



Молекулярная диагностика
ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ
заболеваний

Лаборатория молекулярной патологии «ГЕНОМЕД»

www.genomed.ru | 8-800-333-45-38

ХРОНИЧЕСКИЙ МИЕЛОЛЕЙКОЗ

Хронический миелолейкоз (ХМЛ)

представляет собой клональное миелопролиферативное заболевание с частотой от 1 до 1,8 случаев на 100 000 человек (15-20% от всех случаев гемобластозов у взрослых и 2-5% от числа всех лейкозов у детей).

Транслокация t(9;22), или филадельфийская хромосома (Ph'-хромосома) – уникальный специфический маркер хронического миелолейкоза.

Образующийся в результате транслокации химерный онкоген BCR-ABL кодирует белок p210, играющий центральную роль в злокачественной трансформации ранних гемопоэтических клеток-предшественников.

Таргетные ингибиторы тирозинкиназы BCR-ABL – Иматиниб, Нilotиниб, Дазатиниб и Понатиниб – обладают повышенной эффективностью в сравнении со стандартной химиотерапией и увеличивают продолжительность жизни больных ХМЛ.

Обязательное подтверждение диагноза ХМЛ – выявление наличия Ph'-хромосомы и/или определение экспрессии химерного онкогена BCR-ABL.

ПРИМЕНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И МОНИТОРИНГА ХМЛ

Метод исследования	Предмет исследования	Чувствительность	Оценка	Мониторинг
Морфологический подсчет клеток	Наличие опухолевых клеток		Гематологический ответ	+
Стандартная цитогенетика	Ph'-хромосома	10^{-1} - 10^{-2}	Цитогенетический ответ	++
FISH	Ph'-хромосома	10^{-3}	Цитогенетический ответ	+++
ОТ-ПЦР	Экспрессия BCR-ABL, тип транскрипта	До 10^{-6}	Молекулярный ответ (да/нет)	++
ПЦР в реальном времени	Экспрессия BCR-ABL, количественная оценка	До 10^{-6}	Молекулярный ответ	++++

ОБОЗНАЧЕНИЯ:

FISH - флуоресцентная *in situ* гибридизация (fluorescence *in situ* hybridization)

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ОТ-ПЦР – ПЦР с обратной транскрипцией

 Наиболее точный и надежный метод мониторинга ХМЛ – количественное определение экспрессии химерного гена BCR-ABL в крови и образцах костного мозга методом ПЦР в реальном времени.

МЕТОД ПОЗВОЛЯЕТ:



осуществлять точную диагностику



оценивать эффективность терапии ингибиторами тирозинкиназ



отслеживать достижение большого и полного молекулярного ответов
– производить мониторинг опухолевого клона, когда цитогенетические методы неэффективны



КЛАССИЧЕСКИЕ РН'- НЕГАТИВНЫЕ ХРОНИЧЕСКИЕ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Классические хронические Ph'-негативные миелопролиферативные заболевания (МПЗ) – группа болезней, включающая в себя:

- истинную полицитемию (ИП);
- эссенциальную тромбоцитемию (ЭТ);
- идиопатический миелофиброз (ИМФ).

Обнаружение частой мутации V617F в гене JAK2 предоставляет новые возможности в диагностике и лечении классических МПЗ. По сравнению со стандартной терапией, применение ингибитора JAK2 (Руксолитиниб) позволяет снизить побочные эффекты и повысить выживаемость пациентов.

Обнаружение других мутаций в генах JAK2, CALR, MPL позволяет улучшить диагностическую тактику и способы мониторинга остаточной болезни.



Лаборатория молекулярной патологии «ГЕНОМЕД»

г. Москва, Подольское шоссе, дом 8, корпус 5
8 (495) 660-83-77 | www.genomed.ru

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ JAK2, CALR, MPL ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ МПЗ

Ген, мутация	Частота встречаемости мутаций, %		
	ИП	ЭТ	ИМФ
JAK2, мутация V617F	95-97	50-60	50-60
JAK2, делеции в 12 экзоне*	1-2	0	0
CALR, мутации в 9 экзоне*	0	25	30
MPL, мутации кодона W515*	0	3-5	5-10

*Исследование выполняется по запросу

Оценка индивидуального прогноза важна для определения тактики лечения у больных-носителей мутаций. Так, у большинства пациентов без мутаций в генах JAK2 и MPL обнаруживается мутация в гене CALR, что ассоциировано с более высокой выживаемостью у больных ИМФ и с низким риском тромбозов у больных ЭТ.

Определение мутационного профиля методом ПЦР в реальном времени позволяет проводить мониторинг минимальной остаточной болезни, оценивать эффективность ответа пациента на терапию.



