

ISSN 1561-8323 (Print)

ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 577.21:575.174.015.3

Поступило в редакцию 27.12.2017

Received 27.12.2017

А. Н. Щаюк¹, Э. В. Крупнова¹, М. Н. Шепетько², Е. П. Михаленко¹, Н. В. Чеботарёва¹,
С. Ю. Дедик², академик А. В. Кильчевский¹

¹Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

Аннотация. Ключевым процессом в патогенезе любых злокачественных новообразований, в том числе и немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), является ангиогенез, который активируется двумя тирозинкиназными каскадами (RAS/RAF/MAPK и PI3K/AKT/mTOR). Основными генами, контролирующими эти пути, являются *EGFR*, *KRAS*, *PIK3CA* и *PTEN*. В исследовании проанализированы мутации в 18–21 экзонах гена *EGFR*, 2 экзоне гена *KRAS*, 9 и 20 экзонах гена *PIK3CA* и 7 экзоне гена *PTEN* у пациентов с НМРЛ, проживающих на территории Беларуси, и изучена их связь с клинико-морфологическими характеристиками опухоли. Полученные результаты показали, что мутации в гене *EGFR* достоверно чаще в 5 раз встречаются у пациентов с НМРЛ, чем в контрольной группе. Классические мутации в гене *EGFR* обнаружены только у пациентов с аденокарциномой легкого, преимущественно у женщин. Мутации гена *KRAS* встречаются только у мужчин, причем у пациентов с аденокарциномой в 3 раза чаще, чем у пациентов с плоскоклеточным раком легкого. В данном исследовании не выявлено соматических мутаций в генах *PIK3CA* и *PTEN* у пациентов с НМРЛ.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, аденокарцинома легкого, плоскоклеточный рак легкого, ангиогенез, мутации гена *EGFR*, мутации гена *KRAS*, мутации гена *PIK3CA*, мутации гена *PTEN*

Для цитирования: Генетический полиморфизм внутриклеточных сигнальных путей у пациентов с немелкоклеточным раком легкого / А. Н. Щаюк [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 1. – С. 78–85.

Anna N. Shchayuk¹, Evelina V. Krupnova¹, Michail N. Shapetska², Alena P. Mikhalkenka¹,
Natalia V. Chebotareva¹, Sergej Y. Dedik², Academician Aleksandr V. Kilchevsky¹

¹Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

GENETIC POLYMORPHISM OF INTRACELLULAR SIGNAL PATHWAYS IN PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER

Abstract. The key process in the pathogenesis of any malignant neoplasms, including non-small cell lung cancer (NSCLC), is the angiogenesis that is activated by two tyrosine kinase cascades (RAS/RAF/MAPK and PI3K/AKT/mTOR). The main genes controlling these pathways are *EGFR*, *KRAS*, *PIK3CA* and *PTEN*. The study analyzed the mutations in 18–21 exons of the *EGFR* gene, 2 exons of the *KRAS* gene, 9 and 20 exons of the *PIK3CA* gene and 7 exons of the *PTEN* gene in patients with NSCLC living in Belarus and their relationship with the clinical and morphological characteristics of the tumor. Our results revealed that mutations in the *EGFR* gene are significantly frequent more than 5 times in patients with non-small cell lung cancer than those in the control group. Classical mutations in the *EGFR* gene are found only in patients with lung adenocarcinoma, predominantly in women. Mutations of the *KRAS* gene are found only in men, and in patients with adenocarcinoma it is 3 times more likely than in patients with squamous cell lung carcinoma. There are no somatic mutations in the *PIK3CA* and *PTEN* genes in patients with NSCLC in this study.

Keywords: non-small cell lung cancer, lung adenocarcinoma, squamous cell lung cancer, angiogenesis, mutations of the *EGFR* gene, mutations of the *KRAS* gene, mutations of the *PIK3CA* gene, mutations of the *PTEN* gene

For citation: Shchayuk A. N., Krupnova E. V., Shapetska M. N., Mikhalkenka A. P., Chebotareva N. V., Dedik S. Y., Kilchevsky A. V. Genetic polymorphism of intracellular signal pathways in patients with non-small cell lung cancer. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 1, pp. 78–85 (in Russian).

Введение. Рак легкого (РЛ) является одним из самых распространенных злокачественных новообразований. Группа немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) составляет 85 % от всех типов рака легкого. НМРЛ представлен наиболее часто встречающимися типами: аденокарциномой легкого (АК) и плоскоклеточным раком легкого (ПКРЛ).

Ключевым процессом в патогенезе любых злокачественных новообразований, в том числе и НМРЛ, является ангиогенез. Известно, что ангиогенез данных гистологических типов – ПКРЛ и АК – осуществляется путем активации двух разных тирозинкиназных каскадов (RAS/RAF/MAPK и PI3K/AKT/mTOR), которые регулируют различные клеточные функции, такие как пролиферация, выживание, дифференциация, рост и подвижность клеток [1–3]. Основными генами, контролирующими эти пути, являются *EGFR*, *KRAS*, *PIK3CA* и *PTEN*.

