

РАЗДЕЛ 2**НАУЧНЫЕ СТАТЬИ****Анализ частоты TCR-мутантных лимфоцитов у онкологических больных до и после химиолучевого лечения**

**Замулаева И.А., Смирнова С.Г., Орлова Н.В., Богатырева Т.И., Павлов В.В.,
Терехова А.Ю., Макаренко С.А., Саенко А.С.**

ФГБУ МРНЦ Минздравсоцразвития России, Обнинск

Проведён сравнительный анализ частоты лимфоцитов, мутантных по локусу Т-клеточного рецептора (TCR), у больных лимфомой Ходжкина до лечения и в разные сроки после химиолучевой терапии. Показано, что 20 % больных до лечения имели повышенные частоты мутантных клеток, что сопоставимо с результатами, полученными для ряда опухолей других локализаций. После лечения выявлен значительный генотоксический эффект противоопухолевой терапии. Отмечена тенденция к увеличению частоты мутантных клеток при большем объёме облучения. Показана высокая индивидуальная вариабельность данного показателя в одинаковые сроки после лечения. Более чем 7-кратные различия частоты TCR-мутантных клеток у разных больных предполагают принципиальную возможность использования этого показателя для индивидуальной оценки риска развития вторых злокачественных опухолей.

Ключевые слова: *лимфома Ходжкина, химиолучевая терапия, вторые злокачественные опухоли, соматический мутагенез, Т-клеточный рецептор.*

Введение

Использование современных методов комбинированной (химиолучевой) терапии позволяет достичь высокой выживаемости больных лимфомой Ходжкина (ЛХ) [3]. Вероятность излечения больных с ранней стадией ЛХ составляет 90 % и выше, а больных с поздней стадией – около 70 %. Высокая эффективность терапии и молодой возраст в момент диагностики заболевания делают возможным длительное наблюдение за такими больными, в результате которого регистрируется повышенный риск возникновения вторых злокачественных опухолей. Радиационный фактор давно известен как одна из причин развития вторых злокачественных опухолей после излечения ЛХ [1]. Частота и сроки возникновения вторых опухолей во многом зависят от особенностей метода лечения (характеристики источников излучения, схемы полихимиотерапии и её интенсивности, воздействия на иммунокомпетентные органы – тимус, селезенку), а также от факторов демографического характера (например, возраста, пола, курения). Этим объясняют значительную вариабельность оценок относительного риска развития злокачественных опухолей у лиц, излеченных от ЛХ: по данным разных авторов относительный риск (отношение фактической заболеваемости к ожидаемой) составляет от 2 до 7 [5, 12-14, 18]. Для

Замулаева И.А. – зав. лаб., д.б.н., профессор; **Смирнова С.Г.*** – с.н.с., к.б.н.; **Орлова Н.В.** – с.н.с., к.б.н.; **Богатырева Т.И.** – в.н.с., д.м.н.; **Павлов В.В.** – зав. отделением, к.м.н.; **Терехова А.Ю.** – с.н.с., к.м.н.; **Макаренко С.А.** – лаб.-исслед.; **Саенко А.С.** – зам. директора, д.б.н., профессор. ФГБУ МРНЦ Минздравсоцразвития России.

*Контакты: 249036, Калужская обл., Обнинск, ул. Королева, 4. Тел.: (48439) 9-77-81, e-mail: sgsmirn@mail.ru.

больных ЛХ, проходивших лечение в нашем Центре в период с 1968 по 1998 гг., относительный риск возникновения вторых опухолей составил от 2 до 3 в зависимости от характера лечения [6, 8].

Вместе с тем можно полагать, что риск возникновения вторых опухолей определяется не только вышеперечисленными факторами, но и индивидуальными иммунологическими и генетическими особенностями организма. Однако эти показатели до сих пор редко учитываются при оценке риска вторых опухолей. В то же время можно полагать, что эффективность репарации повреждений ДНК и элиминации поврежденных клеток, особенности метаболизма и детоксикации ксенобиотиков являются важными факторами индивидуального риска. Интегральной характеристикой этих факторов является уровень соматического мутагенеза. Поэтому несомненный интерес представляет изучение показателей соматического мутагенеза у больных ЛХ после лечения и выяснение возможности использования таких показателей для определения риска возникновения вторых опухолей. Эта проблема приобретает в последнее время всё большую актуальность из-за введения в лечебную практику новых интенсифицированных схем химиолучевого лечения, позволивших значительно увеличить продолжительность жизни больных.

