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-2-126-139

Aleh E. Kuzniatsou

Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus

RELATIONSHIP OF THE EXPRESSION OF THE NF1, p53, bcl-2, pRB PROTEINS WITH DNA/RNA OF VIRUSES AND MUTATIONS OF THE *BRCA 1/2* AND *hMSH2* GENES IN LIVER CANCER

Abstract. Among tumors of the gastrointestinal tract, the incidence and mortality from primary liver cancer remains high. Over the past 20 years, the incidence of liver cancer in Belarus has increased by 45.7 %.

The aim of the study was to establish the relationship between the expression of the NF1, p53, bcl-2 proteins and the pRB genes with DNA/RNA of viruses and mutations of the *BRCA 1/2* and *hMSH2* genes in liver cancer.

Patients (n = 303) with morphologically established primary liver cancer were examined. A molecular biological and immunological study was performed: antibodies to cell-cycle NF1, p53, bcl-2, pRB proteins, DNA/RNA of viruses, the *BRCA 1/2*, *hMSH2* gene. The levels of antibodies to p53, bcl-2, pRB, and NF1 in the serum of healthy individuals differed from those in blood samples and tissue extracts from patients with hepatitis C, liver cancer and in native liver tissue samples. Mutations in liver cancer were (p = 0.004): in the tumor tissue – 6.13 %, in the blood – 0.85 %. Changes in the *hMSH2* gene in the tissue were set at 15.48 %. DNA/RNA was isolated in the tumor tissue: HSV 1/2 – 56.1 %, HHV6 – 24.4, CMV – 17.1, HCV – 17.1, HBV – 4.9, HPV – 4.1, VEB – 2.4 %. Including mixed persistence – 26.8 %. In hepatitis (C, B) and liver cancer with CMV carriers, the expression of bcl-2, NF1 and pRb1 (p = 0.001) increases. The Epstein–Barr virus leads to the activity of the p53 protein in liver cancer (p = 0.003). The p53, bcl-2, pRB, and NF1 proteins in the liver tissue do not depend on the age and sex of patients. The degree of their influence on the function of genes with regard to DNA/RNA of viruses and mutations present in the genome (*BRCA 1/2*, *hMSH2*) suggests the degree of oncogenicity of viruses. The concentrations of p53, bcl-2, pRB, and

© Кузнецов О. Е., 2023

NF1 in the blood, exceeding the predicted ones, for 50.8 year old persons, indicate the risk of development/presence of a tumor process in the liver.

Keywords: liver cancer, *BRCA 1/2* and *hMSH2* genes, viruses, cell cycle, tumor

For citation: Kuzniatsou A. E. Relationship of the expression of the NF1, p53, bcl-2, pRB proteins with DNA/RNA of viruses and mutations of the *BRCA 1/2* and *hMSH2* genes in liver cancer. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2023, vol. 20, no. 2, pp. 126–139 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-2-126-139

Введение. Среди опухолей желудочно-кишечного тракта заболеваемость и смертность от рака гепатопанкреатобилиарной зоны составляют 37 и 48 %, а доля первичного рака печени (ПРП) – 25 и 33 % соответственно. За последние 20 лет заболеваемость ПРП в Беларуси увеличилась на 45,7 % (ежегодный прирост – 1,7 %), а к 2025 г. прогнозируется увеличение на 5,9 % [1, 2].

Из почти 19 млн новых случаев рака, выявленных в 2020 г. (GLOBOCAN, 2020), 15,7 % были связаны с различными видами хронических инфекций. При этом главенствующая роль в инфекционном канцерогенезе принадлежала различным ДНК/РНК-вирусам (51,2–64,2 %) [3].

В изучении этиопатогенеза рака огромную роль сыграло открытие генов с герминальными мутациями, ассоциированными с высоким риском развития онкопатологии [4]. Мутации в высокопенетрантных генах (*BRCA1*, *BRCA2*, *hMSH2* и *hMLH1*) повышают риск развития рака в 10 раз [4–6].

Белок p53, являясь продуктом гена *TP53*, локализуется в ядре и находится на 17-й хромосоме, препятствуя возникновению злокачественных новообразований. Установлена супрессорная роль протеина p53 в регуляции большинства генов. При отсутствии повреждений генетического аппарата белок p53 находится в неактивном состоянии, а при появлении повреждений ДНК результатом активации p53 являются репликации ДНК и запуск апоптоза белками [7].

Показано, что сверхэкспрессия антиапоптотического белка Bcl-2 в лимфоцитах сама по себе не вызывает рак, однако одновременная сверхэкспрессия Bcl-2 и протоонкогена myc может способствовать появлению злокачественных новообразований [8–10]. В результате однофакторного регрессионного анализа установлено прогностическое значение bcl-2 и p53 при раке легкого, в то время как многофакторный регрессионный анализ не выявил взаимосвязи показателей bcl-2, p53 и bax с прогнозом исхода болезни [11].

Ген *NF1* неврофиброматоза [17q112/NF1], продуктом которого является цитоплазматический белок нейрофибромин, регулирует активность белков гена *RAS*, а мутации одного из генов *RAS* обнаруживаются в 15 % случаев злокачественных новообразований у человека. Исследование гена *KRAS2* при раке толстой кишки показало наличие многосторонних взаимосвязей *NF1* с различными молекулами, вовлеченными в канцерогенез, что свидетельствует об усилении экспрессии антиапоптического белка MCL1 (myeloid cell leukemia 1) при нокдауне *NF1* [12].

Одним из потенциальных маркеров онкогенеза является ретинобластомный белок (pRB, ядерный фосфопротеин), препятствующий пролиферации и способствующий окончательной дифференцировке клеток [13]. В вирустрансформированных клетках С-концевая область pRB способна формировать специфические комплексы с трансформирующими белками некоторых ДНК-содержащих онкогенных вирусов, включая большой Т-клеточный антиген вируса SV40, белки аденовируса E1A и человеческого вируса папилломы E7. В случае отсутствия данного белка или невозможности осуществления его функции происходит сбой в регуляции деления клетки, что приводит к опухолевой трансформации [14, 15].