Ген *EGFR* кодирует тирозинкиназный рецептор эпидермального фактора роста, который в свою очередь является одним из основных трансмембранных рецепторов, передающих сигнал внутрь клетки через пути RAS/RAF/MAPK и PI3K/AKT/mTOR, тем самым запуская процесс ангиогенеза. Соматические мутации в гене *EGFR* приводят к тому, что рецептор может активироваться в отсутствие фактора роста EGF, автономно передавая сигнал фосфорилирования на внутриклеточные сигнальные каскады [4–6].

Протоонкоген *KRAS*, кодирующий одноименный белок, является основным компонентом внутриклеточных сигнальных путей ангиогенеза. Во многих опухолевых клетках RAS-зависимые сигнальные каскады находятся в постоянно активном состоянии вследствие возникновения мутаций в гене *KRAS* [7].

Соматические мутации в гене *PIK3CA*, кодирующем каталитическую субъединицу p110 α фосфатидил-инозитол 3'-киназы (PI3K), играют значительную роль в патогенезе и прогрессии опухолей [8; 9]. Показано, что эти мутации повышают киназную активность PI3K, ведут к усиленной активации нижележащей киназы Akt и передаче сигнала в ядро клетки [10]. PI3K инактивируется фосфатазой, кодируемой геном-онкосупрессором PTEN. Мутации этого гена приводят к инактивации фосфатазы и обуславливают развитие онкологических заболеваний [11].

Учитывая многоплановую роль генов внутриклеточных сигнальных каскадов в патогенезе рака, представляется перспективным их исследование с целью выявления маркеров, отражающих закономерности развития онкозаболевания, и, зная, как будет протекать ангиогенез, можно скорректировать индивидуальную противоопухолевую терапию.

Целью данного исследования является изучение мутаций в 18–21 экзонах гена *EGFR*, 2 экзонах гена *KRAS*, 9 и 20 экзонах гена *PIK3CA* и 7 экзоне гена *PTEN* у пациентов с НМРЛ, проживающих на территории Беларуси.

Материалы и методы исследования. В исследование вошли 106 пациентов с гистологически и морфологически подтвержденным диагнозом НМРЛ, находившихся на лечении в УЗ «Минский городской клинический онкологический диспансер» с 2003 по 2017 годы. Среди них у 51 человека установлен диагноз ПКРЛ, а у 55 – АК легкого. Гистологический тип НМРЛ устанавливался согласно гистологическим критериям ВОЗ.

Контрольную группу составил 81 человек, умерший от неонкологических заболеваний.

ДНК выделяли из образцов опухолевой и неопухолевой ткани легкого пациентов и из ткани легкого людей контрольной группы. Ткани гомогенизировали и подготавливали для выделения ДНК методом, адаптированным в лаборатории криоконсервации генетических ресурсов Института генетики и цитологии НАН Беларуси, дальнейшее выделение ДНК из образцов опухолевой и неопухолевой ткани проводили методом Mathew [12].

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили на амплификаторе MyCycler™ Thermal cycler (BIORAD). Праймеры, использованные в работе, синтезировались ОДО «Праймтех» (Минск). Изготовитель реагентов для проведения ПЦР и ПДРФ–ПЦР – НПО «Fermentas» (Вильнюс).

Анализ мутаций проводили путем ПЦР с последующим секвенированием и анализом полученных результатов путем капиллярного фореза с помощью автоматического генетического анализатора Applied Biosystems 3500 DNA Analyzer.

Статистическая обработка материала проводилась с использованием пакета прикладных программ Excel, Statistica 7.0, GraphPad InStat 3.05 и онлайн-программы SNPStats (http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats_web). Для проверки достоверности при сравнении частот генотипов в группах применяли точный критерий Фишера. Связь между мутациями и возникновением заболевания оценивали по отношению шансов OR (95 % CI).

Результаты и их обсуждение. В исследовании изучали мутации в 18–21 экзонах гена *EGFR*, кодирующих тирозинкиназный домен рецептора, во 2 экзоне гена *KRAS*, 9 и 20 экзонах гена *PIK3CA* и 7 экзоне гена *PTEN*. Мутации в данных экзонах исследуемых генов могут нарушать структуру и функции белков, которые играют ключевую роль в активации рассматриваемых сигнальных путей. В исследуемой группе пациентов с НМРЛ не выявлено носителей мутаций в 9 и 20 экзонах гена *PIK3CA* и 7 экзоне гена *PTEN*.

Анализ мутаций гена *EGFR* показал, что в исследуемой группе пациентов с НМРЛ выявлены как классические, так и молчащие мутации гена *EGFR* (табл. 1). Частота встречаемости всех мутаций гена *EGFR* у пациентов с НМРЛ составила 24,5 %, что в 5 раз достоверно выше, чем в контрольной группе (OR = 6,26; 95 % CI 2,08–18,77).