Целью данной работы является оценка генотоксических эффектов лечения больных ЛХ, а именно: изучение индивидуальной вариабельности показателей соматического мутагенеза в близкие сроки после окончания современных схем комбинированной терапии, динамики снижения количества мутантных клеток в отдалённые сроки, а также влияния различных методов терапии. Генотоксические эффекты химиолучевого лечения оценивали по частоте лимфоцитов, несущих мутации по локусу Т-клеточного рецептора (T-cell receptor – TCR).

Материалы и методы

Частоту TCR-мутантных лимфоцитов определяли у пациентов, находившихся на лечении или обследовании в отделении лучевой и лекарственной терапии гемобластозов МРНЦ РАМН в период с 2004 по 2009 гг. Было обследовано 117 человек (56 мужчин и 61 женщина) в возрасте от 17 до 62 лет (в среднем 32 года). Диагноз ЛХ верифицирован морфологически во всех случаях. У 7 % больных установлена I стадия заболевания, у 44 % – II, у 14 % – III, у 35 % – IV. Для достижения ремиссии использовали 6-8 циклов полихимиотерапии (BEACOPP, ABVD, ABVD+COPP или только COPP), для закрепления эффекта лечения облучали вовлеченные лимфатические области, а у части больных – селезенку. Суммарная очаговая доза составляла в среднем 30 Гр.

Частота TCR-мутантных лимфоцитов определена у 79 пациентов до лечения, из которых 20 пациентов были обследованы повторно в разные сроки после химиолучевого лечения. У 38 человек анализ проведён только после лечения. У 7 больных частота мутантных клеток была определена до лечения и/или в разные сроки после него.

Контрольную группу составили 350 здоровых лиц (в возрасте от 14 до 77 лет), не подвергавшихся зарегистрированным генотоксическим воздействиям.

Определение частоты TCR-мутантных клеток проводили по методике, разработанной в начале 90-х годов прошлого века японскими авторами [16] и усовершенствованной нами с целью повышения точности метода [7]. Для идентификации мутантных клеток использовали моноклональные антитела, меченные разными флуорохромами, к CD3, CD4 и HLA-DR (Becton Dickinson Immunocytometry Systems – BDIS, США).

Образцы анализировали на проточном цитофлуориметре FACS Vantage (BDIS, США), оборудованном 488 нм лазером (Spectra-Physics 177, США). Компьютерную обработку проводили с использованием программы CellQuestPro (BDIS, США). Частоту мутантных клеток определяли как отношение числа клеток с фенотипом CD3⁺CD4⁺ к числу CD4⁺клеток.

В связи с тем, что частота соматических клеток с мутациями увеличивается с возрастом даже в случае отсутствия генотоксических воздействий, обусловленных неблагоприятными условиями проживания, профессиональным контактом с вредными воздействиями различной природы или другими причинами, в работе выполнен расчёт возрастной нормы частоты TCR-мутантных клеток. Нормальный диапазон частоты TCR-мутантных клеток соответствовал 95 % доверительному интервалу, установленному для контрольных здоровых лиц с учётом возрастной зависимости, как показано на рисунке 1.