Анализ проведенных исследований в области молекулярной биологии клеточного цикла при злокачественной трансформации показал противоречивый характер связи маркеров апоптоза (p53, bcl-2), протеинов гена *NF1* и pRB с различными механизмами онкогенеза, что стало одной из причин установления ассоциативных взаимоотношений между различными вирусами и мутациями различных генов при раке печени.

Цель исследования – установить взаимосвязь экспрессии протеинов NF1, p53, bcl-2 и pRB с ДНК/РНК вирусов и мутациями генов *BRCA 1/2* и *hMSH2* при раке печени.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования были 303 пациента белорусской этнопринадлежности, проживающих в Гродненском регионе, с морфологически установ-

ленным ПРП; 43 образца ткани от пациентов с ПРП; 63 образца сыворотки крови от пациентов с ПРП; 60 и 66 образцов сыворотки крови от пациентов с хроническим гепатитом В и С (ХГВ, ХГС) соответственно; 31 образец ткани от пациентов с отсутствием опухолевого процесса; 80 образцов сыворотки крови от практически здоровых лиц.

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом.

В соответствии с Международной гистологической классификацией образцы ткани опухоли (63 клинических случая) при ПРП (С22, n = 62) были идентифицированы как гепатоцеллюлярный рак (ГЦР). Промежуток времени установления диагноза ПРП составил от 6 мес. до 13 лет. Образцы нативной ткани печени, полученные при диагностической биопсии органа и при операционных вмешательствах, были представлены следующими вариантами: не измененная; не модифицированная; сохранившая структуру, присущую живой клетке; отсутствие злокачественного процесса – рака печени.

Были выделены следующие исследовательские группы: группа 1 (n = 66) – пациенты с ХГС; группа 2 (n = 60) – пациенты с ХГВ; группа 3 (n = 63) – пациенты с ПРП (исследуемый материал – сыворотка крови); группа 4 (n = 43) – пациенты с ПРП (материал – ткань печени); группа 5 (n = 31) – образцы нативной ткани (НТ) печени (не измененная, не модифицированная НТ, которая сохранила присущую живой клетке структуру и в которой отсутствовал злокачественный процесс).

Материал контрольной группы (к) был представлен образцами крови 80 практически здоровых лиц (50/62,5 % мужчин и 30/37,5 % женщин, средний возраст 56,5 ± 8,3 года), у которых на момент обследования не было родственников со злокачественными новообразованиями и вирусными инфекциями.

Пациенты находились на лечении в Гродненском областном клиническом онкологическом диспансере и в Гродненской областной инфекционной клинической больнице. Образцы тканей пациентов получены из архива Гродненского областного клинического патологоанатомического бюро. Образцы экстракта ткани печени (n = 43) изучали в двух зонах: в зоне опухоли и на участке здоровой ткани с отсутствием признаков злокачественности.

Определяли следующие вирусологические и молекулярно-биологические маркеры: антитела к протеинам NF1, p53, bcl-2, pRB, ДНК/РНК генома вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ, HHV4), вируса гепатита В (ВГВ)/HBV, вируса гепатита С (ВГС)/HCV, папилломы человека (ВПЧ/HPV), цитомегаловируса (ЦМВ/CMV), простого герпеса 1/2 типа (ВПГ 1/2; HSV 1/2), вируса герпеса 6-го типа (HHV6), ген *BRCA1* (экзоны 2, 5, 11, 20), ген *BRCA2* (экзон 11), ген *hMSH2* (экзоны 1–16).

Концентрацию антител к протеинам NF1, p53, bcl-2 и pRB определяли на иммуноферментном анализаторе Mindray 96RA (Китай) с помощью метода иммуноферментного анализа в образцах ткани и сыворотки крови пациентов, используя набор реагентов FineTest производства Wuhan Fine Biological Technology Co., Ltd. (Китай). Из блоков ткани в парафине готовили серийные срезы. В соответствии со стандартным протоколом проводили пробоподготовку образцов ткани к исследованию с помощью набора реагентов производства MagneSil Genomic, Fixed System (Promega, США). Образцы биологического материала (сыворотки крови) получали стандартным способом с использованием вакуумных систем Vacuette с активатором свертывания производства Greiner Bio-One, Австрия. Подготовку проб крови для исследования проводили унифицированным способом – центрифугированием (центрифуга Fenox-24M, Китай) при 3000 g в течение 10 мин.

Всего выполнено 287 исследований детекции ДНК/РНК генома указанных вирусов, в 143 случаях (анализ 946 детекций) – исследование генов *BRCA1*, *BRCA2* и *hMSH2*.

Для выделения ДНК/РНК (ПЦР) из образцов ткани использовали тест-системы Applied Biosystems (США), MagneSil Genomic, Fixed System (Promega, США), QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Германия), руководствуясь инструкциями производителей. Геномную ДНК/РНК из образцов крови выделяли при помощи наборов «ДНК/РНК Сорб В» (Россия) в соответствии с инструкцией. Амплификацию экзонов генов проводили, используя наборы Pronto Diagnostics Ltd. (Израиль) для детекции генов *BRCA1* (*185delAG*, *4145delA*, *5382insC*), *BRCA2* (*6174delT*) и *hMSH2* (MLPA Tests: HNPCC-deletion/duplication – Diagnosis of Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer

(HNPCC), Pronto Diagnostics Ltd. (Израиль). Параллельно с помощью оригинального набора реагентов на основе отечественных праймеров определяли изменения в экзонах гена *hMSH2* [16].

Амплификацию ДНК/РНК вирусов выполняли по заданному протоколу в автоматическом режиме на амплификаторе-термоциклере RotorGene (Германия), используя тест-системы Amplisens (Россия), дополнительный контроль количественных и качественных характеристик ДНК/РНК – на спектрофотометре BioPhotometer Plus (Eppendorf, Германия).