Т а б л и ц а 1. Частота встречаемости мутаций генов внутриклеточных сигнальных путей в контрольной группе и у пациентов с АК и ПКРЛ

Table 1. Frequency of occurrence of gene mutations of intracellular signal pathways in patients with lung adenocarcinoma and with squamous cell lung carcinoma

Тип мутации Mutation type	Мутации, n (%) Mutations, n (%)			
	Контроль, n = 81 Control, n = 81	НМРЛ, n = 106	АК, n = 51	ПКРЛ, n = 55
Все мутации <i>EGFR</i> , из них:	4 (4,9)*	26 (24,5)*	18 (35,2)**	8 (14,5)**
1. Классические мутации <i>EGFR</i>	0 (–)	12 (11,3)	12 (23,5)	0 (–)
Делеции в 19 экзоне (p.E746_A750del, p.L747_P753delinsS)	0 (–)	7 (6,6)	7 (13,7)	0 (–)
Инсерции в 20 экзоне (p.A763_Y764insFQEA)	0 (–)	4 (3,8)	4 (7,8)	0 (–)
Миссенс-мутация в 21 экзоне (p.L858R)	0 (–)	1 (0,9)	1 (2,0)	0 (–)
2. Молчащие мутации <i>EGFR</i>	4 (4,9)	14 (13,2)	6 (11,7)	8 (14,5)
18 интрон (с.2184+19G>A)				
Гетерозиготная мутация (GA)	3 (3,7)	10 (9,4)	4 (7,3)	6 (11,8)
Гомозиготная мутация (AA)	0 (–)	1 (0,9)	0 (–)	1 (2,0)
21 экзон (с.2508C>T)				
Гетерозиготная мутация (CT)	1 (1,2)	3 (2,8)	2 (3,9)	1 (1,8)
Мутации 2 экзона гена <i>KRAS</i>	0 (–)	4 (3,8)	3 (5,9)	1 (1,8)
p.G12C (с.34G>T)	0 (–)	2 (1,9)	2 (3,9)	0 (–)
p.G12D (с.35G>A)	0 (–)	1 (0,9)	0 (–)	1 (1,8)
p.G13C (с.37G>T)	0 (–)	1 (0,9)	1 (2,0)	0 (–)

П р и м е ч а н и е: * – $p = 0,0002$, ** – $p = 0,0228$. НМРЛ – немелкоклеточный рак легкого, АК – аденокарцинома, ПКРЛ – плоскоклеточный рак легкого.

N o t e: * – $p = 0.0002$, ** – $p = 0.0228$. НМРЛ – non-small cell lung cancer, АК – adenocarcinoma, ПКРЛ – squamous cell lung carcinoma.

При анализе ассоциации мутаций гена *EGFR* с определенным гистологическим типом НМРЛ выявлено, что в АК мутации гена *EGFR* встречаются достоверно чаще, чем в ПКРЛ (OR = 3,21; 95 % CI 1,25–8,24).

В общей исследуемой группе пациентов с НМРЛ частота встречаемости классических мутаций в гене *EGFR* составила 11,3 %, причем обнаружены они только у пациентов с АК, что составляет 23,5 % пациентов с данным гистологическим типом (табл. 1). Анализ полученных результатов секвенирования гена *EGFR* выявил три типа классических мутаций: делеции в 19 экзоне, инсерции в 20 экзоне и миссенс мутацию L858R в 21 экзоне.

В 19 экзоне гена *EGFR* при делеции p.E746_A750del выпадают четыре аминокислоты (глутаминовая кислота, лейцин, аргинин, аланин), а при делеции p.L747_P753delinsS выпадают 6 аминокислот (лейцин, аргинин, аланин, тирозин, серин, пролин) и происходит вставка серина. Эти делеции приводят к изменению позиции аминокислот в АТФ-связывающей петле и конститутивной активации рецептора EGFR. Из обнаруженных делеций в 19 экзоне наиболее часто встречается делеция p.E746_A750del (85 % от всех обнаруженных делеций).

При инсерции р.А763_Y764insFQEA в 20 экзоне гена *EGFR* происходит вставка четырех аминокислот: фенилаланина, глутамина, глутаминовой кислоты и аланина. Инсерции, расположенные до метионина в 766 положении, приводят к изменению конформации активационной петли тирозинкиназного домена, в результате чего рецептор *EGFR* активируется автономно.

Замена лейцина на аргинин в 21 экзоне в 858 положении в нашей популяции встречается редко, определена только у одного человека (4 % от всех обнаруженных классических мутаций). Эта мутация изменяет конформацию активационной петли тирозинкиназного домена и так же, как и делеции в 19 экзоне, служит причиной конститутивной активации рецептора *EGFR*.

Все обнаруженные классические мутации гена *EGFR* выявлены только в опухолевой ткани пациентов и отсутствуют в контрольной группе, что является маркерным признаком опухоли.