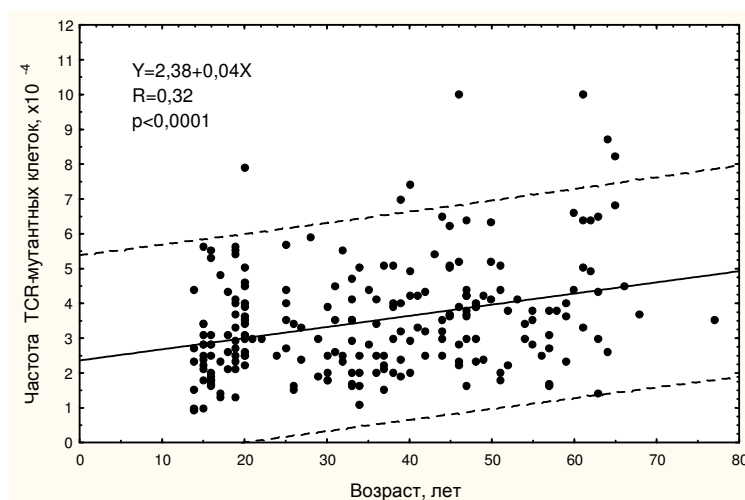


Рис. 1. Зависимость частоты TCR-мутантных клеток от возраста в группе контрольных лиц. Пунктирные линии показывают границы 95 % доверительного интервала для частоты мутантных клеток.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., США) и Origin 6.0 (Microcal Software, Inc., США) для персонального компьютера. Значимость различий частоты мутантных клеток в двух выборках оценивали по критерию Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Сравнение доли лиц с повышенными частотами мутантных клеток в двух группах проводили с помощью критерия Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

Исследование соматического мутагенеза у больных ЛХ до лечения

У первичных больных ЛХ ($n=79$) частота TCR-мутантных клеток находилась в интервале от $0,6 \times 10^{-4}$ до $21,0 \times 10^{-4}$. Медиана составляла $4,4 \times 10^{-4}$, квартили – $(2,5-5,9) \times 10^{-4}$. Не было обнаружено статистически значимых различий частоты мутантных клеток у мужчин ($n=40$) и женщин ($n=39$): $5,0 \times 10^{-4}$ vs $3,9 \times 10^{-4}$, соответственно ($p > 0,05$).

На рисунке 2А представлена гистограмма распределения частоты мутантных клеток у первичных больных ЛХ. Из контрольной группы были отобраны лица ($n=235$), находящиеся в том же возрастном диапазоне, что больные до лечения (средний возраст 33 года). Распределение частоты мутантных клеток у контрольных лиц показано на рисунке 2Б. По критерию Манна-Уитни частота мутантных клеток у больных до лечения статистически значимо выше, чем у контрольных лиц ($p=0,001$).

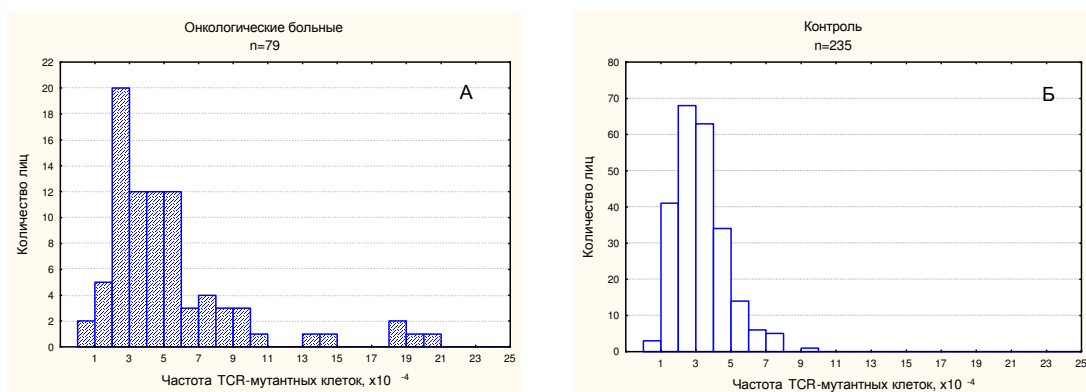


Рис. 2. Гистограмма распределения частоты TCR-мутантных клеток у больных лимфомой Ходжкина до лечения (А) и контрольных здоровых лиц сходного возраста (Б).

У 20 % больных ЛХ до лечения частота мутантных клеток превышала возрастную норму (95 % доверительный интервал, установленный для контрольных лиц с учётом возрастной зависимости). Повышенная частота мутантных клеток встречалась статистически значимо чаще в группе больных, чем в группе здоровых лиц сходного возраста ($p=0,001$). Сходные результаты были получены ранее нами и другими авторами для онкологических больных с различными локализациями злокачественных опухолей до лечения [2, 4, 9, 11].

