УДК 616-006.446.8

А.В. Виноградов

ИССЛЕДОВАНИЕ СРЕДНЕГО ВОЗРАСТА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ГЕННЫХ МУТАЦИЙ ПРИ ОСТРОМ МИЕЛОМОНОБЛАСТНОМ ЛЕЙКОЗЕ

ГАУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница №1»,
г. Екатеринбург, Российская Федерация;
ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»,
г. Екатеринбург, Российская Федерация

Резюме. ***Цель***: определить средний возраст возникновения генных мутаций при остром миеломонобластном лейкозе (ОММЛ). ***Материалы и методы.*** Исследовали пробы костного мозга и периферической крови 40 больных (средний возраст 50 лет, в том числе 13 в возрасте от 15 до 45 лет, 15 в возрасте 45-60 лет, 12 в возрасте старше 60 лет) с впервые выявленным ОММЛ. Детекцию хромосомных аномалий выполняли стандартным цитогенетическим методом и методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Скрининг точечных мутаций осуществляли в 8 генах: FLT3 (n=35), NPM1 (n=25), TP53 (n=24), c-KIT (n=23), NRAS (n=19), WT1 (n=18), DNMT3A (n=13) и KRAS (n=4) методом прямого автоматического секвенирования. ***Результаты***. У большинства больных (56,3%) определялся нормальный кариотип, в 15,6% — анеуплоидный, в 28,1% — другие структурные и количественные аномалии хромосом. Точечные мутации в исследованных генах в момент диагностики ОММЛ имели 35,0% пациентов. Наиболее высокие частоты мутаций выявлены для генов DNMT3A (30,8%), NPM1 (20,0%) и FLT3 (20,0%). Частота двойных мутантов составила 15.2%. Средний возраст выявления мутаций в генах c-KIT и NPM1 соответствовал молодым взрослым (33,5±2,9 и 44,2±11,4 соответственно), для 3 генов — зрелому возрасту (DNMT3A — 49,3±18,4; WT1 – 51,0; FLT3 – 54,0±12,3), для гена TP53 — пожилому (n=1, 63 года). Средний возраст двойных мутантов составил 42,2±13,7 года за счет ко-мутаций NPM1 и c-KIT.

Keywords: острый миеломонобластный лейкоз, гены c-KIT, DNMT3A, FLT3, NPM1, TP53, WT1, возраст

Конфликт интересов отсутствует.
Контактная информация автора, ответственного за переписку:
Виноградов Александр Владимирович
a.vinogradov@egov66.ru
Дата поступления 26.11.2020 г.
Образец цитирования:
Виноградов А.В. Исследование среднего возраста возникновения генных мутаций при остром миеломонобластном лейкозе. http://vestnikural.ru/article/1139 [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2020, Том 17, №3, с. 206–209, DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-3-206-209

Острые миелоидные лейкозы (ОМЛ) — это группа злокачественных новообразований крови, чаще встречающихся в пожилом и старческом возрасте и возникающих вследствие появления соматических мутаций в геноме кроветворных клеток-предшественниц [1].

Одним из вариантов острого миелоидного лейкоза является острый миеломонобластный лейкоз (ОММЛ), характеризующийся присутствием в опухоли бластных клеток двух типов — миелобластов и монобластов, экспрессирующих антигены CD33, CD13, CD14, CD15 и реагирующих с моноклональными антителами к пероксидазе и лизоциму. В структуре ОМЛ взрослых ОММЛ составляет до 25% и является вторым по частоте встречаемости после ОМЛ с созреванием (М2 по FAB) [1-3].

Цель: определить средний возраст возникновения генных мутаций при остром миеломонобластном лейкозе (ОММЛ).

Материалы и методы

Исследуемая группа состояла из 40 пациентов (средний возраст 50 лет, в том числе 13 в возрасте от 15 до 45

лет, 15 в возрасте 45-60 лет, 12 в возрасте старше 60 лет) с впервые выявленным ОММЛ. Генетический анализ проводился на образцах костного мозга и периферической крови больных Свердловского областного гематологического центра в период с 2008 по 2020 год.

Диагноз ОММЛ устанавливали в соответствии с рекомендациями ВОЗ и критериями FAB-классификации. Во всех случаях проводили морфологическую верификацию, включая цитологические, цитохимические исследования и иммунофенотипирование [4-6]. Для детекции хромосомных аномалий выполняли стандартный цитогенетический анализ и полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени.

