

ДЕТЕКЦИЯ МАЛЫХ ФРАГМЕНТОВ ВКДНК ПРИ СКРИНИНГЕ ОПУХОЛЕВОГО ПРОЦЕССА: КРАТКИЙ ОБЗОР

Шилинг Е. А.¹

Научный руководитель — канд. биол. наук, доцент Кошель Е. И.¹

¹Университет ИТМО

eashiling@itmo.ru

Введение

Анализ внеклеточной ДНК (вкДНК) наряду с иммуногистохимией биопсии используют при молекулярной диагностике онкологических заболеваний в РФ, США и странах ЕС. Мутации в циркулирующей опухолевой ДНК (цоДНК) рекомендуются как альтернативный диагностический признак при труднодоступных локализациях новообразования, а доля цоДНК во фракции вкДНК может служить количественным параметром мониторинга минимальной остаточной болезни. На данный момент основной фокус сосредоточен на фрагментах вкДНК в 90–150 bp, в то время как детекция более коротких фрагментов может сделать возможным ранний скрининг онкозаболеваний.

Основная часть

Анализ коротких фрагментов вкДНК повышает эффективность диагностики рака на ранних стадиях: для новообразований с преимущественно низкими концентрациями цоДНК (глиома, рак почек и поджелудочной железы) значение AUC выросло с 0,5 до 0,91 [1], а для онкологий с высокими концентрациями (колоректальный рак, рак яичников, меланома) концентрация цоДНК во фракции выросла в 2–4 раза [2].

Wang F. et al. показали, что ультракороткие фрагменты вкДНК (70–90 bp) совпадают с регуляторными элементами, мутации и профиль метилирования которых коррелируют с различными стадиями заболевания. Разница в размере между фрагментами здоровых и раковых клеток составила 25,84 bp против 16,05 bp, что лежит вне предела обнаружения многих используемых в диагностике методов [3]. Hudcova et al. обнаружили, что последовательности ~50 bp картируются на доступный хроматин промоторных областей, способствующий образованию G4-мотивов. Концентрация его фрагментов во фракции вкДНК обратно коррелирует с долей цоДНК ($p < 0.0001$) [4]. Mouliere et al. предположили, что различия в механизмах высвобождения вкДНК здоровых и раковых клеток могут стать основанием для анализа более коротких фрагментов [1].

Наблюдается явная корреляция между стадией рака и соотношением размеров фрагментов цоДНК и нормальной вкДНК. Исследования демонстрируют усредненную чувствительность в 80 % для I стадии [3, 5].

Для детекции вкДНК используют масс-спектрометрию, qPCR, ddPCR, NGS/WGS, cfMeDIP-seq, методы одноцепочечного секвенирования. Среди ограничений анализа и преаналитики: стохастичность отбора (концентрация цоДНК ~10 нг/мл), низкая чувствительность (~0.05 VAF), низкая доступность из-за высокой цены, ограниченная мультиплексность [6].

Выводы

Несмотря на преимущества детекции коротких и ультракоротких фрагментов, текущая методологическая база диагностических исследований не позволяет должным образом охарактеризовать молекулы цоДНК размером < 100 bp. В том числе из-за этого также пока не установлены общепринятые размерные диапазоны коротких,

ультракоротких и стандартных фрагментов. Для решения этих задач необходима разработка мультиплексного анализа с высокой чувствительностью — в том числе с использованием мультиплатформенного подхода.

Литература

1. Mouliere F. et al. Enhanced detection of circulating tumor DNA by fragment size analysis // *Science Translation Medicine*. 2018. Vol. 10, no. 466. eaat4921. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aat4921>.
2. Underhill H. Leveraging the Fragment Length of Circulating Tumour DNA to Improve Molecular Profiling of Solid Tumour Malignancies with Next-Generation Sequencing: A Pathway to Advanced Non-invasive Diagnostics in Precision Oncology? // *Molecular Diagnosis & Therapy*. 2021. Vol. 25, no. 4. P. 389–408. <https://doi.org/10.1007/s40291-021-00534-6>.
3. Wang F. et al. Ultra-short cell-free DNA fragments enhance cancer early detection in a multi-analyte blood test combining mutation, protein and fragmentomics // *Clinical Chemistry in Laboratory Medicine*. 2023. Vol. 62, no. 1. P. 168–177. <https://doi.org/10.1515/cclm-2023-0541>.
4. Hudecova I. et al. Characteristics, origin, and potential for cancer diagnostics of ultrashort plasma cell-free DNA // *Genome Research*. 2022. Vol. 32, no. 2. P. 215–227. <https://doi.org/10.1101/gr.275691.121>.
5. Wang S. et al. Multidimensional Cell-Free DNA Fragmentomic Assay for Detection of Early-Stage Lung Cancer // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2023. Vol. 207, no. 9. P. 1203–1213. <https://doi.org/10.1164/rccm.202109-2019OC>.
6. Song P. et al. Limitations and opportunities of technologies for the analysis of cell-free DNA in cancer diagnostics // *Nature Biomedical Engineering*. 2022. Vol. 6, no. 3. P. 232–245. <https://doi.org/10.1038/s41551-021-00837-3>.