Для первичных больных ЛХ так же, как и для контрольных лиц, установлена зависимость частоты мутантных клеток от возраста ($r=0,25$; $p=0,03$). Причем, показано, что у больных увеличение частоты мутантных клеток с возрастом происходит примерно в 3 раза быстрее, чем у контрольных лиц (рис. 3). Так, прирост частоты мутантных клеток в год составляет у больных $1,1 \times 10^{-5}$, в то время как у здоровых лиц – только $0,4 \times 10^{-5}$. Эти данные также свидетельствуют о различиях мутационного процесса у больных ЛХ до лечения и контрольных лиц.

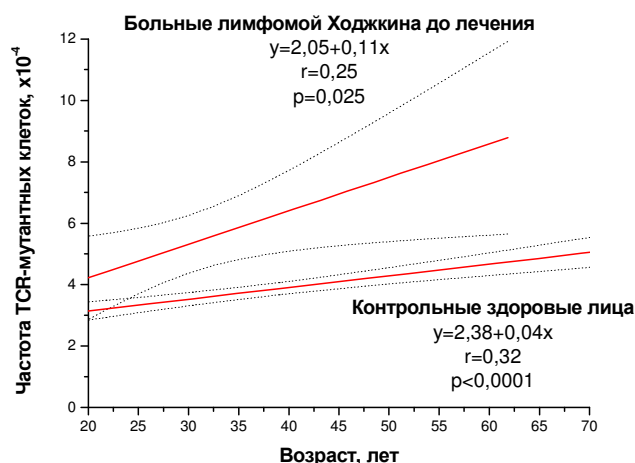


Рис. 3. Линейные зависимости частоты мутантных клеток от возраста в группах контрольных лиц и больных лимфомой Ходжкина до лечения. Пунктирные линии показывают 95 % доверительный интервал для линейной регрессии.

Одно из возможных объяснений повышенной частоты мутантных клеток у онкологических больных до лечения заключается в действии сильного генотоксического фактора на организм таких лиц в прошлом. Другая причина может быть связана с наличием у части больных нестабильности генома соматических клеток, обусловленной наследственными или какими-либо иными факторами. Наконец, нельзя исключить влияние самого опухолевого процесса на возникновение и элиминацию мутаций. Так, возможно, в ответ на наличие опухолевых клеток происходит Т-клеточная активация, приводящая к увеличению частоты мутаций [10]. Кроме того, как известно, особенностью ЛХ является высокая частота поражения ретростеральных лимфоузлов, что повышает риск распространения специфического процесса на тимус. При большом объеме опухолевых образований возможно также механическое воздействие на тимус. Можно полагать, что в этих случаях возникают нарушения в тимусе, приводящие к изменению процесса положительной селекции лимфоцитов. В результате этих изменений лимфоциты с неполноценным Т-клеточным рецептором не элиминируются в тимусе (как это происходит в норме), а выходят в кровь, и, по крайней мере, часть из них может быть зарегистрирована как TCR-мутантные клетки. Действительно, полученные нами данные подтверждают это предположение. Больные были разделены на 2 группы по величине медиастино-торакального индекса (МТИ – отношение поперечного размера средостения к максимальному диаметру грудной клетки на уровне 5-6 грудных позвонков), который характеризует размеры пораженных медиастиальных лимфатических узлов. В группах больных с МТИ $<0,3$ и $\geq 0,3$ медиана частоты TCR-мутантных клеток составляла $3,4 \times 10^{-4}$ и $5,2 \times 10^{-4}$, квартили – $(2,4-5,7) \times 10^{-4}$ и $(3,8-7,4) \times 10^{-4}$, соответственно, ($p=0,02$). Таким образом, показана ассоциация высокой частоты мутантных клеток с распространенностью опухолевого процесса в торакальной области.

Частота TCR-мутантных клеток у больных ЛХ после лечения

У 58 больных частота мутантных клеток была определена в разные сроки после лечения. На рисунке 4 представлены данные по общей группе лиц, обследованных в течение 40 лет после лечения. В близкие сроки после лечения (через 3-7 месяцев после его окончания) медиана частоты мутантных клеток составляет $18,5 \times 10^{-4}$, что свидетельствует о многократном повышении этого показателя мутагенеза по сравнению с исходным уровнем до лечения.