Классические мутации в гене *EGFR* приводят к конститутивной активации тирозинкиназного домена рецептора, в результате чего происходит постоянная передача сигнала, что способствует агрессивному росту опухолей, независимо от наличия или отсутствия сигналов от рецепторов факторов роста. Наличие в нашем исследовании классических мутаций только у пациентов с АК (табл. 1) соответствует данным ряда опубликованных работ, в которых показано преобладание среди пациентов с мутациями именно пациентов с аденокарциномой легкого, и эти мутации чаще встречаются у некурящих женщин азиатского происхождения [4; 13].

Помимо классических мутаций, изменяющих структуру тирозинкиназного домена рецептора *EGFR*, в исследуемой группе пациентов с НМРЛ были обнаружены молчащие мутации гена *EGFR*, которые не влияют на функцию рецептора (табл. 1), но могут оказывать на него влияние на посттранскрипционном уровне. В исследуемой группе пациентов обнаружены точечные замены в 18 интроне (с.2184+19G>A) и в 21 экзоне (с.2508C>T). Эти мутации выявлены в опухолевой и неопухолевой ткани, а также в крови пациентов с НМРЛ. Кроме того, данные мутации встречаются и в контрольной группе. Однако в общей исследуемой группе пациентов с НМРЛ частота встречаемости молчащих мутаций в 2,7 раз выше, чем в контрольной группе (13,2 и 4,9 % соответственно).

Анализ ассоциации данных мутаций с определенным гистологическим типом НМРЛ показал (табл. 1), что в 18 интроне гетерозиготная мутация с.2184+19GA гена *EGFR* чаще встречается у пациентов с ПКРЛ, чем с АК (11,8 и 7,3 % соответственно) и значительно выше по сравнению с контролем. Гомозиготная мутация с.2184+19AA гена *EGFR* выявлена только у пациентов с ПКРЛ (2,0 %) и не встречается как у пациентов с АК, так и в контроле. Частота замены в 21 экзоне (с.2508C>T) у пациентов с АК в 2 раза выше, чем у пациентов с ПКРЛ и в 3 раза выше, чем в контроле (3,9; 1,8 и 1,2 % соответственно).

Молчащая мутация с.2184+19G>A гена *EGFR* располагается в начале 18 интрона в GA-богатой области, ответственной за вырезание интрона в процессе сплайсинга белка. В результате мутации происходит конформационное изменение матричной РНК гена *EGFR* и факторы сплайсинга не могут присоединиться к данному участку. В результате чего сплайсосома не собирается, и процесс вырезания интрона нарушается. Это изменяет структуру рецептора, что влияет на его функции – рецептор находится в постоянно активном состоянии без присоединения лиганда и способствует стимуляции ангиогенеза в опухоли [5].

Мутация с.2508C>T в 21 экзоне располагается в кодирующей области гена *EGFR*, однако не приводит к замене аминокислоты и изменению структуры рецептора. Выявление этих мутаций не только в тканях, но и в крови позволит заранее определить развитие АК или ПКРЛ у пациентов с НМРЛ и даст возможность скорректировать применяемую терапию.

Исследование мутаций во 2 экзоне гена *KRAS* в общей группе пациентов с НМРЛ выявило три типа мутаций: замена в 12 кодоне глицина на аспарагиновую кислоту (р.G12D) и замена глицина на цистеин (р.G12C), а также замена в 13 кодоне глицина на цистеин (р.G13C). Частота встречаемости этих мутаций составила 3,8 % (табл. 1). Данные мутации обнаружены только в опухолевой ткани пациентов с НМРЛ, в контрольной группе – **не выявлены**. Анализ ассоциации мутаций гена *KRAS* с определенным гистологическим типом НМРЛ показал, что у пациентов с АК мутации встречаются в 3 раза чаще, чем у пациентов с ПКРЛ, что составляет 5,9 и 1,8 % соответственно. В исследуемой группе пациентов мутации р.G12C и р.G13C гена *KRAS* встречаются только у пациентов с ПКРЛ, а мутация р.G12D гена *KRAS* у пациентов с АК легкого.

Мутации в гене *KRAS* приводят к конститутивной активации белка, в результате чего происходит постоянная передача сигнала. *KRAS* играет важную роль в нисходящем сигнальном пути RAS/RAF/MAPK и передает сигнал от EGFR внутрь клетки, что приводит к активации пролиферации клеток и стимуляции ангиогенеза. Данный путь преимущественно активируется при аденокарциноме, тогда как альтернативный путь – PI3K/AKT/mTOR – характерен для плоскоклеточного рака, и его активация осуществляется преимущественно через фосфоинозитол-3-киназу (PI3K) [14]. Однако в исследуемой популяции не выявлено мутаций в генах *PIK3CA* и *PTEN*. Можно предположить, что активация киназы PI3K и соответствующего сигнального пути идет не непосредственно через рецепторы факторов роста, а путем первоначальной активации белка RAS и передачи сигнала на PI3K/AKT/mTOR-путь.