Статистическая обработка данных проведена с помощью стандартного пакета прикладных статистических программ SPSS. Различие между изучаемыми параметрами признавали достоверным при $p < 0,05$. Использовали следующие методы математической обработки: изучение вида распределения и получение числовых характеристик, включая расчет M ± σ, Q75, Q и Me; выявление отклика на воздействие в двухвыборочной задаче, включая *t*-тест Манна–Уитни (*U*) и тест Вилкоксона (Z); метод Хила; ROC-анализ (площадь под ROC-кривой – AUC) [17]; модели множественной линейной регрессии; коэффициент корреляции Пирсона (*r*) и непараметрический корреляционный анализ Спирмена (R).

Результаты и их обсуждение. Установленные в образцах сыворотки крови концентрации антител к протеинам p53, bcl-2, pRB и NF1 у практически здоровых лиц, в образцах крови и экстрактах ткани пациентов с ХГВ, ХГС и ПРП представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, референтные уровни антител в сыворотке к протеинам p53, bcl-2, pRB и NF1 у здоровых лиц отличались от аналогичных показателей в исследуемых образцах сыворотки крови и экстрактов ткани пациентов с ХГВ и ХГС, ПРП (ткань, сыворотка) и в образцах НТ печени при отсутствии морфологически доказанного ПРП (Mann–Whitney *U* test – $p < 10^{-5}$).

Концентрации антител к протеинам p53, bcl-2, pRB и NF1 в образцах НТ (при отсутствии ПРП) можно расценивать как вариант возможной «нормы» (референтные величины), которая составила: для протеинов p53 – 23,136 ± 8,744 нг/мл; для bcl-2 – 34,265 ± 9,930 нг/мл; для pRb1 – 4,121 ± 0,745 нг/мл, для NF1 – 4204,194 ± 743,706 пг/мл ($p_{5\text{-}2} = 0,000001$, $p_{5\text{-}3} = 0,000003$, $p_{4\text{-}5} = 0,000001$, $p_{5\text{-}3} = 0,00012$ соответственно).

Анализ зависимости уровня экспрессии протеинов p53, bcl-2, pRB и NF1 позволил установить наличие достоверных корреляционных связей между данными маркерами в группах (корреляции Спирмена, Кендалла):

p53 (контроль) и p53 (ХГВ): $r = 0,601$, $p = 0,001$;

pRb1 (контроль) и bcl-2 (ПРП, ткань): $r = 0,413$, $p = 0,0021$; pRb1 (контроль) и bcl-2 (ПРП, сыворотка): $r = 0,414$, $p = 0,0021$;

p53 (ПРП, ткань) и p53 (ПРП, сыворотка): $r = 0,970$, $p = 0,0001$; p53 (ПРП, ткань) и bcl-2 (ПРП, сыворотка): $r = 0,515$, $p = 0,003$;

bcl-2 (ПРП, ткань) и pRb1 (контроль): $r = 0,413$, $p = 0,002$; bcl-2 (ПРП, ткань) и p53 (ПРП, сыворотка): $r = 0,504$, $p = 0,0016$; bcl-2 (ПРП, ткань) и bcl-2 (ПРП, сыворотка): $r = 1,00$, $p = 0,00001$; bcl-2 (ПРП, ткань) и p53 (ХГВ): $r = 0,468$, $p = 0,0019$; bcl-2 (ПРП, ткань) и pRb1 (ХГВ): $r = 0,514$, $p = 0,003$;

pRb1 (ПРП, ткань) и bcl-2 (НТ): $r = 0,404$, $p = 0,004$; pRb1 (ПРП, ткань) и bcl-2 (ПРП, сыворотка): $r = 0,524$, $p = 0,003$; pRb1 (ПРП, ткань) и pRb1 (ПРП, сыворотка): $r = 1,00$, $p = 0,00001$; pRb1 (ПРП, ткань) и pRb1 (ХГВ): $r = 0,628$, $p = 0,002$;

NF1 (ПРП, ткань) и bcl-2 (ПРП, сыворотка): $r = 0,623$, $p = 0,002$; NF1 (ПРП, ткань) и pRb1 (ПРП, сыворотка): $r = 0,721$, $p = 0,001$; NF1 (ПРП, ткань) и pRb1 (ХГВ): $r = 0,652$, $p = 0,0019$;

bcl-2 (НТ) и pRb1 (ПРП, ткань): $r = 0,404$, $p = 0,004$; bcl-2 (НТ) и pRb1 (ПРП, сыворотка): $r = 0,404$, $p = 0,009$;

pRb1 (НТ) и NF1 (ХГВ): $r = 0,384$, $p = 0,01$;

NF1 (НТ) и NF1 (ПРП, сыворотка): $r = 0,403$, $p = 0,01$;

p53 (ПРП, сыворотка) и p53 (ПРП, ткань): $r = 0,970$, $p = 0,0001$; p53 (ПРП, сыворотка) и bcl-2 (ПРП, ткань): $r = 0,504$, $p = 0,0016$;

bcl-2 (ПРП, сыворотка) и pRb1 (контроль): $r = 0,413$, $p = 0,001$; bcl-2 (ПРП, сыворотка) и p53 (ПРП, ткань): $r = 0,515$, $p = 0,002$; bcl-2 (ПРП, сыворотка) и bcl-2 (ПРП, ткань): $r = 1,00$, $p = 0,00001$; bcl-2 (ПРП, сыворотка) и pRb1 (ПРП, ткань): $r = 0,524$, $p = 0,003$; bcl-2

Т а б л и ц а 1. **Концентрации антител к протеинам p53, bcl-2, pRB и протеинам гена *NF1* в образцах сыворотки крови и ткани**

T a b l e 1. **Concentrations of antibodies to p53, bcl-2, pRB proteins and NF1 gene proteins in blood serum and tissue samples**