В литературе имеются немногочисленные данные о частоте генных мутаций в соматических клетках у больных ЛХ после лечения [11, 17, 19]. Во всех случаях показано увеличение частоты мутантных клеток после химиотерапии.

Со временем происходит постепенное уменьшение частоты TCR-мутантных клеток вследствие естественного обновления популяции лимфоцитов, что подтверждает данные литературы [15], согласно которым полупериод жизни TCR-мутантных лимфоцитов составляет 2-3 года.

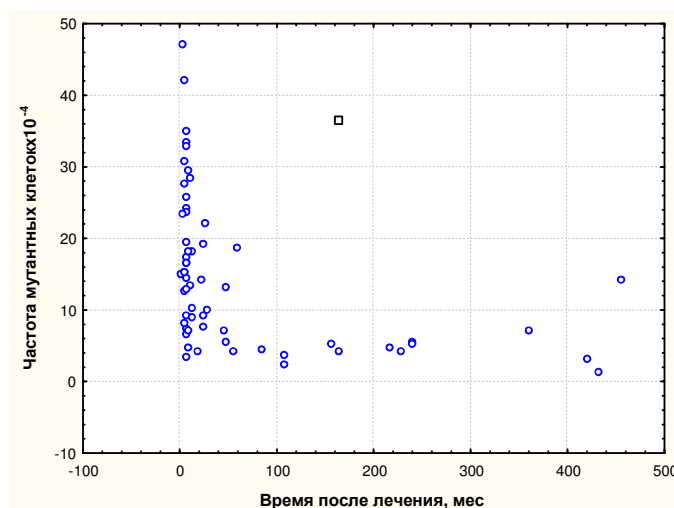


Рис. 4. Частота TCR-мутантных клеток у больных лимфомой Ходжкина в разные сроки после окончания лечения на протяжении 40 лет.

На рисунке видно, что в небольшой группе лиц, обследованных в отдалённые сроки, у одного человека частота мутантных клеток оставалась высокой даже почти через 40 лет после лечения. Пока мы не можем дать точную оценку того, как часто встречаются такие случаи, и каковы причины высокой частоты мутантных клеток в столь отдалённые сроки – для этого необходимы дальнейшие исследования. В связи с этим интересно отметить результаты, полученные Саггана с сотрудниками [11]. Анализируя частоту HPRT-мутантных лимфоцитов у больных ЛХ, они установили, что противоопухолевая терапия приводит к появлению у части больных высокой частоты HPRT-мутантных лимфоцитов, сохраняющейся на протяжении нескольких лет. С точки зрения авторов, это может свидетельствовать о наличии у них нестабильности генома, что является причиной развития вторых опухолей.

Как хорошо видно на графике 4, скорость уменьшения частоты мутантных клеток зависит от времени после окончания лечения. Самое быстрое уменьшение частоты мутантных клеток наблюдается в интервале от 3 до 7 месяцев после лечения. В отдалённые сроки после лечения (через 4-5 и более лет) частота мутантных клеток уже не уменьшается.

На рисунке 5 показана частота мутантных клеток в интервале от 3 до 7 месяцев после лечения. Вариабельность данных на индивидуальном уровне чрезвычайно широка: от $6,6 \times 10^{-4}$ до $47,0 \times 10^{-4}$. Этот разброс может отражать как степень генотоксичности проведённого лечения, так и индивидуальную чувствительность к нему.

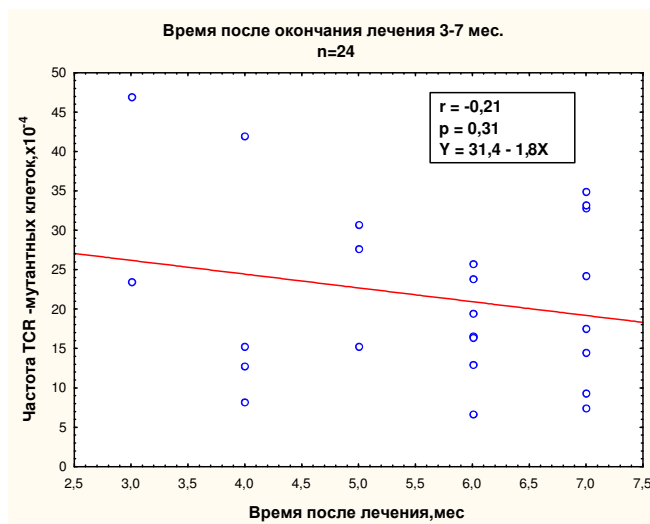


Рис. 5. Частота TCR-мутантных клеток у больных лимфомой Ходжкина через 3-7 месяцев после окончания лечения.