ОСТРЫЕ ЛЕЙКОЗЫ

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ)

является клинически гетерогенным заболеванием, характеризующимся разнообразными генетическими и эпигенетическими нарушениями в ранних гемопоэтических клетках-предшественницах.

Молекулярно-генетические изменения в опухолевых клетках играют важную роль в диагностике заболевания и являются одними из самых достоверных прогностических факторов.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АНОМАЛИИ, ВЫЯВЛЯЕМЫЕ ПРИ ОМЛ И ОСТРОМ ПРОМИЕЛОЦИТАРНОМ ЛЕЙКОЗЕ (ОПЛ):

- ▶ Транслокация t(15;17)(q22;q12); химерный ген PML-RARA (ОПЛ)
- ▶ Транслокация t(8;21)(q21;q22); химерный ген AML1-ETO
- ▶ Инверсия inv(16)(p13.1;q22) или транслокация t(16;16)(p13.1;q22); химерный ген CBFB-MYH11
- ▶ Транслокация t(9;11)(p22;q23); химерный ген KMT2A-MLLT3
- ▶ Транслокация t(6;9)(p23;q34); химерный ген DEK-NUP214
- ▶ Инверсия inv(3)(q21q26.2) или транслокация t(3;3)(q21;q26.2); химерный ген RPN1-MECOM
- ▶ Транслокация t(1;22)(p13;q13); химерный ген RBM15-MKL1
- ▶ Мутации гена NPM1
- ▶ Мутации гена CEBPA

Важнейшим этапом в диагностике ОМЛ является оценка прогноза заболевания.

ПРОГНОЗ ПОЗВОЛЯЕТ ОПРЕДЕЛИТЬ:

Терапевтическую тактику

Срок для проведения аллогенной трансплантации

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ХРОМОСОМНЫМИ АБЕРРАЦИЯМИ И ПРОГНОЗОМ ПРИ ОМЛ

Химерный онкоген	Транслокация/инверсия	Прогноз
PML-RARA	t(15;17)	Благоприятный прогноз
AML1-ETO (RUNX1-RUNXIT1)	t(8;21)	Благоприятный прогноз
CBFB-MYH11*	t(16;16); inv(16)	Благоприятный прогноз
KMT2A-MLLT3 (MLL-AF9)*	t(9;11)	Промежуточный прогноз
DEK-NUP214*	t(6;9)	Неблагоприятный прогноз

*Исследование выполняется по запросу

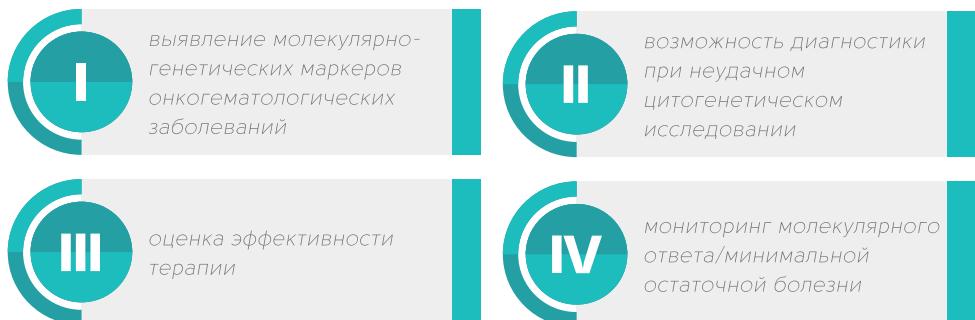
Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ)

является самым распространённым злокачественным заболеванием в детском и юношеском возрасте. В 25% случаев у больных с ОЛЛ встречается транслокация t(9;22).

РОЛЬ ФИЛАДЕЛЬФИЙСКОЙ ХРОМОСОМЫ ПРИ ОЛЛ

Химерный онкоген	Транслокация/инверсия	Значение
BCR-ABL (p210, p190)	t(9;22)	Решающее значение в выборе протокола лечения

ПРЕИМУЩЕСТВА МЕТОДА ПЦР В ДИАГНОСТИКЕ ОСТРЫХ ЛЕЙКОЗОВ:



МАСТОЦИТОЗ

Мастоцитоз – заболевание, обусловленное избыточной пролиферацией тучных клеток в коже, костном мозге, лимфатических узлах и других тканях организма.

Мутация D816V в гене KIT (c-KIT) – важный диагностический признак при мастоцитозе.