Группа	Показатель (образец)	M	m	min	max	*p*
Здоровые (*n* = 80)	p53, нг/мл (сыворотка)	2,541	4,177	0,90	17,30	$p_{к\text{-}2}=0{,}0053$ $p_{к\text{-}3}=0{,}00001$ $p_{к\text{-}4}=0{,}00001$ $p_{к\text{-}5}=0{,}000001$
	bcl-2, нг/мл (сыворотка)	8,006	6,105	1,01	30,90	$p_{к\text{-}1}=0{,}000001$ $p_{к\text{-}2}=0{,}00001$ $p_{к\text{-}3}=0{,}00001$ $p_{к\text{-}4}=0{,}000001$ $p_{к\text{-}5}=0{,}000001$
	pRb1, нг/мл (сыворотка)	0,309	0,097	0,18	0,51	$p_{к\text{-}1}=0{,}0034$ $p_{к\text{-}2}=0{,}0001$ $p_{к\text{-}3}=0{,}000001$ $p_{к\text{-}4}=0{,}00001$ $p_{к\text{-}5}=0{,}00001$
	NF1, пг/мл (сыворотка)	1077,857	132,472	840,00	1285,00	$p_{к\text{-}1}=0{,}00001$ $p_{к\text{-}2}=0{,}00001$ $p_{к\text{-}3}=0{,}000001$ $p_{к\text{-}4}=0{,}000001$ $p_{к\text{-}5}=0{,}000001$
Группа 1 (*n* = 66)	p53, нг/мл (сыворотка)	4,188	5,348	0,90	20,45	$p_{1\text{-}3}=0{,}000001$ $p_{1\text{-}4}=0{,}00001$ $p_{1\text{-}5}=0{,}000001$
	bcl-2, нг/мл (сыворотка)	34,423	13,109	14,60	56,00	
	pRb1, нг/мл (сыворотка)	4,684	6,869	0,33	22,20	
	NF1, пг/мл (сыворотка)	4110,769	3554,32	2140,0	15155,00	
Группа 2 (*n* = 60)	p53, нг/мл (сыворотка)	7,730	11,418	0,90	36,10	$p_{2\text{-}3}=0{,}0009$ $p_{2\text{-}5}=0{,}00001$
	bcl-2, нг/мл (сыворотка)	32,653	12,946	15,60	56,00	
	pRb1, нг/мл (сыворотка)	4,842	6,711	0,33	22,20	
	NF1, пг/мл (сыворотка)	4422,333	3472,53	2140,0	15155,00	
Группа 3 (*n* = 63)	p53, нг/мл (сыворотка)	25,446	14,915	2,763	79,20	
	bcl-2, нг/мл (сыворотка)	36,861	13,025	5,635	50,60	
	pRb1, нг/мл (сыворотка)	5,803	1,412	3,74	10,63	$p_{3\text{-}5}=0{,}0003$
	NF1, пг/мл (сыворотка)	3196,212	488,666	2512,5	8590,00	$p_{3\text{-}5}=0{,}00001$
Группа 4 (*n* = 43)	p53, нг/мл (ткань)	25,453	14,803	3,25	72,00	$p_{4\text{-}2}=0{,}00008$
	bcl-2, нг/мл (ткань)	32,053	11,326	4,90	44,00	$p_{4\text{-}3}=0{,}000001$
	pRb1, нг/мл (ткань)	6,827	1,661	4,40	12,50	$p_{4\text{-}3}=0{,}000001$
	NF1, пг/мл (ткань)	3786,667	527,671	3350,0	5400,00	$p_{4\text{-}3}=0{,}0005$ $p_{4\text{-}5}=0{,}015$
Группа 5 (*n* = 31)	p53, нг/мл (НТ)	23,136	8,744	4,78	35,50	$p_{5\text{-}2}=0{,}000001$
	bcl-2, нг/мл (НТ)	34,265	9,930	12,20	48,70	
	pRb1, нг/мл (НТ)	4,121	0,745	2,70	6,80	$p_{5\text{-}3}=0{,}000003$ $p_{4\text{-}5}=0{,}000001$
	NF1, пг/мл (НТ)	4204,194	743,706	1990,0	5210,00	$p_{5\text{-}3}=0{,}00012$

П р и м е ч а н и е. НТ – нативная ткань с отсутвием злокачественного процесса.

bcl-2 (ПРП, сыворотка) и NF1 (ПРП, ткань): r = 0,623, p = 0,002; bcl-2 (ПРП, сыворотка) и p53 (ХГВ): r = 0,468, p = 0,009; bcl-2 (ПРП, сыворотка) и pRb1 (ХГВ): r = 0,514, p = 0,004;

pRb1 (ПРП, сыворотка) и bcl-2 (ПРП, ткань): r = 0,524, p = 0,004; pRb1 (ПРП, сыворотка) и pRb1 (ПРП, ткань): r = 1,00, p = 0,00001; pRb1 (ПРП, сыворотка) и NF1 (ПРП, ткань): r = 0,721, p = 0,004; pRb1 (ПРП, сыворотка) и bcl-2 (НТ): r = 0,404, p = 0,007; pRb1 (ПРП, сыворотка) и pRb1 (ХГВ): r = 0,628, p = 0,003;

NF1 (ПРП, сыворотка) и NF1 (НТ): r = 0,403, p = 0,002;

p53 (ХГВ) и p53 (контроль): r = 0,601, p = 0,002; p53 (ХГВ) и bcl-2 (ПРП, ткань): r = 0,468, p = 0,01; p53 (ХГВ) и bcl-2 (ПРП, сыворотка): r = 0,468, p = 0,02;

pRb1 (ХГВ) и bcl-2 (ПРП, ткань): r = 0,514, p = 0,002; pRb1 (ХГВ) и pRb1 (ПРП, ткань): r = 0,628, p = 0,003; pRb1 (ХГВ) и NF1 (ПРП, ткань): r = 0,652, p = 0,002; pRb1 (ХГВ) и bcl-2 (ПРП, сыворотка): r = 0,514, p = 0,002; pRb1 (ХГВ) и pRb1 (ПРП, сыворотка): r = 0,628, p = 0,003;

NF1 (ХГВ) и pRb1 (НТ): r = 0,384, p = 0,03.