У 7 больных частота мутантных клеток была определена до лечения и/или не менее двух раз в разные сроки после него (рис. 6).

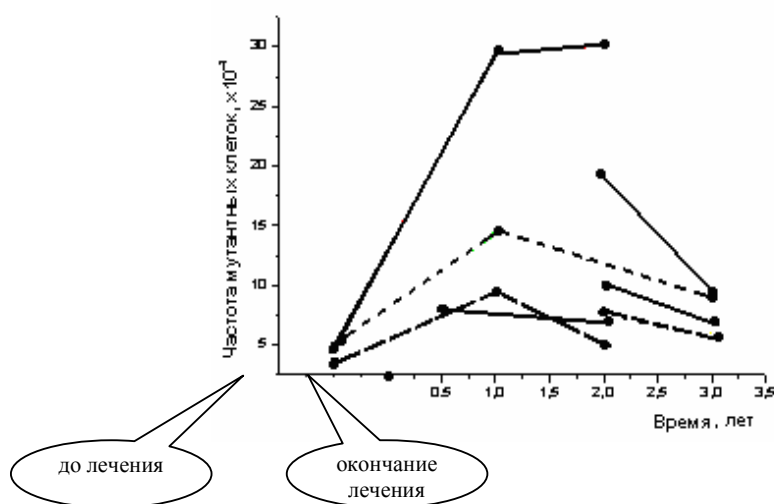


Рис. 6. Частота мутантных клеток до лечения и её изменение после лечения на индивидуальном уровне.

Данные, представленные на индивидуальном уровне, в целом подтверждают результаты группового исследования – после лечения наблюдается увеличение частоты мутантных клеток, затем – снижение. У одного больного частота мутантных клеток не уменьшалась в близкие сроки после лечения (на протяжении 2-х лет после терапии частота оставалась на постоянном повышенном уровне).

Несомненный интерес представляет изучение величины генотоксического эффекта в зависимости от схемы лечения и индивидуальных особенностей организма. В связи с этим больные, у которых частота TCR-мутантных клеток определена в близкие сроки после лечения (3-7 мес.), были разделены на 4 группы в зависимости от использованной схемы химиотерапии – ABVD, BEACOPP, COPP и ABVD+COPP (табл. 1). При этом количество облучённых лимфатических областей было примерно одинаковым в каждой из групп. Облучение селезенки также применялось примерно у одинаковой части больных в каждой из указанных групп.

В близкие сроки после лечения статистически значимых различий частоты TCR-мутантных клеток после использования различных схем химиотерапии обнаружено не было. Эффекты COPP не анализировали из-за небольшого числа случаев. Полученные данные согласуются с результатами ряда исследований по оценке общей частоты возникновения вторых опухолей после различных режимов противоопухолевой терапии [13].

Таблица 1

Частота TCR-мутантных клеток у больных лимфомой Ходжкина после лечения, включающего разные схемы химиотерапии

Схема химиотерапии	Число больных	Частота TCR-мутантных клеток, $\times 10^{-4}$	
		медиана	квартили
ABVD	6	17,3	14,5-30,8
BEACOPP	10	15,9	9,3-25,8
COPP	2	25,6	23,4-27,7
ABVD+COPP	6	20,9	16,6-42,0

Также было проведено сопоставление объёма облучения и генотоксических эффектов комбинированного лечения. Для этого больные, обследованные в близкие сроки после лечения, были разделены на 2 группы – с большим объёмом облучения ($n=12$), когда радиационному воздействию подвергалась селезенка, 5 и более лимфатических областей, и малым объёмом облучения – остальные случаи ($n=12$). В первой группе обнаружена выраженная тенденция к повышению частоты мутантных клеток по сравнению со второй группой: $26,0 \times 10^{-4}$ vs $17,0 \times 10^{-4}$ ($p=0,07$). Это согласуется с результатами наблюдений за частотой возникновения вторых опухолей у пролеченных больных, из которых следует, что риск вторых опухолей выше при большом объёме облучения и спленэктомии [12]. Как отмечается в этой работе, облучение селезенки вызывает функциональную гипосплению, что может быть сопоставимо со спленэктомией.

