

**Роль молекулярных методов в определении мутантных клонов с *FLT3-ITD* при остром миелоидном лейкозе****Научный руководитель – Сидорова Юлия Владимировна*****Костромина Мария Александровна****Студент (специалист)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия

*E-mail: mariya.kostromina.01@mail.ru*

Согласно рекомендациям ELN 2022 наличие *FLT3-ITD* (внутренней tandemной дупликации *FLT3*) является предиктором плохого прогноза при остром миелоидном лейкозе (ОМЛ) и показанием для назначения таргетных препаратов. Мы разработали метод ПЦР-ФА с двойной меткой (ПЦР-ФА с ДМ), основанный на использовании меченых различными флуорофорами прямого и обратного праймеров, что позволяет визуализировать ПЦР-продукт в виде 2-х пиков разного цвета и увеличивает специфичность определения.

Мы исследовали образцы костного мозга пациентов с ОМЛ, наблюдавшихся в ФГБУ «НМИЦ гематологии» в период с 2021 по 2024 год и относящихся к промежуточной или благоприятной группе риска по ELN 2022. Для сравнения чувствительности ПЦР-ФА, ПЦР-ФА с ДМ и ТД-ПЦР (ПЦР методом tandemной дупликации) проанализировали 101 образец: у 57 больных (I группа) *FLT3-ITD* была выявлена методом ПЦР-ФА, у 44 (II группа) — нет. В I группе ПЦР-ФА с ДМ выявил вставки у всех (100%) пациентов, у 30 из 57 (52,6%) было выявлено большее количество вставок по сравнению с ПЦР-ФА. Во II группе впервые были обнаружены вставки у 8 человек (18,2%). В I группе ТД-ПЦР выявил мутацию у 50,9% больных, во II — у 12 (27,3%), причем у 6-ти пациентов (13,6%) только ТД-ПЦР смог обнаружить вставку. Аналитическая чувствительность в опыте с серийным 2-х кратным разведением для ПЦР-ФА составила 0,31%, для ПЦР-ФА с ДМ — 0,16%, для ТД-ПЦР предел чувствительности не был достигнут. При исследовании образцов больных ХЛЛ (n=24) и здоровых доноров (n=24) ПЦР-ФА с ДМ мутаций не обнаружил, что соответствует 100% специфичности метода.

Для оценки влияния минорных клонов *FLT3-ITD* на течение заболевания мы выделили больных (n=58) с мутацией NPM1, которые получали терапию по одному протоколу, и разделили их на 3 группы: с положительными результатами по ПЦР-ФА и более чувствительным методам — ПЦР-ФА с ДМ и ТД-ПЦР (С«+»Ч«+»), отрицательным по ПЦР-ФА, но положительным по чувствительным методам (С«-»Ч«+»), отрицательным по всем методам (С«-»Ч«-»). При анализе динамики МОБ (минимальной остаточной болезни), определяемой методом ПЦР по NPM1, с использованием методов регрессионного анализа временная динамика в группе С«+»Ч«+» значительно отличалась от динамики в группе С«-»Ч«-» (p = 0,0173). Существенных различий между группами С«-»Ч«-» и С«-»Ч«+» обнаружено не было (p=0,9071). Общая выживаемость в группе С«+» оказалась несколько хуже по сравнению с двумя остальными (p=0,14), в группах С«-»Ч«+» и С«-»Ч«-» существенные различия не выявлены (p=0,39). Отсутствовали различия и в безрецидивной выживаемости между группами (p=0,72). В группе С«-»Ч«+» 100% больных достигли ремиссии, в группе С«-»Ч«-» — 90% (p = 0,7871).

ПЦР-ФА с ДМ и ТД-ПЦР продемонстрировали большую аналитическую чувствительность по сравнению с ПЦР-ФА. Мы не обнаружили значимые различия в динамике заболевания и исходах у пациентов с минорными клонами *FLT3-ITD*, которые не были выявлены стандартным методом ПЦР-ФА.