Анализ значимости установленных корреляционных связей регуляторов апоптоза Bcl-2, p53, Rb и NF1 в группах показал наиболее выраженную зависимость между протеинами клеточного цикла при ХГВ и ПРП как в сыворотке крови, так и в образцах экстрактов ткани.

Частота выявления мутаций генов (*BRCA1*, *BRCA2*, *hMSH2*) среди здоровых лиц составила 1,25 % для *BRCA1* (экзон 20, женщина, 47 лет, сельский житель) и 1,25 % для *hMSH2* (экзон 11, женщина 52 лет, городской житель). Мутаций экзонов гена *BRCA2* в контрольной группе не обнаружено [18].

Встречаемость мутаций в экзонах генов в образцах ткани и крови лиц с установленным диагнозом ПРП представлена в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. **Частота выявления мутаций генов *BRCA 1/2* и *hMSH2* в образцах ткани и крови у лиц с ПРП**

T a b l e 2. Detection frequency of mutations in the 7 i 7.3 o 1.5 n f 13.8 rf 2 0

Общее количество мутаций в образцах при ПРП составило 58/6,13 % в образцах опухолевой ткани и 8/0,85 % в образцах крови (p = 0,004). Встречаемость генетических изменений в гене *hMSH2* по 1–16-му экзонам гена в образцах тканей при ПРП составила 52/15,48 %.

Как видно из табл. 2, количество изменений в гене варьировалось и было чаще в экзоне 9 гена *hMSH2* (11/52,38 %), экзоне 1 (10/47,62 %), экзоне 6 (6/28,57 %), экзоне 8 (5/23,81 %), экзоне 2 (4/19,05 %), экзонах 1 и 11 (по 8/29,6 %), экзоне 2 (6/22,2 %), экзонах 4, 12 и 16 (по 3/14,29 %), экзонах 7 и 14 (по 2/9,52 %), экзонах 3, 5 и 10 (по 1/4,76 %).

Детектируемость мутаций в гене *hMSH2* в образцах крови у лиц с ПРП составила 6/1,79 %. Одновременное присутствие мутации гена *hMSH2* в образцах крови и опухолевой ткани у пациентов, позволяет предположить наследственный механизм возникновения ПРП.

В образцах опухолевой ткани и крови пациентов с диагнозом ПРП мутации генов *BRCA1* и *BRCA2* детектированы с частотой 0,63 % в ткани и 0,21 % в крови от числа всех исследуемых образцов (n = 946). Анализ удельного веса изменений в гене среди лиц женского пола с этим диагнозом показал, что на образцы ткани приходится 6/24,0 % случаев, на образцы крови – 2/8,0 % (p < 0,05).

man $r = 0{,}120$, $p = 0{,}39$). Зависимость от возраста пациентов установлена только к протеину гена *NF1* в образцах сыворотки крови лиц при ХГВ ($r = 0{,}571$, $p = 0{,}002$). Связи между экспрессией исследуемых белков в ткани и половой принадлежностью пациентов с РП также не выявлено (Mann–Whitney *U* test – $p = 0{,}631$).

Полученные результаты позволили заключить отсутствие влияния возраста и пола пациентов с ПРП, ХГС, ХГВ на показатели протеинов клеточного цикла NF1, p53, bcl-2 и pRB, за исключением белка NF1 при ХГВ в сыворотке крови. Поскольку содержание NF1, p53, bcl-2 и pRB в исследуемых образцах ткани и сыворотки крови не коррелировало с тканью опухоли, полом и возрастом пациента, определение их в ткани опухоли, в ткани неопухолевой природы и сыворотке крови возможно у пациентов при любой форме ПРП, ХГС, ХГВ и может быть рассмотрено в качестве диагностического маркера.

Для количественной оценки информативности протеинов p53, bcl-2, pRB и NF1 проведен ROC-анализ, позволявший оценить прогностическую способность исследования (рис. 1).

Коэффициент площади под кривой для p53, bcl-2, pRB и NF1 составил следующую информативность (в сравнении с 1,0):

При ПРП: pRb1 (ПРП) – 0,863, порог – 0,497 (хорошая); p53 (ПРП) – 0,657, порог – 0,326 (посредственная); bcl-2 (ПРП) – 0,824, порог – 0,497 (хорошая); NF1 (ПРП) – 0,957, порог – 0,660 (наивысшая).

Рис. 2. Предсказанное значение концентраций протеинов клеточного цикла для лиц со злокачественными процессами ПРП в сыворотке крови: *a* – NF1, *b* – pRB, *c* – bcl-2, *d* – p53

Fig. 2. Predicted value of cell cycle protein concentrations for humans with a malignant process (primary liver cancer, PLC) in blood serum: *a* – NF1, *b* – pRB, *c* – bcl-2, *d* – p53

При ХГС: pRb1 (ВГС) – 0,852, порог – 0,396 (хорошая); p53 (ВГС) – 0,642, порог – 0,231 (посредственная); bcl-2 (ВГС) – 0,719, порог – 0,383 (удовлетворительная); NF1 (ВГС) – 0,942, порог – 0,433 (наивысшая).

При ХГВ: pRb1 (ВГВ) – 0,824, порог – 0,393 (хорошая); p53 (ВГВ) – 0,657, порог – 0,278 (посредственная); bcl-2 (ВГВ) – 0,708, порог – 0,288 (удовлетворительная); NF1 (ВГВ) – 0,835, порог – 0,250 (хорошая).

У здоровых лиц: pRb1 (здоровые) – 0,835, порог – 0,694 (хорошая); p53 (ПРП) – 0,653, порог – 0,653 (посредственная); bcl-2 (ПРП) – 0,708, порог – 0,288 (удовлетворительная); NF1 (ПРП) – 0,747, порог – 0,401 (удовлетворительная).