Таким образом, в работе показана высокая индивидуальная вариабельность генотоксических эффектов комбинированной химиолучевой терапии ЛХ и динамики последующего их снижения. Более чем 7-кратные различия частоты TCR-мутантных клеток у разных больных после лечения предполагают принципиальную возможность использования этого показателя для индивидуальной оценки риска развития вторых злокачественных опухолей, т.е. для решения вопроса, который стоит очень остро в группе больных ЛХ из-за достижения длительной ремиссии и полного выздоровления подавляющего большинства пациентов.

Для определения специфичности и чувствительности такого подхода к прогнозированию вторых опухолей необходимо увеличение выборки и выполнение проспективных исследований в дальнейшем.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ, госконтракт № 14.740.11.0180.

Литература

1. **Богатырева Т.И.** Комбинированное и лучевое лечение первичной и рецидивной лимфомы Ходжкина на основе интенсивных режимов фракционирования дозы: автореф. дис. ... докт. мед. наук. Обнинск, 2006. 40 с.
2. **Верещагина А.О., Замулаева И.А., Орлова Н.В. и др.** Частота лимфоцитов, мутантных по генам Т-клеточного рецептора как возможный критерий для формирования группы повышенного риска развития опухолей щитовидной железы у облучённых и необлучённых лиц //Радиационная биология. Радиоэкология. 2005. Т. 45, № 5. С. 581-586.
3. **Демина Е.А.** Лимфома Ходжкина: от Томаса Ходжкина до наших дней //Клиническая онкогематология. 2008. Т. 1, № 2. С. 114-118.
4. **Замулаева И.А., Смирнова С.Г., Орлова Н.В. и др.** Повышенная частота мутантных по локусам Т-клеточного рецептора и гликофорина А клеток как возможный критерий для формирования группы риска онкологических заболеваний //Российский онкологический журнал. 2001. № 1. С. 23-25.
5. **Коврыжкина Т.А., Ильин Н.В., Вербовецкая В.И. и др.** Вторые опухоли у больных лимфогранулематозом //Вопросы онкологии. 2001. № 5. С. 626-630.
6. **Павлов В.В., Богатырева Т.И., Шахтарина С.В., Даниленко А.А.** Оптимизация лучевого компонента в программах комбинированного химиолучевого лечения больных лимфомой Ходжкина. //Терапевтическая радиология. Руководство для врачей /Под ред. А.Ф.Цыба, Ю.С.Мардынского. М.: ООО «МК», 2010. С. 461-505.
7. **Саенко А.С., Замулаева И.А., Смирнова С.Г. и др.** Определение частоты мутаций по локусам гликофорина А и Т-клеточного рецептора: информативность для биологической дозиметрии острого и пролонгированного облучения //Радиационная биология. Радиоэкология. 1998. Т. 38. С. 171-180.
8. **Шахтарина С.В., Даниленко А.А., Павлов В.В.** Злокачественные новообразования у больных лимфомой Ходжкина после лучевой терапии по радикальной программе и комбинированной химиолучевой терапии //Клиническая онкогематология. 2008. Т. 1, № 3. С. 246-251.
9. **Akiyama M., Umeki S., Kusunoki Y. et al.** Somatic-cell mutations as a possible predictor of cancer risk //Health Physics. 1995. V. 68, N 5. P. 643-649.
10. **Albertini R.J.** HPRT mutations in humans: biomarkers for mechanistic studies //Mutat. Res. 2001. V. 489, N 1. P. 1-16.
11. **Caggana M., Liber H.L., Mauch P.M., Coleman C.N., Kelsey K.T.** In vivo somatic mutation in the lymphocytes of Hodgkin's disease patients //Environ. Mol. Mutagen. 1991. V. 18, N 1. P. 6-13.
12. **Dietrich P.Y., Henry-Amar M., Cosset J.M. et al.** Second primary cancers in patients continuously disease-free from Hodgkin's disease: a protective role for the spleen? //Blood. 1994. V. 84, N 4. P. 1209-1215.
13. **Engert A., Diehl V., Franklin J. et al.** Escalated-dose BEACOPP in the treatment of patients with advanced-stage Hodgkin's lymphoma: 10 years of follow-up of the GHSG HD9 study //J. Clin. Oncol. 2009. V. 27, N 27. P. 4548-4554.
14. **Franklin J., Pluetschow A., Paus M. et al.** Second malignancy risk associated with treatment of Hodgkin's lymphoma: meta-analysis of the randomised trials //Ann. Oncol. 2006. V. 17, N 12. P. 1749-1760.
15. **Iwamoto K.S., Hirai Y., Umeki S. et al.** A positive correlation between T-cell receptor mutant frequencies and dicentric chromosome frequencies in lymphocytes from radiotherapy patients //J. Radiat. Res. 1994. V. 35. P. 92-103.
16. **Kyoizumi S., Akiyama M., Hirai Y. et al.** Spontaneous loss and alteration of antigen receptor expression in mature CD4+ T-cells //J. Exp. Med. 1990. V. 171. P. 1981-1999.