На следующем этапе работы был проведен анализ распределения частоты встречаемости изучаемых мутаций в зависимости от пола пациентов (табл. 2). Выявлено, что мутации гена *EGFR* достоверно чаще встречаются у женщин с НМРЛ по сравнению с женщинами контрольной группы (OR = 14,22; 95 % CI 3,51–57,51; $p < 0,0001$) и достоверно чаще, чем у мужчин с НМРЛ (OR = 9,07; 95 % CI 3,33–24,66; $p < 0,0001$).

Т а б л и ц а 2. Частота встречаемости мутаций генов внутриклеточных сигнальных путей в зависимости от пола пациентов

Table 2. Frequency of occurrence of gene mutations of intracellular signal pathways depending on the patient sex

Тип мутации Mutation type	Мутации, n (%) Mutations, n (%)			
	Мужчины Men		Женщины Women	
	Контроль, n = 46 Control, n = 46	Пациенты, n = 78 Patients, n = 78	Контроль, n = 35 Control, n = 35	Пациенты, n = 28 Patients, n = 28
Все мутации <i>EGFR</i> , из них:	1 (2,2)	10 (12,8)**	3 (8,6)*	16 (57,1)**
1. Классические мутации <i>EGFR</i>	0 (–)	1 (1,3)	0 (–)	11 (39,3)
Делеции в 19 экзоне (p.E746_A750del, c.L747_P753delinsS)	0 (–)	0 (–)	0 (–)	7 (25,0)
Инсерции в 20 экзоне (p.A763_Y764insFQEA)	0 (–)	1 (1,3)	0 (–)	3 (10,7)
Миссенс-мутация в 21 экзоне (p.L858R)	0 (–)	0 (–)	0 (–)	1 (3,6)
2. Молчащие мутации <i>EGFR</i>	1 (2,2)	9 (11,5)	3 (8,6)	5 (17,8)
18 интрон (c.2184+19G>A)				
Гетерозиготная мутация (GA)	1 (2,2)	8 (10,3)	2 (5,7)	2 (7,1)
Гомозиготная мутация (AA)	0 (–)	0 (–)	0 (–)	1 (3,6)
21 экзон (c.2508C>T)				
Гетерозиготная мутация (CT)	0 (–)	1 (1,3)	1 (2,9)	2 (7,1)
Мутации 2-го экзона гена <i>KRAS</i>	0 (–)	4 (5,2)	0 (–)	0 (–)
p.G12C (c.34G>T)	0 (–)	2 (2,6)	0 (–)	0 (–)
p.G12D (c.35G>A)	0 (–)	1 (1,3)	0 (–)	0 (–)
p.G13C (c.37G>T)	0 (–)	1 (1,3)	0 (–)	0 (–)

Примечание: * – $p < 0,0001$, ** – $p < 0,0001$.

Note: * – $p < 0,0001$, ** – $p < 0,0001$.

Установлено, что классические мутации гена *EGFR* обнаружены преимущественно у женщин: в группе пациентов женского пола частота мутаций составила 39,3 %, а среди мужчин только 1,3 %. Мутация представлена в виде инсерции p.A763_Y764insFQEA в 20 экзоне гена *EGFR* (табл. 2).

Частота встречаемости молчащих мутаций гена *EGFR* у мужчин и женщин с НМРЛ составляет 11,5 и 17,8 % соответственно (табл. 2). У мужчин с НМРЛ эти мутации встречаются в 5 раз чаще, чем у мужчин контрольной группы, у женщин-пациенток – в 2 раза чаще по сравнению с женщинами контрольной группы. Гетерозиготная мутация c.2184+19GA в 18 интроне встречается и у мужчин, и у женщин (10,3 и 7,1 %), а гомозиготная мутация c.2184+19AA обнаружена

только у женщин (3,6 %). Мутация с.2508C>T в 21 экзоне встречается в 2 раза чаще у женщин с НМРЛ, чем у женщин контрольной группы, и в 5,5 раз чаще по сравнению с мужчинами с НМРЛ (7,1, 2,9 и 1,3 % соответственно).

Соматические мутации гена *EGFR* являются молекулярным маркером чувствительности опухоли легкого к лечению таргетными препаратами, направленными на ингибирование тирозинкиназ. С одной стороны, наличие таких мутаций может являться одним из ключевых механизмов опухолевой прогрессии, так как приводит к избыточной активности мутантного рецептора после его связывания с лигандом, а с другой стороны – может способствовать эффективному и более длительному связыванию лекарственных препаратов. Поэтому в таком случае тирозинкиназные ингибиторы в большей степени блокируют активность мутантного рецептора, чем не-мутированного *EGFR*. Эти препараты обладают мощным терапевтическим действием посредством избирательного повреждающего воздействия на опухолевую ткань. Их эффект направлен на инактивацию рецептора с целью блокирования механизмов передачи ростового сигнала в опухоли, подавления пролиферации, дифференцировки и ангиогенеза [2–5]. Следовательно, выявление пациентов с такими мутациями позволит корректировать эффективность лечения у конкретного пациента и максимально индивидуализировать и усилить терапевтический подход в лечении НМРЛ.