Оценка p53, bcl-2, pRB и NF1 как диагностических маркеров возможной опухолевой патологии и потенциального риска развития заболевания позволила установить их информативность при ПРП (NF1 – наивысшая, pRb1 и bcl-2 – хорошая), при вирусных гепатитах (NF1 при ХГС – наивысшая, NF1 при ХГВ – хорошая, pRb1 при ХГС/ХГВ – хорошая, bcl-2 при ХГС/ХГВ – удовлетворительная).

По результатам множественной регрессии протеинов клеточного цикла и с учетом возрастных групп пациентов с ПРП оценено предсказанное значение их концентрации для лиц со злокачественными процессами в печени (рис. 2).

Предсказанные значения концентраций NF1, pRB, bcl-2 и p53 для возрастной группы 50,8 года со злокачественными процессами РП в сыворотке крови составили:

для NF – 5191,165 пг/мл (B-значение = –0,000382/0; –95,0 % ИП = 2 301,556 пг/мл, +95,0 % ИП = 8 080,775 пг/мл, t = 4,7962, p = 0,00001, ИП – истинно положительные, стандартная ошибка оценки – ± 10,3 %);

для pRB – 6,215 нг/мл (B-значение = –1,97308/0; –95,0 % ИП = 3,976016 нг/мл, +95,0 % ИП = 8,447137 нг/мл, t = 9,2184, p = 0,00001, ИП – истинно положительные, стандартная ошибка оценки – ± 8,5 %);

для bcl-2 – 40,955 нг/мл (B-значение = 0,263447; –95,0 % ИП = 21,40809 нг/мл, +95,0 % ИП = 60,50323 нг/мл, t = 8,8280, p = 0,00001, ИП – истинно положительные, стандартная ошибка оценки – 8,3 %);

для p53 – 46,183 нг/мл (B-значение = 0,176197; –95,0 % ИП = 27,34699 нг/мл, +95,0 % ИП = 65,01924 нг/мл, t = 14,625, p = 0,0067, ИП – истинно положительные, стандартная ошибка оценки – 8,6 %).

Заключение. Онкогенез – сложный многоэтапный процесс с реорганизацией нормальных клеток организма, при котором рак следует рассматривать как нарушение гомеостатического баланса между ростом и гибелью клеток.

Результаты исследования подтвердили роль протеинов p53, bcl-2, pRB и NF1 в качестве диагностических маркеров в процессе уточняющей диагностики ПРП.

Установленные пределы колебаний концентрации антител к p53, bcl-2, pRB и NF1 в сыворотке крови у здоровых лиц имели достоверные отличия от аналогичных показателей у пациентов с ХГС, ХГВ и ПРП (ткань, сыворотка) и образцов нативной ткани печени при отсутствии морфологически доказанного ПРП (Mann–Whitney U test – $p < 10^{-5}$).

Впервые установлены показатели антител к рецепторам протеинов p53, bcl-2, pRB и NF1 в образцах нативной (здоровой) ткани печени лиц при отсутствии морфологически доказанного ПРП, что можно расценивать как вариант «нормы» (референтные величины): p53 – 23,136 ± 8,744 нг/мл; bcl-2 – 34,265 ± 9,930 нг/мл; pRb1 – 4,121 ± 0,745 нг/мл; NF1 – 4204,194 ± 743,706 пг/мл.

Между протеинами клеточного цикла и механизмами апоптоза клетки при ХГВ и ПРП как в образцах сыворотки крови, так и в образцах экстрактов ткани опухоли прослеживается четкая корреляционная связь.

Мутации генов *BRCA 1/2* и *hMSH2* у лиц с ПРП в крови и в образцах тканей, составившие 6,13 и 0,85 % в образцах крови (p = 0,004), позволяют предположить наследственную природу опухоли.

Наличие мутаций в генах *BRCA 1/2* у женщин следует рассматривать как риск развития ПРП, на что указывает их частота при ПРП, коррелирующая с изменениями в экзонах 6 и 12 гена

hMSH2. Наличие мутаций гена *hMSH2* (экзоны 6, 12) при ПРП следует рассматривать как риск развития ПРП, а ассоциации мутаций генов с вирусами позволяют заключить, что высокий онкогенный потенциал несут такие вирусы, как ВПЧ, ЦМВ, ВГП 1/2, HHV6, ВГВ и ВГС.

Удельный вес микст-инфекции (ДНК/РНК двух и более вирусов) при ПРП составил 9,1 %. На фоне носительства ЦМВ в организме лиц с ХГС возрастают уровни экспрессии bcl-2 и «хранителей клеточного цикла» NF1 ($p = 0{,}001$). Аналогичные изменения в клеточном цикле происходят и при наличии ДНК ВГВ, что способствует увеличению экспрессии генов-супрессоров опухолевого роста pRb1 ($p = 0{,}003$). Вирус Эпштейна–Барр и HHV6 показали положительную корреляционную связь, свидетельствующую об активности регулирующего клеточный цикл белка p53 у лиц с ПРП ($p = 0{,}003$) и NF1 у лиц с ВГС ($p = 0{,}002$) и ВГС ($p = 0{,}001$).

Интерес вызывают гены *BRCA2* (экзон 11) и *hMSH2* (экзоны 4, 7, 16), мутации в которых способствуют росту концентрации p53 и NF1 в группе здоровых лиц ($p = 0{,}002$), и ген *hMSH2* (экзоны 1, 7), когда при отсутствии мутаций в экзонах гена у лиц с ХГС отмечается рост экспрессии NF1 и bcl-2 ($p = 0{,}001$ и $p = 0{,}0019$ соответственно).