17. **Mott M.G., Boyse J., Hewitt M., Radford M.** Do mutations at the glycophorin A locus in patients treated for childhood Hodgkin's disease predict secondary leukaemia? //Lancet. 1994. V. 343. P. 828-829.
18. **Ng A.K., Mauch P.M.** The impact of treatment on the risk of second malignancy after Hodgkin's disease //Ann. Oncol. 2006. V. 17, N 12. P. 1727-1729.
19. **Sawada M., Kubota M., Lin Y.W. et al.** Prospective study of mutant frequencies at the HPRT and T-cell receptor gene loci in pediatric cancer patients during chemotherapy //Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 1998. V. 7, N 8. P. 711-717.

Analysis of TCR-mutant lymphocyte frequency in cancer patients before and after chemoradiotherapy

Zamulaeva I.A., Smirnova S.G., Orlova N.V., Bogatyreva T.I., Pavlov V.V., Terekhova A.Y., Makarenko S.A., Saenko A.S.

Medical Radiological Research Center of the Russian Ministry of Health
and Social Development, Obninsk

Comparative analysis of frequency of lymphocytes, bearing mutations at T-cell receptor locus (TCR), in patients with Hodgkin's lymphoma was conducted before treatment and after chemoradiotherapy. It was shown that 20 % of patients before the treatment had increased frequencies of mutant cells, which are comparable with the results obtained for patients with malignant tumors of other localizations. Significant genotoxic effect of anticancer therapy was found after the treatment. A tendency to increase of the mutant cell frequency was observed in patients receiving more extensive-field radiotherapy. It was shown high individual variability (more than 7-fold differences) of this parameter of somatic mutagenesis at the same time after the treatment. These data suggest the possibility of using TCR-mutant cell frequency for individual assessment of risk for secondary malignancies.

Keywords: *Hodgkin's lymphoma, chemoradiotherapy, secondary malignancies, somatic mutation, T-cell receptor.*

Zamulaeva I.A. – Head of Lab., D. Sc., Biol., Prof.; **Smirnova S.G.*** – Senior Res., C. Sc., Biol.; **Orlova N.V.** – Senior Res., C. Sc., Biol.; **Bogatyreva T.I.** – Lead. Res., MD; **Pavlov V.V.** – Head of Dep., C. Sc., Med.; **Terekhova A.Y.** – Senior Res., C. Sc., Med.; **Makarenko S.A.** – Res. Ass.; **Saenko A.S.** – Deputy Director, D. Sc., Biol., Prof. MRRC.

* Contacts: 4 Korolyov str., Obninsk, Kaluga region, Russia, 249036. Tel.: (48439) 9-77-81, e-mail: sgsmirn@mail.ru.