

УДК 616.155-006.04-07:575.1/.2

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ГЕМОБЛАСТОЗОВ

А.А. Усенова

Представлены современные аспекты молекулярно-генетических возможностей диагностики гемобластозов. Показаны перспективы развития генетических исследований с акцентом на гемобластозы.

Ключевые слова: биочип; транслокация; делеция.

MODERN ASPECTS OF MOLECULAR-GENETIC RESEARCHERS OF HEMOBLASTOSIS

А.А. Usenova

This paper presents the modern molecular genetics diagnostics in hemoblastosis. Prospects for the development of genetic researchers with a focus on hematological malignancies are shown.

Keywords: biochips; translocation; deletion.

Несмотря на то, что имеется значительное количество работ, посвященных взаимосвязи этиологии гемобластозов с воздействием различных эндогенных и экзогенных факторов, в последнее время акцент в онкоэпидемиологии делается именно на молекулярно-генетические особенности не только гемобластозов, но и большинства других локализаций. Изобретение метода молекулярно-генетического анализа показало, что в большинстве случаев опухолевая трансформация клеток происходит в результате комплекса мутаций. Генетические аномалии изменяют физиологию и биологическое поведение клеток, определяя уровень блока ее дифференцировки. Вследствие этого многие генетические aberrации ассоциированы с определенным иммунофенотипом опухолевой клетки. В дебюте острых лейкозов различные хромосомные аномалии выявляют в 40–60 % случаев.

Еще в конце 80-х – начале 90-х годов XX века был сделан вывод о том, что хромосомный анализ является одним из важнейших прогностических методов при гемобластозах, в частности при острых лейкозах. Этот вывод подтвержден данными больших многоцентровых исследований самых последних лет [1].

Так, например, филадельфийская хромосома (Ph-хромосома) – цитогенетическая аномалия, которая характеризуется делецией или транслокацией 22q11 при остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ), или транслокация t(4;11), выявляющаяся у 68–81 %

детей в возрасте до года с помощью молекулярно-биологических методов, является фактором неблагоприятного прогноза. Существует четкая связь наблюдающихся перестроек хромосом с формой острого лейкоза: транслокации 8;21 и 6;9 (p21-23; q33-34) встречаются при миелобластном лейкозе; t(15;17) (q25; q22) – при промиелоцитарном; t(9;11) (p21-22; q22-24) – при остром монобластном; t(4;11) (q21; q23) – при лимфобластном лейкозе [1].

Для острого миелобластного лейкоза примером различных транслокаций является t(8;21), характерная для варианта M₂, t(15;17)-M₃, inv(16)-M₁;M₂, t(9;22)-M₁;M₂, t(6;9)-M₂;M₄, t(9;11)-M₄;M₅, t(8;16)-M₃, inv(3)-M₁;M₂;M₄;M₇, t(3;5)-M₂;M₆ (N. Mauritzson, 1999, M.A. Frenkel, 1994). В настоящее время к изменениям кариотипа, имеющим благоприятное прогностическое значение, относят хромосомные транслокации t(8;21)(q22;q22), t(15;17)(q22;q21), t(16;16)(p13;q22) и инверсию хромосомы 16 – inv(16)(p13;q22). В группу цитогенетических изменений, имеющих неблагоприятное прогностическое значение, включают транслокации t(6;9)(p23;q34) и t(9;22)(q34;q13), различные перестройки короткого плеча хромосомы 17 и сложные изменения кариотипа, т. е. лейкозы с тремя или более хромосомными нарушениями. Все остальные случаи попадают в группу промежуточного прогноза (Е.В. Флейшман, 2001).

Наиболее частым структурным хромосомным нарушением, выявляемым при цитогенетических

исследованиях хронического лимфолейкоза (ХЛЛ), является делеция на участке 13q14. При хроническом В-клеточном лимфолейкозе, встречающемся примерно у 90 % больных хроническим лимфолейкозом, аномалии хромосом обнаруживаются в 50 % случаев, чаще в виде трисомии хромосомы 12 (+12). Первичные лимфомы кожи представляют собой своеобразный подтип экстра nodальных лимфом, они часто отличаются от соответствующих им nodальных гистологических аналогов не только по характеру течения и прогнозу, но и наличием специфических хромосомных транслокаций и экспрессией различных онкогенов. Так, первичная анапластическая крупноклеточная лимфома кожи имеет благоприятный прогноз и в большинстве случаев не экспрессирует ALK-протеин – химерный белок, возникающий в результате t(2;5)(p23;q35) и ответственный за патогенез более агрессивной анапластической крупноклеточной лимфомы nodального происхождения. В большинстве nodальных фолликулярных лимфом происходит реаранжировка bcl-2-онкогена, кодирующего белок-супрессор апоптоза BCL-2, тогда как первичная лимфома кожи из клеток фолликулярного центра характеризуется отсутствием данной реаранжировки [2].