ЧАСТОТА МУТАЦИИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ МАСТОЦИТОЗА:

- ▶ Кожный мастоцитоз: 10-30%
- ▶ Системный мастоцитоз: 70-90%

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЙ ДИАГНОЗ МЕЖДУ ЛЕЙКЕМИЧЕСКИМ СИСТЕМНЫМ МАСТОЦИТОЗОМ И МИЕЛОМАСТОЦИТАРНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Молекулярный маркер	Системный мастоцитоз	Миеломастоцитарный лейкоз
Экспрессия KIT/CD117	+	+
Мутация в гене KIT	+	-

ЛЕЧЕНИЕ МАСТОЦИТОЗА:

Ингибитор тирозинкиназы BCR-ABL
Иматиниб успешно применяется у больных системным мастоцитозом, однако он противопоказан пациентам с мутацией D816V в гене KIT

Подходят к завершению клинические испытания Мидостаурина – мультитаргетного препарата, продемонстрировавшего высокую эффективность в лечении системного мастоцитоза с мутацией D816V в гене KIT



Злокачественные лимфомы

Лимфомы характеризуются большим разнообразием нозологических форм и молекулярно-генетической гетерогенностью. Нередко сходство морфологического субстрата лимфом с неопухолевыми процессами составляет трудности для дифференциальной диагностики. В настоящее время диагностика лимфом основывается на морфологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических исследованиях.

ТРАНСЛОКАЦИИ, ХАРАКТЕРНЫЕ ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ЛИМФОМ

Заболевание	Транслокация	Онкогены/ онкосупрессоры
Фолликулярная лимфома	t(14;18)*	BCL2
Лимфоплазмоцитарная лимфома	t(9;14)*	PAX5
Мантийноклеточная лимфома	t(11;14)*	CCND1 (BCL1)
Лимфома Беркитта	t(8;14)*	MYC (c-MYC)
Диффузная В-крупноклеточная лимфома	Транслокации с вовлечением 3q27*	BCL6
Анапластическая крупноклеточная лимфома	t(2;5)	ALK

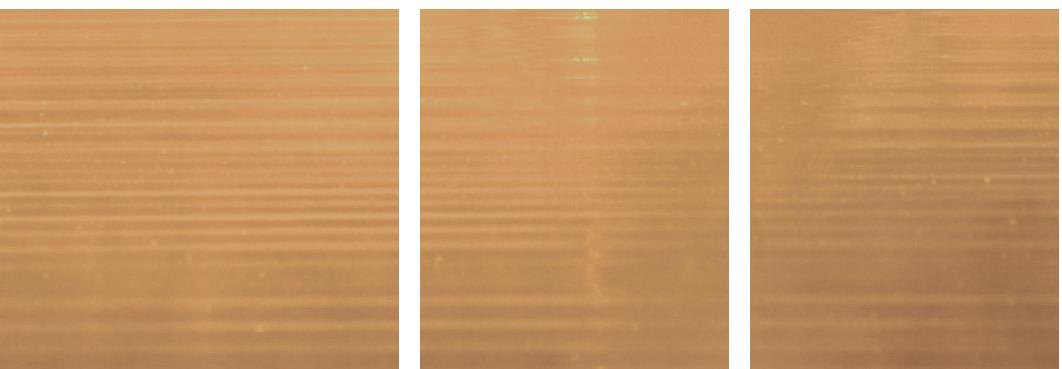
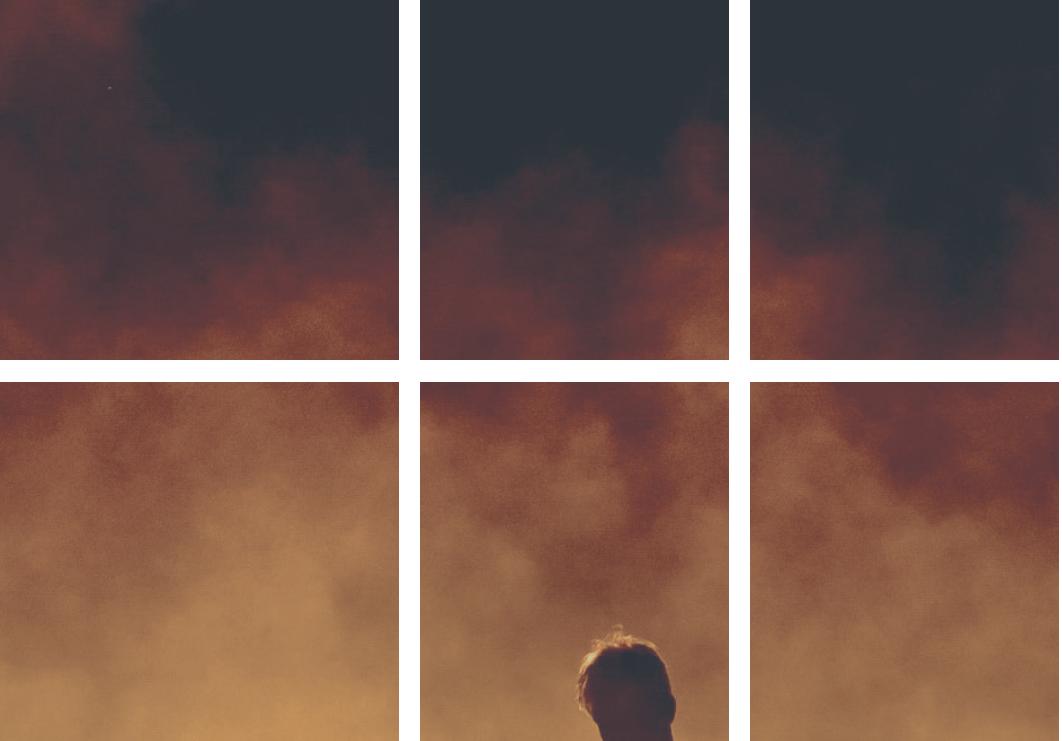
*Исследование выполняется по запросу

