



New Day in Medicine
Новый День в Медицине

NDM



TIBBIYOTDA YANGI KUN

Ilmiy referativ, marifiy-ma'naviy jurnal



AVICENNA-MED.UZ



ISSN 2181-712X.
EiSSN 2181-2187

5 (55) 2023

**Сопредседатели редакционной
коллегии:**

**Ш. Ж. ТЕШАЕВ,
А. Ш. РЕВИШВИЛИ**

Ред. коллегия:

М.И. АБДУЛЛАЕВ
А.А. АБДУМАЖИДОВ
А.Ш. АБДУМАЖИДОВ
Р.Б. АБДУЛЛАЕВ
М.М. АКБАРОВ
Х.А. АКИЛОВ
М.М. АЛИЕВ
С.Ж. АМИНОВ
Ш.Э. АМОНОВ
Ш.М. АХМЕДОВ
Ю.М. АХМЕДОВ
Т.А. АСКАРОВ
Ж.Б. БЕКНАЗАРОВ (главный редактор)
Е.А. БЕРДИЕВ
Б.Т. БУЗРУКОВ
Р.К. ДАДАБАЕВА
М.Н. ДАМИНОВА
К.А. ДЕХКОНОВ
Э.С. ДЖУМАБАЕВ
А.Ш. ИНОЯТОВ
С. ИНДАМИНОВ
А.И. ИСКАНДАРОВ
С.И. ИСМОИЛОВ
Э.Э. КОБИЛОВ
Д.М. МУСАЕВА
Т.С. МУСАЕВ
Ф.Г. НАЗИРОВ
Н.А. НУРАЛИЕВА
Б.Т. РАХИМОВ
Ш.И. РУЗИЕВ
С.А. РУЗИБОВЕВ
С.А. ГАФФОРОВ
С.Т. ШАТМАНОВ (Кыргызстан)
Ж.Б. САТТАРОВ
Б.Б. САФОВЕВ (отв. редактор)
И.А. САТИВАЛДИЕВА
Д.И. ТУКСАНОВА
М.М. ТАДЖИЕВ
А.Ж. ХАМРАЕВ
А.М. ШАМСИЕВ
А.К. ШАДМАНОВ
Н.Ж. ЭРМАТОВ
Б.Б. ЕРГАШЕВ
Н.Ш. ЕРГАШЕВ
И.Р. ЮЛДАШЕВ
Д.Х. ЮЛДАШЕВА
А.С. ЮСУПОВ
М.Ш. ХАКИМОВ
К.А. ЕГЕЗАРЯН (Россия)
DONG JINCHENG (Китай)
КУЗАКОВ В.Е. (Россия)
Я. МЕЙЕРНИК (Словакия)
В.А. МИТИШ (Россия)
В.И. ПРИМАКОВ (Беларусь)
О.В. ПЕШИКОВ (Россия)
А.А. ПОТАПОВ (Россия)
А.А. ТЕПЛОВ (Россия)
Т.Ш. ШАРМАНОВ (Казахстан)
А.А. ЩЕГОЛОВ (Россия)
Prof. Dr. KURBANHAN MUSLUMOV (Azerbaijan)
Prof. Dr. DENIZ UYAK (Germany)

www.bsmi.uz

<https://newdaymedicine.com>

E: ndmuz@mail.ru

Тел: +99890 8061882

**ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН
НОВЫЙ ДЕНЬ В МЕДИЦИНЕ
NEW DAY IN MEDICINE**

*Илмий-рефератив, маънавий-маърифий журнал
Научно-реферативный,
духовно-просветительский журнал*

УЧРЕДИТЕЛИ:

**БУХАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
ООО «ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН»**

Национальный медицинский
исследовательский центр хирургии имени
А.В. Вишневского является генеральным
научно-практическим
консультантом редакции

Журнал был включен в список журнальных
изданий, рецензируемых Высшей
Аттестационной Комиссией
Республики Узбекистан
(Протокол № 201/03 от 30.12.2013 г.)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