В исследуемой популяции мутации в гене *KRAS* обнаружены только у мужчин (5,2 % от общего числа пациентов мужского пола) и не выявлены у женщин (табл. 2). Мутации генов *KRAS* и *EGFR* являются взаимоисключающими, т. е. у одного и того же пациента может быть мутация либо в гене *EGFR*, либо в гене *KRAS*, так как и те и другие приводят к активации сигнального каскада RAS/RAF/МАРК. Этим и можно объяснить наличие в нашем исследовании мутаций гена *KRAS* только у мужчин и мутаций гена *EGFR* преимущественно у женщин. Полученные результаты соответствуют данным, полученным Н. Н. Мазуренко и соавт., согласно которым также выявлено преобладание мужчин среди пациентов с мутациями гена *KRAS* [15].

Пациенты с мутациями гена *KRAS* являются нечувствительными к таргетным препаратам, ингибирующим тирозинкиназный рецептор *EGFR*, поэтому определение этих мутаций позволит выделить группу пациентов, которым необходимо выбирать другую тактику лечения, помимо таргетной терапии.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в исследуемой группе мутации генов *EGFR* и *KRAS* играют важную роль в патогенезе НМРЛ. Таким образом, молекулярно-генетический анализ определения нарушений в генах, контролирующих ангиогенез опухоли, является важным для прогнозирования развития НМРЛ и корректировки индивидуальной терапии пациентов.

Заключение. В исследуемой популяции важную роль в активации внутриклеточных сигнальных путей при НМРЛ играют мутации генов *EGFR* и *KRAS*. Мутации в гене *EGFR* достоверно чаще в 5 раз встречаются у пациентов с НМРЛ, чем в контрольной группе. Классические мутации в гене *EGFR* обнаружены только у пациентов с АК, преимущественно у женщин. Мутации гена *KRAS* встречаются только у мужчин, причем у пациентов с АК в 3 раза чаще, чем у пациентов с ПКРЛ. Определение мутаций в генах *EGFR* и *KRAS* позволит выделить группы пациентов, чувствительных и нечувствительных к таргетной терапии, что даст возможность правильного и индивидуального применения к пациентам таргетных препаратов, направленных на ингибирование тирозинкиназных рецепторов. В данном исследовании не выявлено соматических мутаций в генах *PIK3CA* и *PTEN* у пациентов с НМРЛ.

Список использованных источников

1. Epidermal growth factor receptor pathway mutation and expression profiles in cervical squamous cell carcinoma: therapeutic implications / S. Bumrungthai [et al.] // *J. Transl. Med.* – 2015. – Vol. 13, N 244. doi.org/10.1186/s12967-015-0611-0
2. Genomic profiling toward precision medicine in non-small cell lung cancer: getting beyond EGFR / A. L. Richer [et al.] // *Pharmacogenomics and Personalized Medicine.* – 2015. – Vol. 8. – P. 63–79. doi.org/10.2147/pgpm.s52845
3. Nedergaard, M. K. Targeting the Epidermal Growth Factor Receptor in Solid Tumor Malignancies / M. K. Nedergaard, C. J. Hedegaard, H. S. Poulsen // *Biodrugs.* – 2012. – Vol. 26, N 2. – P. 83–99. doi.org/10.2165/11599760-000000000-00000
4. Xiao-Li, Jia. EGFR and KRAS mutations in Chinese patients with adenocarcinoma of the lung / Xiao-Li Jia, Gang Chen // *Lung Cancer.* – 2011. – Vol. 74, N 3. – P. 396–400. doi.org/10.1016/j.lungcan.2011.04.005