Скрининг точечных мутаций осуществляли в 8 генах, в т.ч. FLT3 (n=35), NPM1 (n=25), TP53 (n=24), c-KIT (n=23), NRAS (n=19), WT1 (n=18), DNMT3A (n=13) и KRAS (n=4), методом прямого автоматического секвенирования по ранее описанным методикам [7-10]. Маркеры для генетического скрининга были выбраны в соответствии с рекомендациями ВОЗ и European Leukemia Net [1,11]. Частоту двойных мутантов рассчитывали только для случаев, при которых число обследованных на мутации генов было не меньше двух.

Сопоставление сегментов, выравнивание и сравнение нуклеотидных и аминокислотных последовательностей проводили с помощью компьютерной программы MEGA X [12]. Доверительные интервалы (ДИ) устанавливали на основе биномиального распределения.

Результаты

У большинства больных (56,3%) определялся нормальный кариотип, в 15,6% — анеуплоидный, в 28,1% — другие структурные и количественные аномалии хромосом.

Наиболее распространенным типом хромосомных аберраций в исследуемой группе была инверсия inv(16) (p13;1q22) — 15,6%. Реже встречалась трисомия хромосомы 8, которая была выявлена в 6,3% случаев. Другие мутации были обнаружены в единичных наблюдениях (3,1%).

Точечные мутации в исследованных генах в момент диагностики ОММЛ имели 35,0% пациентов. Наиболее высокие частоты мутаций выявлены для генов DNMT3A (30,8%), NPM1 (20,0%) и FLT3 (20,0%). Более редко встречались мутации в гене c-KIT, которые были выявлены в 8,7% случаев. Мутации в генах TP53 и WT1 были обнаружены каждая в 4,2% и 5,6% наблюдений, соответственно. Мутации в исследуемых экзонах генов KRAS и NRAS в исследуемой группе обнаружены не были, что может быть обусловлено ее объемом.

В 22,5% проб мутации определялись лишь в одном из исследованных генов, в 15,2% — в двух. В среднем частота мутаций составила 1,4 на исследуемый образец. Так, большинство ОММЛ, мутантных по c-KIT (n=2), DNMT3A (n=2) и NPM1 (n=3) имели ко-мутации в других генах, тогда как ко-мутации при генетических повреждениях FLT3 были менее частыми (n=3), а для TP53 и WT1 таких случаев выявлено не было. Наиболее частыми сочетаниями, присутствующими в исследуемой группе, были ко-мутации NPM1 и FLT3, DNMT3A и c-KIT, NPM1 и c-KIT.

Мы определили средний возраст возникновения мутаций при ОММЛ по возрастной классификации ВОЗ [13], который для генов c-KIT и NPM1 оказался соответствующим молодому возрасту (33,5±2,9 и 44,2±11,4 соответственно), для 3 генов – зрелому (DNMT3A – 49,3±18,4; WT1 – 51,0; FLT3 – 54,0±12,3), для гена TP53 - пожилому (n=1, 63 года). Средний возраст двойных мутантов составил 42,2±13,7 года за счет ко-мутаций NPM1 и c-KIT.

Вывод

Средний возраст возникновения мутаций в генах c-KIT, DNMT3A, FLT3, NPM1, TP53 и WT1 при ОММЛ отличался, что может отражать патогенетические особенности лейкомогенеза у взрослых больных разного возраста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Starczynowski D.T. HHEX expression drives AML development. Blood. 2020. Vol. 136(14). pp. 1575-1576.

2. Panuzzo C., Signorino E. , Calabrese C. et al. Landscape of tumor suppressor mutations in acute myeloid leukemia. J. Clin. Med. 2020. Vol. 9(3). p. 802.

3. Rose D., Haferlach T., Schnittger S. et al. Subtype-specific patterns of molecular mutations in acute myeloid leukemia. Leukemia. 2017. Vol. 31 (1). pp. 11-17.

4. Arber D.A., Orazi A., Hasserjian R. et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2016. Vol.127 (20). pp. 2391-2405.

5. Jung J., Cho B.S., Kim H.J. et al. Reclassification of acute myeloid leukemia according to the 2016 WHO classification. Ann. Lab. Med. 2019. Vol. 39(3). pp. 311-316.