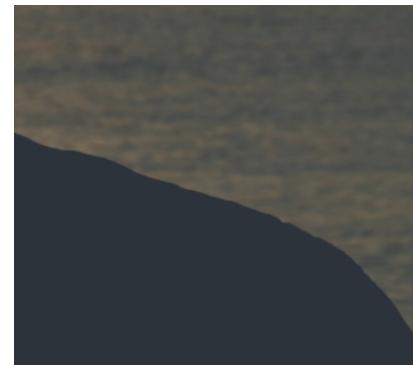
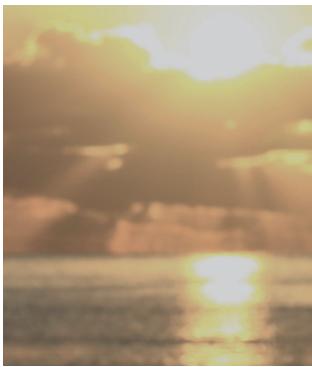
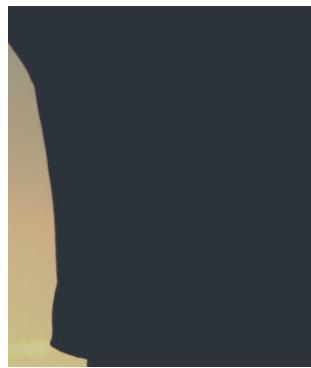
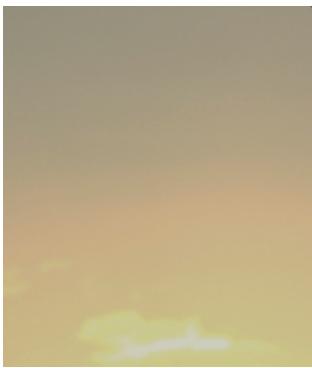
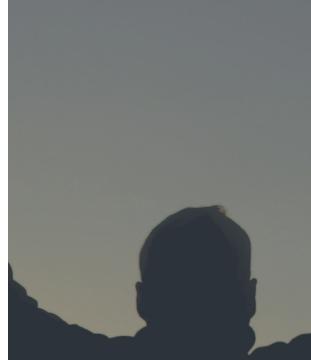
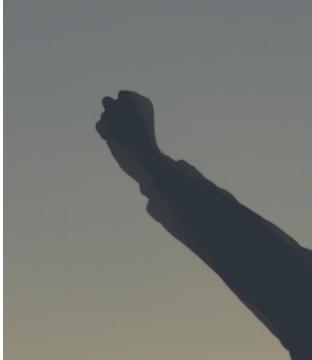
ОПРЕДЕЛЕНИЕ КЛОНАЛЬНОСТИ – эффективный диагностический критерий лимфом, ОЛЛ, хронических лимфолейкозов:

Опухолевые лимфоциты
практически всегда клональны

Реактивные неопухолевые
лимфоциты поликлональны

Основной метод молекулярной диагностики клональности, определяющий перестройку генов клеточных рецепторов Т-лимфоцитов и генов тяжелых цепей иммуноглобулинов В-лимфоцитов (TRB (TCRB), TRG (TCRG), IGH), – ПЦР. Варианты методики: ПЦР в реальном времени, ПЦР с последующим гетеродуплексным анализом, ПЦР с последующим прямым секвенированием.





Лаборатория молекулярной
патологии

«ГЕНОМЕД»

Г. МОСКВА, ПОДОЛЬСКОЕ ШОССЕ, ДОМ 8, КОРПУС 5

8 (495) 660-83-77 | genomed.ru

mail@genomed.ru