5. Mitsudomi, T. Molecular epidemiology of lung cancer and geographic variations with special reference to EGFR mutations / T. Mitsudomi // *Transl. Lung Cancer Res.* – 2014. – Vol. 3, N 4. – P. 205–211.
6. Targeting KRAS mutated non-small cell lung cancer: A history of failures and a future of hope for a diverse entity / A. Matikas [et al.] // *Critical Reviews in Oncology/Hematology.* – 2017. – Vol. 110. – P. 1–12. doi.org/10.1016/j.critrevonc.2016.12.005
7. Effect of KRAS oncogene substitutions on protein behavior: implications for signaling and clinical outcome / N. T. Ihle [et al.] // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2012. – Vol. 104, N 3. – P. 228–239. doi.org/10.1093/jnci/djr523
8. PIK3CA mutations associated with gene signature of low mTORC1 signaling and better outcomes in estrogen receptor-positive breast cancer / S. Loi [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2010. – Vol. 107, N 22. – P. 10208–10213. doi.org/10.1073/pnas.0907011107
9. Roles of the Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR pathways in controlling growth and sensitivity to therapy-implications for cancer and aging / L. S. Steelman [et al.] // *Aging.* – 2011. – Vol. 3, N 3. – P. 192–222. doi.org/10.18632/aging.100296
10. Knockin of mutant PIK3CA activates multiple oncogenic pathways / J. P. Gustin [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2009. – Vol. 106, N 8. – P. 2835–2840. doi.org/10.1073/pnas.0813351106
11. Song, M. S. The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor / M. S. Song, L. Salmena, P. P. Pandolfi // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2012. – Vol. 13, N 5. – P. 283–296. doi.org/10.1038/nrm3330
12. Mathew, C. C. The isolation of high molecular weight eucaryotic DNA / C. C. Mathew // *Nucleic Acids. Methods in Molecular Biology* / ed. J. M. N. J. Walker. – Clifton: Human Press, 1984. – Vol. 2. – P. 31–34. doi.org/10.1385/0-89603-064-4:31
13. Prospective Analysis of Oncogenic Driver Mutations and Environmental Factors: Japan Molecular Epidemiology for Lung Cancer Study / T. Kawaguchi [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2016. – Vol. 34, N 19. – P. 2247–2257. doi.org/10.1200/jco.2015.64.2322
14. Updated Frequency of EGFR and KRAS Mutations in NonSmall-Cell Lung Cancer in Latin America: The Latin-American Consortium for the Investigation of Lung Cancer (CLICaP) / O. Arrieta [et al.] // *J. Thorac. Oncol.* – 2015. – Vol. 10, N 5. – P. 838–843. doi.org/10.1097/jto.0000000000000481
15. Мутации *EGFR* и *KRAS*, важные для таргетной терапии немелкоклеточного рака легкого / Н. Н. Мазуренко [и др.] // *Молекулярная медицина.* – 2013. – № 6. – С. 55–59.

References

1. Bumrungrathai S., Munjal K., Nandekar S., Cooper K., Ekalaksananan T., Pientong C., Evans M. F. Epidermal growth factor receptor pathway mutation and expression profiles in cervical squamous cell carcinoma: therapeutic implications. *Journal of Translational Medicine*, 2015, vol. 13, no. 244. doi.org/10.1186/s12967-015-0611-0
2. Richer A. L., Friel J., Carson V., Inge L., Whitsett T. G. Genomic profiling toward precision medicine in non-small cell lung cancer: getting beyond EGFR. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 2015, vol. 8, pp. 63–79. doi.org/10.2147/pgpm.s52845
3. Nedergaard M. K., Hedegaard C. J., Poulsen H. S. Targeting the Epidermal Growth Factor Receptor in Solid Tumor Malignancies. *Biodrugs*, 2012, vol. 26, no. 2, pp. 83–99. doi.org/10.2165/11599760-000000000-00000
4. Xiao-Li Jia, Gang Chen. EGFR and KRAS mutations in Chinese patients with adenocarcinoma of the lung. *Lung Cancer*, 2011, vol. 74, no. 3, pp. 396–400. doi.org/10.1016/j.lungcan.2011.04.005
5. Mitsudomi T. Molecular epidemiology of lung cancer and geographic variations with special reference to EGFR mutations. *Translational Lung Cancer Research*, 2014, vol. 3, no. 4, pp. 205–211.
6. Matikas A., Mistriotis D., Georgoulas V., Kotsakis A. Targeting KRAS mutated non-small cell lung cancer: A history of failures and a future of hope for a diverse entity. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 2017, vol. 110, pp. 1–12. doi.org/10.1016/j.critrevonc.2016.12.005
7. Ihle N. T., Byers L. A., Kim E. S., Saintigny P., Lee J. J., Blumenschein G. R., Tsao A., Liu S., Larsen J. E., Wang J., Diao L., Coombes K. R., Chen L., Zhang S., Abdelmelek M. F., Tang X., Papadimitrakopoulou V., Minna J. D., Lippman S. M., Hong W. K., Herbst R. S., Wistuba I. I., Heymach J. V., Powis G. Effect of KRAS oncogene substitutions on protein behavior: implications for signaling and clinical outcome. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 2012, vol. 104, no. 3, pp. 228–239. doi.org/10.1093/jnci/djr523
8. Loi S., Haibe-Kains B., Majjaj S., Lallemand F., Durbecq V., Larsimont D., Gonzalez-Angulo A. M., Pusztai L., Symmans W. F., Bardelli A., Ellis P., Tutt A. N. J., Gillett C. E., Hennessy B. T., Mills G. B., Phillips W. A., Piccart M. J., Speed T. P., McArthur G. A., Sotiriou C. PIK3CA mutations associated with gene signature of low mTORC1 signaling and better outcomes in estrogen receptor-positive breast cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, vol. 107, no. 22, pp. 10208–10213. doi.org/10.1073/pnas.0907011107
9. Steelman L. S., Chappell W. H., Abrams S. L., Kempf C. R., Long J., Laidler P., Mijatovic S., Maksimovic-Ivanic D., Stivala F., Mazzarino M. C., Donia M., Fagone P., Malaponte G., Nicoletti F., Libra M., Milella M., Tafuri A., Bonati A., Bäsecke J., Cocco L., Evangelisti C., Martelli A. M., Montalto G., Cervello M., McCubrey J. A. Roles of the Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR pathways in controlling growth and sensitivity to therapy-implications for cancer and aging. *Aging*, 2011, vol. 3, no. 3, pp. 192–222. doi.org/10.18632/aging.100296
10. Gustin J. P., Karakas B., Weiss M. B., Abukhdeir A. M., Lauring J., Garay J. P., Cosgrove D., Tamaki A., Konishi H., Konishi Y., Mohseni M., Wang G., Rosen D. M., Denmeade S. R., Higgins M. J., Vitolo M. I., Bachman K. E., Park B. H. Knockin of mutant PIK3CA activates multiple oncogenic pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, vol. 106, no. 8, pp. 2835–2840. doi.org/10.1073/pnas.0813351106