6. Walter R.B., Othus M., Burnett A.K. et al. Significance of FAB subclassification of «acute myeloid leukemia, NOS» in the 2008 WHO classification: analysis of 5848 newly diagnosed patients. Blood. 2013. Vol. 121 (13). pp. 2424-2431.

7. Виноградов А.В., Резайкин А.В., Изотов Д.В., Сергеев А.Г. Применение технологии прямого автоматического секвенирования для детекции мутаций генов ASXL1, DNMT3A, FLT3, KIT, NRAS, TP53 и WT1 при острых миелоидных лейкозах с неуточненым кариотипом // Вестник Уральской медицинской академической науки. -

2016. – №4. – С.38-51.

8. Виноградов А.В., Резайкин А.В., Салахов Д.Р. и соавт. Детекция мутаций генов DNMT3A, FLT3, KIT, KRAS, NRAS, NPM1, TP53 и WT1 при острых миелоидных лейкозах с нормальным кариотипом бластных клеток // Вестник Уральской медицинской академической науки. - 2016. – №2. – С. 89-101.

9. Виноградов А.В., Резайкин А.В., Сергеев А.Г. Детекция мутаций генов FLT3, KIT, NRAS, TP53 и WT1 при острых миелоидных лейкозах с аберрантными кариотипами // Вестник Уральской медицинской академической науки. - 2015. – №1. – С. 77-84.

10. Виноградов А.В., Резайкин А.В., Сергеев А.Г. Детекция точечных мутаций в гене DNMT3A при острых миелоидных лейкозах методом прямого автоматического секвенирования // Бюллетень сибирской медицины. – 2015. – Т.14. – №1. – С. 18-23.

11. Döhner H., Estey E.H., Grimwade D. et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. Blood. 2017. Vol. 129 (4). pp. 424-447.

12. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. Mol. Biol. Evol. 2018. Vol. 35(6). pp. 1547-1549.

13. Гериатрия: национальное руководство / под ред. О.Н. Ткачевой, Е.В. Фроловой, Н.Н. Яхно. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. – С. 40-66.

Автор
Виноградов Александр Владимирович
ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница №1», отделение гематологии
ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет
Министерство здравоохранения Свердловской области, отдел организации медицинской помощи взрослому населению
Врач-гематолог, кандидат медицинских наук, главный терапевт Министерства здравоохранения Свердловской обл.
Российская Федерация, 620014, г. Екатеринбург, ул. Вайнера, д. 34б
a.vinogradov@egov66.ru

A.V. Vinogradov

STUDY OF THE AVERAGE AGE OF OCCURRENCE OF GENE MUTATIONS IN ACUTE MYELOMONOBLASTIC LEUKEMIA

Sverdlovsk Regional Clinical Hospital N 1, Yekaterinburg, Russian Federation;
Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. ***Aim***: to determine the average age of occurrence of gene mutations in acute myelomonoblastic leukemia (AMML). ***Materials and methods.*** Bone marrow and peripheral blood samples from 40 patients (average age 50 years, including 13 aged 15 to 45 years, 15 aged 45-60 years, 12 aged over 60 years) with newly detected AMML were examined. Detection of chromosomal abnormalities was performed using standard cytogenetic and real-time polymerase chain reaction methods. Point mutations were screened in 8 genes: FLT3 (n=35), NPM1 (n=25), TP53 (n=24), C-KIT (n=23), NRAS (n=19), WT1 (n=18), DNMT3A (n=13), and KRAS (n=4) by direct automatic sequencing method. ***Results***. The majority of patients (56.3%) had a normal karyotype, 15.6% had aneuploid karyotype, and 28.1% had other structural and quantitative chromosome abnormalities. 35.0% of patients had point mutations in the studied genes at the time of diagnosis of OMML. The highest mutation rates were found for the DNMT3A (30.8%), NPM1 (20.0%), and FLT3 (20.0%) genes. The frequency of double mutants was 15.2%. The average age of detection of mutations in the c-KIT and NPM1 genes corresponded to young adults (33.5±2.9 and 44.2±11.4, respectively), for 3 genes — to middle age (DNMT3A — 49.3±18.4; WT1 — 51.0; FLT3 — 54.0±12.3), for the TP53 gene — to the elderly (n=1, 63 years). The average age of double mutants was 42.2±13.7 years due to NPM1 and c-KIT co-mutations.

