

Исследование изменений профилей коротких tandemных повторов (STR-профилей) опухолевой ДНК пациентов с острым лимфобластным лейкозом.

Научный руководитель – Рисинская Наталья Владимировна

Кожневникова Я.А.¹, Ковалева В.А.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия, *E-mail: kozh.yana@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра физиологии и общей патологии, Москва, Россия, *E-mail: valeria.k.6789@gmail.com*

Введение

Для успеха в лечении острых лимфобластных лейкозов (ОЛЛ) важно определение нарушений генотипа опухоли. Одной из характеристик, изменяющихся в опухолевых клетках, является профиль коротких tandemных повторов (STR). Потеря сигнала от одного из двух аллелей STR-локусов, гетерозиготных в контрольном образце (потеря гетерозиготности) или существенное снижение сигнала одного из аллелей (аллельный дисбаланс) подтверждают выявленные цитогенетическим методом хромосомные aberrации. Однако изменение STR-профиля иногда наблюдается у пациентов и при нормальном кариотипе опухоли, что свидетельствует о необходимости дополнения данных цитогенетического анализа другими методами.

Цель работы: оценить частоту и найти причины изменения STR-профиля у пациентов с ОЛЛ, сопоставив полученные данные с результатами цитогенетического анализа и хромосомного микроматричного анализа (ХМА) генома опухолевых клеток.

Материалы и методы

Исследование STR-профиля проводилось у 88 пациентов с впервые диагностированным Rh-негативным ОЛЛ, проходящих лечение по протоколу «ОЛЛ2016» в НМИЦ Гематологии (Москва). Для анализа STR-профиля нами выделена ДНК из архивных образцов костного мозга, полученных в дебюте заболевания; в качестве контроля использовали ДНК, выделенную из крови в период полной ремиссии или из буккального эпителия. Амплификацию ДНК проводили методом мультиплексной ПЦР с использованием набора праймеров к 19 STR-локусам и локусу амелогенина человека COrDIS Plus (Гордиз, Москва); фрагментный анализ ПЦР-продуктов выполняли на генетическом анализаторе ABI 3130 (ThermoFisher Scientific, USA). Для каждого пациента сравнивали STR-профиль в дебюте заболевания с контрольным образцом. ХМА для пациентов с установленным по STR-профилю аллельным дисбалансом был выполнен на базе лаборатории молекулярной патологии "Геномед" с использованием системы Геноскан 3000.

Результаты

При анализе STR-профилей ДНК бластных клеток аллельный дисбаланс наблюдался у 21 (23,9%) из 88 пациентов. Методом ХМА для этого 21 пациента было установлено наличие хромосомных aberrаций (делеций или дупликаций, реже - участков потери гетерозиготности), захватывающих локусы STR с выявленным аллельным дисбалансом. Из 21 пациента у 7 по данным цитогенетического анализа выявлен нормальный кариотип опухоли. Из 14 человек с аномальным кариотипом опухоли у 8 при анализе STR-профиля обнаружен аллельный дисбаланс в локусах, в которых методом ХМА подтверждены хромосомные aberrации, не выявленные при цитогенетическом анализе. Таким образом, анализ STR-профилей позволил выявить дополнительные нарушения у 15 человек из 88 (17%). У этих 15 пациентов при ХМА обнаружены aberrации размером до 190 млн пар

нуклеотидов (более 1000 генов). У большинства пациентов с изменениями STR-профиля на ХМА были обнаружены дополнительные хромосомные нарушения, не выявленные цитогенетическим анализом и анализом STR-профиля.

Закключение

Изменение STR-профиля опухолевой ДНК является маркером хромосомных aberrаций, в ряде случаев не выявляемых цитогенетическим методом, и говорит о необходимости проведения более подробного анализа опухолевого генотипа с помощью ХМА.

Иллюстрации

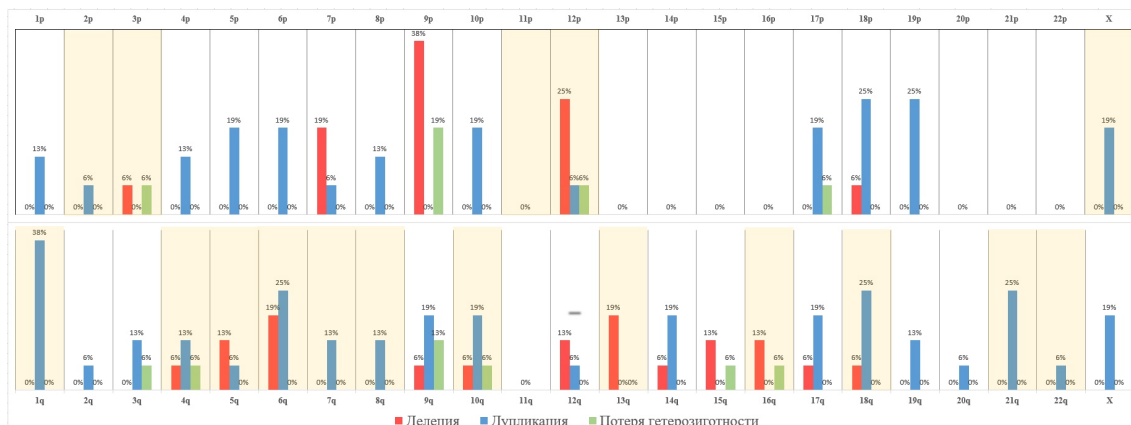


Рис. 1. Диаграмма встречаемости хромосомных aberrаций у пациентов с острым лимфобластным лейкозом по данным хромосомного микроматричного анализа (красный столбец - делеции, синий - дупликации, зеленый - участки потери гетерозиготности). По горизонтали указаны номера хромосом, верхняя часть диаграммы - короткие плечи хромосом (p), нижняя - длинные плечи (q). Данные получены от 21 пациента с аллельным дисбалансом в STR-локусах, желтым отмечены плечи хромосом, на которых расположены STR-маркеры. По данным ХМА учитывались aberrации размером более 5 млн пар нуклеотидов.