М.М. АБДУРАХМАНОВ (Бухара)
Г.Ж. ЖАРЫЛКАСЫНОВА (Бухара)
А.Ш. ИНОЯТОВ (Ташкент)
Г.А. ИХТИЁРОВА (Бухара)
Ш.И. КАРИМОВ (Ташкент)
У.К. КАЮМОВ (Ташкент)
Ш.И. НАВРУЗОВА (Бухара)
А.А. НОСИРОВ (Ташкент)
А.Р. ОБЛОКУЛОВ (Бухара)
Б.Т. ОДИЛОВА (Ташкент)
Ш.Т. УРАКОВ (Бухара)

5 (55)

2023

май

Received: 20.04.2023, Accepted: 30.04.2023, Published: 15.05.2023

УДК 616-07.155.392-036.12

АНАЛИЗ ХИМЕРНЫХ ОНКОГЕНОВ BCRABL P210 И BCRABL P190 У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ В УЗБЕКИСТАНЕ

Сабирова Ш.Г., Каримов Х.Я., Бобоев К.Т.

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии, Ташкент

✓ Резюме

Исследование проводилось на базе Республиканского центра научно-практической медицины специализированной гематологии, в нем приняли участие 101 пациент (который из них 6 детей и подростков и 95 взрослых), поступивших в онкологическое отделение центра. По заключению исследования, частота заболевания среди представителей мужского и женского пола была несколько выше у мужчин, чем у женщин. Также, в частности, у всех пациентов с В-ОЛЛ, Т-ОЛЛ и ОМЛ BCR-ABLP190 был равен к 0%, и только у пациентов с ХМЛ различных вариантов онкогена BCR-ABL (BCR-ABLP210, BCR-ABLP190) обнаружена мутация.

Ключевые слова: ген, хронический миелолейкоз, полимеразная цепная реакция, анализ, больные.

ЎЗБЕКИСТОНДАГИ ГЕМАТОЛОГИК САРТОНЛИ БАСОРЛАРНИНГ АЙРИ ТУРИДАГИ BCRABL P210 VA BCRABL P190 ХИМЕРИК ОНКОГЕНЛАРИНИНГ ТАХЛИЛИ

Sobirova Sh.G., Karimov X.Ya., Boboev K.T.

Respublika ixtisoslashtirilgan gematologiya ilmiy-amaliy tibbiyot markazi, Toshkent sh

✓ Rezyume

Tadqiqot Respublika ixtisoslashtirilgan gematologiya ilmiy-amaliy tibbiyot markazida bajarilib, unda markazning onkogematologiya bo'limiga yotqizilgan 101 nafar bemor (ulardan 6 nafar bolalar va o'smirlar va 95 nafar kattalar) ishtirok etdi. Tadqiqot xulosasiga ko'ra kasallik, erkak va ayol vakillari o'rtasida erkaklar ayollarga nisbatan uchrash darajasi sezilarli bo'lmagan yuqori natijaini ko'rsatdi. Shuningdek, xususan barcha B-O'LL, T- O'LL va O'ML li bemorlarda BCR-ABLP190 0%, faqatgina SML bilan og'rigan bemorlarda BCR-ABL (BCR-ABLP210, BCR-ABLP190) onkogeni turli variantlarining mutatsiyasi aniqlandi.

Kalit so'zlar: gen, surunkali mieloleykoz, polimeraz zanjirli reksiya, tahlil, bemorlar.

ANALYSIS OF CHIMERIC ONCOGENES BCRABL P210 AND BCRABL P190 IN SOME TYPES OF HEMATOLOGICAL CANCER PATIENTS IN UZBEKISTAN

Sabirova Sh.G., Karimov Kh.Ya., Boboev K.T.

Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Hematology, Tashkent

✓ Resume

The study was conducted on the basis of the Republican Center for Scientific and Practical Medicine of Specialized Hematology, it involved 101 patients (including 6 children and adolescents and 95 adults) admitted to the oncology department of the center. The study concluded that the incidence of the disease among males and females was slightly higher in men than in women. Also, in particular, in all patients with B-ALL, T-ALL and AML, BCR-ABLP190 was equal to 0%, and only in patients with CML of various variants of the BCR-ABL oncogene (BCR-ABLP210, BCR-ABLP190) a mutation was found.