11. Song M. S., Salmena L., Pandolfi P. P. The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2012, vol. 13, no. 5, pp. 283–296. doi.org/10.1038/nrm3330
12. Mathew C. C. The isolation of high molecular weight eucaryotic DNA. Walker J. M. N. J. (ed.) *Nucleic Acids. Methods in Molecular Biology*, vol. 2. Clifton, Human Press, 1984, pp. 31–34. doi.org/10.1385/0-89603-064-4:31
13. Kawaguchi T., Koh Y., Ando M., Ito N., Takeo S., Adachi H., Tagawa T., Kakegawa S., Yamashita M., Kataoka K., Ichinose Y., Takeuchi Y., Serizawa M., Tamiya A., Shimizu S., Yoshimoto N., Kubo A., Isa S., Saka H., Matsumura A. Prospective Analysis of Oncogenic Driver Mutations and Environmental Factors: Japan Molecular Epidemiology for Lung Cancer Study. *Journal of Clinical Oncology*, 2016, vol. 34, no. 19, pp. 2247–2257. doi.org/10.1200/jco.2015.64.2322
14. Arrieta O., Cardona A. F., Martín C., Más-López L., Corrales-Rodríguez L., Bramuglia G., Castillo-Fernandez O., Meyerson M., Amieva-Rivera E., Campos-Parra A. D., Carranza H., Gómez de la Torre J. C., Powazniak Y., Aldaco-Sarvide F., Vargas C., Trigo M., Magallanes-Maciél M., Otero J., Sánchez-Reyes R., Cuello M., Updated Frequency of EGFR and KRAS Mutations in NonSmall-Cell Lung Cancer in Latin America: The Latin-American Consortium for the Investigation of Lung Cancer (CLICaP). *Journal of Thoracic Oncology*, 2015, vol. 10, no. 5, pp. 838–843. doi.org/10.1097/jto.0000000000000481
15. Mazurenko N. N., Tsyganova I. V., Gagarin I. M., Chuev I. V., Mochalnikova V. V., Kolomeyeva A. A., Gorbunova V. A. EGFR and KRAS mutations important for non-small cell lung cancer target therapy. *Molekulyarnaya meditsina = Molecular medicine*, 2013, no. 6, pp. 55–59 (in Russian).

Информация об авторах

Шчаюк Анна Николаевна – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: anna.shchayuk@tut.by.

Крупнова Эвелина Вячеславовна – канд. биол. наук, доцент. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: E.Krupnova@igc.by.

Шепетько Михаил Николаевич – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: shepetjko@gmail.com.

Михаленко Елена Петровна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: E.Michalenko@igc.by.

Чеботарёва Наталья Вячеславовна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: N.Chebotareva@igc.by.

Дедик Сергей Юрьевич – мл. науч. сотрудник. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, Минск, Республика Беларусь). E-mail: shepetjko@gmail.com.

Кильчевский Александр Владимирович – академик, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kilchev@presidium.bas-net.by.

Information about of authors

Shchayuk Anna Nikolaevna – Junior researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anna.shchayuk@tut.by.

Krupnova Evelina Vjacheslavovna – Ph. D. (Biology), Assistant Professor. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: E.Krupnova@igc.by.

Shapetska Michail Nikolaevich – Ph. D. (Medicine), Assistant Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shepetjko@gmail.com.

Mikhalenka Alena Petrovna – Ph. D. (Biology), Leading researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: E.Michalenko@igc.by.

Chebotareva Natalia Vjacheslavovna – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: N.Chebotareva@igc.by.

Dedik Sergej Yurjevich – Junior researcher. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shepetjko@gmail.com.

Kilchevsky Aleksandr Vladimirovich – Academician, D. Sc. (Biology), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kilchev@presidium.bas-net.by.