В классификации REAL (Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms, 1994 г.) для этой нозологии был предложен термин “лимфома из клеток маргинальной зоны селезенки (+/- ворсинчатые лимфоциты)” (splenic marginal zone lymphoma – SMZL). В 1993 г. D.G. Oscier и соавт., проанализировав кариотип у 31 больного SMZL, используя культуры лимфоцитов периферической крови, стимулированных В-клеточными митогенами, не выявили специфических хромосомных aberrаций. Транслокация t(11;14)(q13;q32), которая характерна для лимфомы из клеток мантийной зоны, встречается при SMZL у 18 % больных. Молекулярный анализ случаев SMZL с транслокацией t(11;14) выявил реаранжировку BCL-1/PRAD гена с низким уровнем экспрессии циклин-D1-транскрипта, что согласуется с данными иммуногистохимии о редкости циклин-D1-позитивных форм. Изменения, наблюдаемые при хроническом лимфолейкозе (трисомия 12-й хромосомы и делеция 13q14), редки. Не описано ни одного случая транслокации t(14;18)(q32;q21), характерной для фолликулярной лимфомы [3, 4].

Лимфома Беркитта (ЛБ) – гетерогенная группа преимущественно экстра nodальных высокоагрессивных В-клеточных лимфом с высокой фракцией пролиферирующих клеток (Ki-67 около 100 %) и типичными хромосомными аномалиями (t(8;14)(q24;q32), t(2;8)(p12;q24) или t(8;22)(q24;q11)), раз-

личающимися по клиническим проявлениям и морфологической картине. Транслокация с участием локуса 8q24 выявляют в 100 % случаев ЛБ. Наличие данной транслокации – один из главных диагностических критериев этого заболевания. В 80 % случаев происходит транслокация с партнерским локусом Н-цепи иммуноглобулина t(8;14)(q24;q32), в 20 % – с локусом λ-цепи t(8;22)(q34;q11)б, в 5 % – с локусом κ-цепи t(2;8)(p11;q24). В большинстве случаев определяются дупликации или трисомии хромосом 1 и 7 и делеции хромосомы 6. Перестройки с участием 6q, 7q, 13q являются прогностически неблагоприятными [5, 6].

Кроме вышеперечисленных факторов риска многими лабораториями ведется активный поиск молекулярных и генетических факторов у больных лимфомой Ходжкина, которые могли бы предсказать более агрессивное течение болезни и определить группу больных, нуждающуюся в интенсификации терапии. Однако, какие из исследуемых сегодня маркеров найдут применение в клинической практике, покажет будущее.

При лимфомах В-клеточной природы наиболее частой является перестройка хромосомы 14. Она может возникать также в хромосомах 1, 8, 10, 11 и 18.

Некоторые неходжкинские лимфомы с своим патогенезом тесно связаны с молекулярными дефектами, которые могут иметь диагностическое значение. Примером диагностически важной неслучайной транслокации, связанной с лимфомами из клеток зоны мантии, может быть t(11;14)(q13;q32), в результате которой возникает сверхэкспрессия bcl-1 (циклин-D1/PRAD 1).

Примерно 85–90 % всех фолликулярных лимфом характеризуются неслучайной генетической аномалией-t(14;18)(q32;q21), аномалией – t(14;18)(q32;q21). В результате наступает дерегуляция экспрессии нормального гена, располагающегося на 18-й хромосоме, известного как bcl-2. Этот ген кодирует 26 кДа белок ядерной мембраны и эндоплазматической сети, который с помощью неизученного механизма не дает погибнуть клетке путем апоптоза. Сверхэкспрессия bcl-2 в клетках фолликулярной лимфомы обеспечивает удлинение времени жизни опухолевых клеток, препятствуя их запрограммированной гибели. Транслокация bcl-2 не является патогномоничной для фолликулярных лимфом и встречается в некоторых случаях диффузных В-клеточных лимфом. Диагностически и прогностически важной является транслокация t(2;5)(p23;q35), характерная для анапластических крупноклеточных лимфом. Транслокация ведет к слиянию гена нуклеофосмина (NMP) и гена киназы анапластической лимфомы (ALK1). Это

приводит к синтезу химерного белка, который обнаруживается в значительной части случаев анапластических крупноклеточных лимфом.

