

*Лавров А. В.¹, Смирнихина С. А.¹, Адильгереева Э. П.¹,
Чельшева Е. Ю.², Шухов О. А.², Туркина А. Г.², Куцев С. И.^{1,3*}*

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Медико-генетический научный центр» Российской академии медицинских наук, Москва.

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Гематологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва.

³ Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва.

* e-mail: kutsev@mail.ru

ПОЛНОЭКЗОМНЫЙ АНАЛИЗ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ МИЕЛОИДНОМ ЛЕЙКОЗЕ

Технологии секвенирования следующего поколения (ССП) и ассоциированные с ними методы биоинформационного анализа больших массивов данных нуклеотидных последовательностей ДНК и РНК на сегодняшний момент являются одними из наиболее перспективных и быстроразвивающихся. ССП и биоинформационный анализ позволяет проводить определение последовательности всей ДНК, включая некодирующие области (полногеномное исследование), только кодирующей части ДНК (полноэкзомное исследование) или секвенирование определенного набора генов (таргетное исследование). Исследования геномов и экзотов пациентов с разными формами миелоидных онкогематологических заболеваний позволили выявить несколько рекуррентных мутаций и оптимизировать составление прогноза для таких пациентов. Кроме того, применение ССП и биоинформационного анализа дало почву для понимания патогенеза этих заболеваний и послужило основой для разработки таргетной терапии. Однако ценность и перспективность исследования патогенеза, оценки эффективности терапии и

разработки таргетной терапии миелоидных онкогематологических заболеваний с использованием технологии секвенирования нового поколения и методов биоинформационного анализа подтверждены пока еще в единичных исследованиях за последние несколько лет.

Целью настоящего исследования было изучение экзома опухолевых клеток пациентов с впервые выявленным хроническим миелолейкозом (ХМЛ). Диагноз ХМЛ подтвержден цитогенетическим и молекулярно-генетическим методами. Полноэкзомный анализ опухолевой ткани выполнен на платформе Ion Torrent (Life Technologies).

В настоящий момент проанализированы экзомы 3 пациентов с ХМЛ. Биоинформационный анализ данных, полученных после полноэкзомного секвенирования выявил от 2855 до 3326 несинонимичных однонуклеотидных замен на каждый экзом, среди которых от 774 до 876 являются впервые выявленными (не описанными в базе данных dbSNP129). Дальнейший биоинформационный анализ позволит определить рекуррентные мутации, играющие определенную роль в пато-

генезе ХМЛ. Кроме того, выявлено от 159 до 230 однонуклеотидных замен на каждый экзон в генах, кодирующих малые интерферирующие РНК. По последним данным миРНК играют огромную роль в патогенезе опухолевых заболеваний.

Обнаруженные однонуклеотидные замены могут играть ключевую роль в понимании молекулярных механизмов патогенеза ХМЛ и разработке новых прогностических маркеров эффективности терапии ХМЛ.

Лукьянова А. С.¹, Зотова Е. В.¹, Вальчук М. А.¹, Ризер И.², Котлярчук К. Б.¹, Кароль Ю. С.¹, Корольчук О. С.¹, Лукавецкий Л. М.¹, Логинский В. Е.¹, Пеньковска-Греля Б.², Масляк З. В.¹

¹ ГУ «Институт патологии крови и трансфузионной медицины НАМН Украины», г. Львов.

² Онкологический центр — Институт им. М. Склодовской-Кюри, г. Варшава.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АБЕРРАЦИИ, ПРИВОДЯЩИЕ К УВЕЛИЧЕНИЮ КОЛИЧЕСТВА КОПИЙ ГЕНА *BCR/ABL* ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ МИЕЛОЕЙКОЗЕ

Введение. Хронический миелолейкоз (ХМЛ) — клональное миелопролиферативное заболевание, характеризующееся наличием специфической хромосомной аномалии — $t(9;22)(q34;q11)$ — филадельфийской (Ph) хромосомы. Результатом этой транслокации является появление химерного гена *BCR/ABL*, продукт которого вызывает неконтролируемую пролиферацию клеток миелоидного ряда. Увеличение количества копий Ph-хромосомы и, как следствие, количества копий химерного гена, является одним из проявлений клональной эволюции и может являться одной из причин резистентности к терапии ингибиторами тирозинкиназы (ИТК).

Цель исследования — проанализировать частоту и характер аномалий, приводивших к увеличению количества копий гена *BCR/ABL*.

Материал и методы. Обследовано 285 больных с клинически и цитогенетически подтвержденным диагнозом ХМЛ. Цитогенетическое исследование клеток костного мозга было проведено по стандартной методике. При проведении метода флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) использована метка *BCR/ABL* DC DF (Vysis, США). Все FISH-исследования проведены в лаборатории цитогенетики Онкологического центра — Института им. М. Склодовской-Кюри (Варшава, Польша). При кариотипировании анализировали 20 метафазных пластинок, при FISH-исследовании — не менее 200 интерфазных ядер. При анализе и описании кариотипа руководствовались критериями *International System for Human Cytogenetic Nomenclature* — ISCN, 2009.

Результаты. Из 285 больных ХМЛ клональная эволюция в Ph-позитивных клетках была обнаружена в 50 случаях (17,5% обследованной группы). Среди этих 50 больных цитогенетические аномалии, приводившие к увеличению количества копий гена *BCR/ABL*, были выявлены у

29 (58% случаев клональной эволюции). Данная группа из 29 больных была разделена на 2 подгруппы в зависимости от характера aberrаций.

В первой подгруппе (25 больных, 86% больных с увеличением количества копий гена *BCR/ABL*) представлены случаи с увеличением количества копий Ph-хромосомы без изменения ее структуры. У 23 больных были обнаружены нормальная и измененная хромосомы 9, нормальная копия хромосомы 22 и от 2 до 5 копий Ph-хромосомы. В 1 случае анализ кариотипа показал наличие двух измененных вследствие транслокации $t(9;22)(q34;q11)$ хромосом 9 и 22 без наличия их нормальных копий. В последнем случае выявлены клетки с нормальными хромосомами 9 и 22 и двумя измененными вследствие транслокации $t(9;22)(q34;q11)$ хромосомами 9 и 22.

К подгруппе 2 (4 больных, 14%) отнесли случаи, в которых наблюдали изменение структуры производной хромосомы 22. У 3 больных был обнаружен изодериват Ph-хромосомы в количестве 1–2 копий. В 1 случае выявлен изодицентрический дериват Ph-хромосомы в количестве 1–5 копий.

Во всех случаях наличие и характер выявленных нами aberrаций были подтверждены с помощью метода FISH на метафазных пластинках. Количество копий гена *BCR/ABL* в описанных случаях составляло 2–10 копий, в зависимости от характера aberrаций.

Из 29 больных с описанными aberrациями терапию ИТК (иматиниб) получали 24. Из них в 2 случаях после обнаружения дополнительных аномалий был назначен nilотиниб, в 1-дазатиниб. У одного больного (с одной дополнительной копией Ph-хромосомы) после назначения nilотиниба был достигнут полный цитогенетический и молекулярный ответ. У двух остальных больных цитогенетический ответ после смены лечения от-