Установленные зависимости позволяют заключить следующее: возраст (Median test, $p = 0{,}28$) и пол (Median test, $p = 0{,}33$) при ПРП, ХГС, ХГВ не влияют на показатели NF1, p53, bcl-2 и pRB, за исключением белка NF1 при ХГВ в сыворотке крови. Определение их концентраций в ткани опухоли может использоваться при выполнении диагностических исследований и для контроля полноты объема резекции опухоли при проведении хирургических вмешательств.

Определение p53, bcl-2, pRB и NF1 как диагностических маркеров возможной опухолевой патологии и потенциального риска развития заболевания позволило установить их информативность при ПРП (NF1 – наивысшая, pRb1 и bcl-2 – хорошая), при вирусных гепатитах (NF1 при ХГС – наивысшая, NF1 при ХГВ – хорошая, pRb1 при ХГС/ХГВ – хорошая, bcl-2 при ХГС/ХГВ – удовлетворительная).

Ассоциации протеинов клеточного цикла, степень их влияния на регулирующую функцию генов и повреждение ДНК с учетом присутствующей в геноме ДНК/РНК вирусов и мутаций (*BRCA 1/2*, *hMSH2*) позволяют предположить различную степень онкогенной опасности оцененных вирусов: высокого онкогенного риска – ВГС (при наличии мутации гена *hMSH2*); ЦМВ (при наличии мутации гена *BRCA1*), ВГВ (при наличии мутации гена *BRCA1*), *ВГП 1/2* и ПВЧ у женщин (при наличии мутации генов *BRCA 1/2*), среднего онкогенного риска – ВЭБ (при носительстве ВГВ/ВГС), HHV6 (при носительстве вируса гепатита С).

При наличии ПРП показатели концентраций p53, bcl-2, pRB и NF1 в сыворотке крови, превышающие предсказанные концентрации 5191,165 пг/мл для NF1, 6,215 нг/мл pRB, 40,955 нг/мл для bcl-2 и 46,183 нг/мл для p53 для возрастной группы 50,8 года, свидетельствуют о риске развития/наличия опухолевого процесса, при котором клинические методы обследования не выявляют признаков новообразования.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray [et al.] // CA Cancer J. Clin. – 2018. – Vol. 68, N 6. – P. 394–424. https://doi.org/10.3322/caac.21492

2. Кузнецов, О. Е. Вирус-ассоциированный гепатоцеллюлярный рак печени / О. Е. Кузнецов, В. М. Цыркунов // Гепатология и гастроэнтерология. – 2021. – Т. 5, № 1. – С. 17–24.

3. Mucin expression in liver tumors / O. E. Kuznetsov [et al.] // Int. J. Health Sci. – 2022. – Vol. 6, N S5. – P. 12000–12012. https://doi.org/10.53730/ijhs.v6nS5.11810

4. Mismatch repair genes hMLH1 and hMSH2 and colorectal cancer: a HuGE review / R. J. Mitchell [et al.] // Am. J. Epidemiol. – 2002. – Vol. 156, N 10. – P. 885–902. https://doi.org/10.1093/aje/kwf139

5. Spectrum of mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2 and TP53 in families at high risk of breast cance / T. Walsh [et al.] // JAMA. – 2006. – Vol. 295, N 12. – P. 1379–1388. https://doi.org/10.1001/jama.295.12.1379

6. Increased risk of breast cancer associated with CHEK2*1100delC / M. Weischer [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2007. – Vol. 25, N 1. – P. 57–63. https://doi.org/10.1200/JCO.2005.05.5160

7. Jensen, O. N. Interpreting the protein language using proteomics / O. N. Jensen // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2006. – Vol. 7, N 6. – P. 391–403. https://doi.org/10.1038/nrm1939

8. Vaux, D. L. Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells / D. L. Vaux, S. Cory, J. M. Adams // Nature. – 1988. – Vol. 335, N 6189. – P. 440–442. https://doi.org/10.1038/335440a0

9. Bcl-2 как прогностический фактор в различных молекулярно-генетических подтипах рака молочной железы / И. А. Павленко [и др.] // Архив патологии. – 2012. – Т. 74, № 5. – С. 36–40.

10. The prognostic significance of p53 and bcl-2 expression in lung adenocarcinoma and its correlation with Ki-67 growth fraction / H. Ishida [et al.] // Cancer. – 1997. – Vol. 80, N 6. – P. 1034–1045.

11. Взаимосвязь маркеров апоптоза (P53, BCL-2, BAX) с клинико-морфологическими параметрами и выживаемостью при немелкоклеточном раке легкого / Д. С. Кобяков [и др.] // Сиб. онкол. журн. – 2014. – № 5. – С. 10–16.

12. Phenotype-genotype correlation in children with neuroibromatosis Type 1 / C. Barrea [et al.] // Neuropediatrics. – 2018. – Vol. 49, N 3. – P. 180–184. https://doi.org/10.1055/s-0037-1620239

13. The role of the retinoblastoma protein (Rb) in the nuclear localization of BAG-1: implications for colorectal tumour cell survival / N. K. Clemo [et al.] // Biochem. Soc. Trans. – 2005. – Vol. 33, pt. 4. – P. 676–678. https://doi.org/10.1042/BST0330676

14. pRb inactivation in mammary cells reveals common mechanisms for tumor initiation and progression in divergent epithelia / K. Simin [et al.] // PLoS Biol. – 2006. – Vol. 2, N 2. – Art. E22. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020022

15. Classon, M. The retinoblastoma tumour suppressor in development and cancer / M. Classon, E. Harlow // Nat. Rev. Cancer. – 2003. – Vol. 2, N 12. – P. 910–917. https://doi.org/10.1038/nrc950

16. Горчакова, О. В. Метод выявления мутаций в гене hMLH1 при опухолях кишечника / О. В. Горчакова, О. Е. Кузнецов // Мед. новости. – 2019. – № 2. – С. 76–80.

17. Сравнение компьютерных программ для проведения описательной статистики и ROC-анализа / Ю. В. Кореновский [и др.] // Медицина в Кузбассе. – 2017. – Т. 15, № 3. – С. 40–44.