Другим примером являются: транслокация *bcl-3* t(14;19)(q32;q13), обнаруженная в лимфоцитарных лимфомах; перестройка *bcl-6* в диффузных В-клеточных крупноклеточных лимфомах; перестройка *c-myc*, связанная с t(8;14) (q24;q32) в лимфомах Беркитта; *раx-5* транслокация t(19;14) (p13;q32), выявленная в лимфоплазмочитарных; *bcl-10* перестройка, выявленная в MALT-лимфомах при t(1;14)(p22;q32) или другой генетический дефект MALT-лимфом- t(11;18)(q21;q21), лимфом – t(11;18) в результате которого экспрессируется aberrантный белок API2-MLT [7, 8].

В заключение следует отметить, что нередко клиническая характеристика опухолевого процесса (в первую очередь, локализация) может иметь ключевое значение в дифференциальной диагностике, поскольку не только морфологические признаки лимфом, но и иммунофенотип опухолевых клеток неспецифичны, а молекулярно-генетический анализ невозможен из-за разрушения ДНК при гистологической обработке биопсированной ткани или недоступен. Необходимо помнить, что связь между цитологической характеристикой состава опухоли (так называемая гистологическая “степень злокачественности” неходжкинских лимфом) и течением заболевания обнаружена не была, поэтому клиническая практика требует точного нозологического диагноза опухолевой ткани на основании интегрированного гистологического, иммуногистохимического, а в некоторых случаях и молекулярно-генетического исследования опухолевого субстрата.

Установление молекулярных механизмов действия различных ферментов, структуры генома человека, животных и растений явилось основополагающей революцией в биологии, которая окажет решающее влияние на развитие медицины XXI века. Открываются тысячи генов, устанавливаются их функциональное значение и роль при различных заболеваниях, появляются уникальные возможности для выяснения причины многих наследственных и онкологических заболеваний, для мониторинга окружающей среды, ожидается стремительное развитие фармакогенетики и прогностической медицины.

В применении к диагностике каждого конкретного пациента, индивидуальный анализ мно-

жества генов, белков клетки и клеточных секретов являлся бы чрезвычайно информативным и эффективным, однако проведение такого многопараметрического анализа представляет в настоящее время сложную и дорогую экспериментальную задачу. Необходимо развитие принципиально новых подходов для создания многопараметрической молекулярной диагностики, которая должна стать повсеместно доступной для исследовательских групп и клиник.

Литература

1. *Czuczman M.S.* Rituximab in combination with CHOP or fludarabine in low-grade lymphoma / *M.S. Czuczman, A. Fallon, A. Mohr et al.* // *Semin. Oncol.* 2002. Vol. 29 (Suppl. 2). P. 36–40.
2. Значение *лучевой* терапии в лечении генерализованных неходжкинских лимфом (IV стадия) / В.П. Харченко, Г.А. Паньшин, В.М. Сотников и др. // *Современная онкология.* 2006. Т. 8. № 4. С. 37–38.
3. *Демина Е.А.* Лимфома Ходжкина: прогностические признаки сегодня / *Е.А. Демина* // *Современная онкология.* 2006. Т. 8. № 4. С. 4–7.
4. Иммуноглобулинсекретирующая лимфома из клеток маргинальной зоны селезенки (клинико-иммуноморфологическая характеристика) / В.Р. Городецкий, Н.А. Пробатова, Н.Н. Тупицын и др. // *Современная онкология.* 2000. Т. 2. № 4. С. 130.
5. *Мазуров В.И.* Классификация лимфом, морфология, иммунофенотип, молекулярная генетика неходжкинских лимфом / *В.И. Мазуров, Ю.А. Криволапов* // *Практическая онкология.* 2004. Т. 5. № 3. С. 169–175.
6. *Андреева Л.Ю.* Прогностическое значение иммунофенотипа злокачественных клеток (на примере острых нелимфобластных лейкозов) / *Л.Ю. Андреева, М.А. Волкова, И.Г. Маркина* и др. // *Русский медицинский журнал.* 2001, 15 ноября. Т. 9. № 22. С. 1003.
7. *Белоусова И.Э.* Первичные лимфомы кожи: диагностика и лечение / *И.Э. Белоусова, Ю.А. Криволапов* // *Современная онкология.* 2006. Т. 8. № 4. С. 29–34.
8. Заболеваемость злокачественными новообразованиями и смертность от них населения России в 2001 году / под ред. академика РАМН *В.И. Чиссова, проф. В.В. Старинского, Г.В. Петровой.* М., 2003. С. 126.