Keywords: acute myelomonoblastic leukemia, c-KIT gene, DNMT3A gene, FLT3 gene, NPM1 gene, TP53 gene, WT1 gene, age

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:
Alexander V. Vinogradov

a.vinogradov@egov66.ru
Received 26.11.2020
For citation:
Vinogradov A.V. Study of the average age of occurrence of gene mutations in acute myelomonoblastic leukemia. URL: http://vestnikural.ru/article/1139 [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2020, Vol. 17, no. 3, pp. 206–209. DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-3-206-209 (In Russ)

REFERENCES

1. Starczynowski D.T. HHEX expression drives AML development. Blood. 2020. Vol. 136(14). pp. 1575-1576.
2. Panuzzo C., Signorino E. , Calabrese C. et al. Landscape of tumor suppressor mutations in acute myeloid leukemia. J. Clin. Med. 2020. Vol. 9(3). p. 802.
3. Rose D., Haferlach T., Schnittger S. et al. Subtype-specific patterns of molecular mutations in acute myeloid leukemia. Leukemia. 2017. Vol. 31 (1). pp. 11-17.
4. Arber D.A., Orazi A., Hasserjian R. et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2016. Vol.127 (20). pp. 2391-2405.
5. Jung J., Cho B.S., Kim H.J. et al. Reclassification of acute myeloid leukemia according to the 2016 WHO classification. Ann. Lab. Med. 2019. Vol. 39(3). pp. 311-316.
6. Walter R.B., Othus M., Burnett A.K. et al. Significance of FAB subclassification of «acute myeloid leukemia, NOS» in the 2008 WHO classification: analysis of 5848 newly diagnosed patients. Blood. 2013. Vol. 121 (13). pp. 2424-2431.
7. Vinogradov A.V., Rezaykin A.V., Izotov D.V., Sergeev A.G. ASXL1, DNMT3A, FLT3, KIT, NRAS, TP53 and WT1 genes mutations detection in acute myeloid leukemia with unspecified karyotype using direct sequencing technique. Journal of Ural Medical Academic Science [Vestnik Uralskoy medicinskoy akademicheskoy nauki]. 2016. no. 4. pp. 38-51. [In Russ.]
8. Vinogradov A.V., Rezaikin A.V., Salahov D.R. et al. DNMT3A, FLT3, KIT, KRAS, NRAS NPM1, TP53 and WT1 genes point mutations detection in acute myeloid leukemia with normal karyotype. Journal of Ural Medical Academic Science [Vestnik Uralskoy medicinskoy akademicheskoy nauki]. 2016. no. 2. pp. 89-101. [In Russ.]
9. Vinogradov A.V., Rezaikin A.V., Sergeev A.G. FLT3, KIT, NRAS, TP53 and WT1 gene point mutations detection in acute myeloid leukemia with abnormal karyotype // Journal of Ural Medical Academic Science [Vestnik Uralskoy medicinskoy akademicheskoy nauki]. 2015. no. 1. pp. 77-84. [In Russ.]
10. Vinogradov A.V., Rezaikin A.V., Sergeev A.G. DNMT3A gene point mutations detection in acute myeloid leukemia patients using sequencing technique. Bulletin of Siberian Medicine [Byulleten' Sibirskoj Mediciny]. 2015. Vol. 14 (1). pp. 18-23 [In Russ.]
11. Döhner H., Estey E.H., Grimwade D. et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. Blood. 2017. Vol. 129 (4). pp. 424-447.
12. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. Mol. Biol. Evol. 2018. Vol. 35(6). pp. 1547-1549.
13. Geriatrics: national guideline [Geriatriya: nacional'noe rukovodstvo]/ Ed. Tkacheva O.N., Frolova E.V., Yachno N.N. M.: GEOTAR-Media, 2018. pp. 40-66 [In Russ.]

Author

Alexander V. Vinogradov
Sverdlovsk Regional Clinical Hospital N 1, Department of Hematology,
Sverdlovsk Regional Ministry of Health, Department of Healthcare for Adults
Hematologist, MD, chief therapist of Sverdlovsk Regional Ministry of Health
Russian Federation, 620014, Ekaterinburg, Weiner str., 34b
a.vinogradov@egov66.ru