18. Кузнецов, О. Е. Ассоциации генетических вариантов генов и вирусной ДНК/РНК при раке печени и толстого кишечника / О. Е. Кузнецов, В. М. Цыркунов // Вестн. ВГМУ. – 2022. – Т. 21, № 6. – С. 38–46.

References

1. Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R. L., Torre L. A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *Cancer Journal for Clinicians*, 2018, vol. 68, no. 6, pp. 394–424. https://doi.org/10.3322/caac.21492

2. Kuznetsov O. E., Tsyrkunov V. M. Virus-associated hepatocellular carcinoma of the liver. *Gepatologiya i gastroenterologiya* [Hepatology and gastroenterology], 2021, vol. 5, no. 1, pp. 17–24 (in Russian).

3. Kuznetsov O. E., Tsyrkunov V. M., Ali Adeeb Hussein A., Kerimova S. Sh. Mucin expression in liver tumors. *International Journal of Health Sciences*, 2022, vol. 6, no. S5, pp. 12000–12012. https://doi.org/10.53730/ijhs.v6nS5.11810

4. Mitchell R. J., Farrington S. M., Dunlop M. G., Campbell H. Mismatch repair genes hMLH1 and hMSH2 and colorectal cancer: a HuGE review. *American Journal of Epidemiology*, 2002, vol. 156, no. 10, pp. 885–902. https://doi.org/10.1093/aje/kwf139

5. Walsh T., Casadei S., Coats K. H., Swisher E., Stray S. M., Higgins J. [et al.]. Spectrum of mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2 and TP53 in families at high risk of breast cance. *Journal of the American Medical Association*, 2006, vol. 295, no. 12, pp. 1379–1388. https://doi.org/10.1001/jama.295.12.1379

6. Weischer M., Bojesen S. E., Tybjaerg-Hansen A., Axelsson C. K., Nordestgaard B. G. Increased risk of breast cancer associated with CHEK2*1100delC. *Journal of Clinical Oncology*, 2007, vol. 25, no. 1, pp. 57–63. https://doi.org/10.1200/JCO.2005.05.5160

7. Jensen O. N. Interpreting the protein language using proteomics. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2006, vol. 7, no. 6, pp. 391–403. https://doi.org/10.1038/nrm1939

8. Vaux D. L., Cory S., Adams J. M. Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature*, 1988, vol. 335, no. 6189, pp. 440–442. https://doi.org/10.1038/335440a0

9. Pavlenko I. A., Povilaitite P. E., Gorelik M. Z., Petrov A. V. Bcl-2 as a prognostic factor in various molecular genetic subtypes of breast cancer. *Arkhiv patologii* [Pathology archive], 2012, vol. 74, no. 5, pp. 36–40 (in Russian).

10. Ishida H., Irie K., Itoh T., Furukawa T., Tokunaga O. The prognostic significance of p53 and bcl-2 expression in lung adenocarcinoma and its correlation with Ki-67 growth fraction. *Cancer*, 1997, vol. 80, no. 6, pp. 1034–1045.

11. Kobyakov D. S., Lazarev A. F., Lushnikova E. L., Nepomnyashchikh L. M. Correlation of apoptosis markers (P53, VCL-2, BAH) with clinic-morphological parameters and survival in non-small cell lung cancer. *Sibirskii onkologicheskii zhurnal* [Siberian journal of oncology], 2014, no. 5, pp. 10–16 (in Russian).

12. Barrea C., Vaessen S., Bulk S., Harvengt J., Misson J.-P. Phenotype-genotype correlation in children with neuroibromatosis. Type 1. *Neuropediatrics*, 2018, vol. 49, no. 3, pp. 180–184. https://doi.org/10.1055/s-0037-1620239

13. Clemo N. K., Arhel N. J., Barnes J. D., Baker J., Moorghen M., Packham G. K., Paraskeva C., Williams A. C. The role of the retinoblastoma protein (Rb) in the nuclear localization of BAG-1: implications for colorectal tumour cell survival. *Biochemical Society Transactions*, 2005, vol. 33, pt. 4, pp. 676–678. https://doi.org/10.1042/BST0330676

14. Simin K., Wu H., Lu L., Pinkel D., Albertson D., Cardiff R. D., Van Dyke T. pRb inactivation in mammary cells reveals common mechanisms for tumor initiation and progression in divergent epithelia. *PLoS Biology*, 2006, vol. 2, no. 2, art. E22. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020022

15. Classon M., Harlow E. The retinoblastoma tumour suppressor in development and cancer. *Nature Reviews Cancer*, 2003, vol. 2, no. 12, pp. 910–917. https://doi.org/10.1038/nrc950

16. Gorchakova O. V., Kuznetsov O. E. Method for detecting mutations in the nMLN1 gene in intestinal tumors. *Meditsinskie novosti* [Medical news], 2019, no. 2, pp. 76–80 (in Russian).

17. Korenovskii Yu. V., Kudinov A. V., Suzopov E. V., Popovtseva A. V. Comparison of computer programs for descriptive statistics and ROC analysis. *Meditsina v Kuzbasse* [Medicine in Kuzbass], 2017, vol. 15, no. 3, pp. 40–44 (in Russian).

18. Kuznetsov O. E., Tsyrkunov V. M. Associations of genetic variants of genes and viral DNA/RNA in liver and colon cancer. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* [Bulletin of Vitebsk State Medical University], 2022, vol. 21, no. 6, pp. 38–46 (in Russian).

Информация об авторе

Кузнецов Олег Евгеньевич – канд. биол. наук, доцент, директор. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (пл. Антония Тызенгауза, 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0002-1348-8688. E-mail: olegkuznetsov@inbox.ru

Information about the author

Aleh E. Kuzniatsou – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Director. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (7, Anthony Tyzengauz Sq., 230023, Grodno, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0002-1348-8688. E-mail: olegkuznetsov@inbox.ru