Key words: gene, chronic myeloid leukemia, polymerase chain reaction, analysis, patients.

Актуальность

Хронический миелолейкоз (ХМЛ) является опухолевым заболеванием кроветворной системы, в результате которого в периферической крови наблюдается повышение уровня определенного вида лейкоцитов. Развитие заболевания связано с возникновением в стволовой клетке крови генетической аномалии, которая получила название филадельфийской хромосомы (Ph) [1,4]. На девятой хромосоме локализуется ген ABL, который кодирует образование белка, стимулирующего рост и деление клеток, при ХМЛ часть этого гена перемещается на хромосому 22, то есть происходит транслокация. Место разрыва 22 хромосомы, куда чаще всего встраивается перемещенная часть гена ABL, называется M-bcr (от английского major break point cluster region). В этом участке хромосомы в норме расположен ген BCR, кодирующий белок, функция которого в настоящее время достоверно не изучена, однако есть сведения, что он участвует в процессах деления и дифференцировки клеток [2,3,8].

Исследование этих генов проводится методом полимеразной цепной реакции [3,7]. При проведении исследования в рамках первичной диагностики могут быть сделаны полимеразная цепная реакция (ПЦР) на разные транскрипты гена, но в последующих измерениях целесообразно определять транскрипт, выявленный изначально, чтобы оценивать динамику его снижения.

Существует 3 изоформы белка BCR-ABL: p210, p190 и p230. Изоформа p210 ассоциирована преимущественно с ХМЛ, но может встречаться и у пациентов с острыми лимфобластными лейкозами (ОЛЛ) изоформа p190 характерна в первую очередь для ОЛЛ изоформа p230 встречается в отдельных случаях ХМЛ с нейтрофилией [4,5,6]. Актуальность данной работы является в том что, для правильной постановки диагноза и дальнейшего ведения онкопациентов важно проводить исследования на наличия конкретной изоформы белка в опухолевых клетках.

Цель: Изучение химерных онкогенов bcrabl p210 и bcrabl p190 у онкогематологических больных.

Материал и методы

В исследование подобраны 101 больных, наблюдавшиеся в онкогематологическом отделении РСНПМЦГ за период с 2022 ноябрь по март 2023 гг.



Рис. 1. Распределение больных по половой принадлежности и возрастной категории (n=)

Анализ количества больных в зависимости от возрастной категории (согласно классификации ВОЗ) показал следующее: количество больных до 18 лет составило 6% (6), в возрасте от 18 до 44 лет – 48.5% (49), в возрасте от 45 до 59 лет – 20.8% (21), в возрасте от 60 до 74 лет 24.7% (25) (смотрите Таблицу 1). Медиана возраста составила 45 лет (диапазон 5-74 лет).

Возрастные различия обследованных пациентов с выявленной патологией в различных возрастных группах

Возрастные группы	Средний возраст обследуемых				χ^2	P
	М, n=58		Ж, n=43			
	abc	%	abc	%		
Ювенильный (<18),	2	33.0	4	67.0	1.5	0.2
Молодой (18-44)	28	57.0	21	43.0	0.03	0.9
Средний (45-59)	15	71.4	6	28.6	2.1	0.1
Пожилкой (60-74)	13	52.0	12	48.0	0.4	0.5

В исследование включены препараты мРНК и ДНК клеток крови и костного мозга 101 больных первичным диагнозом. Уровень BCR-ABL p210 был определен по методу ПЦР в режиме «реального времени». ПЦР с определением в режиме реального времени осуществлялась в термоциклере Rotor-Gene Q. Для проведения ПЦР в реальном времени использовались наборы реагентов Онкоскрин-1-1-Q. Согласно по грантовому проекту «Қолдиқ ұсма хужайраларини молекуляр диагностикаси ва мониторингида BCRABL p210 ва BCRABL p190 химер онкогенларини экспрессия ўзгаришларини аниқлашнинг тест тизимларини яратиш» для решения целых проблем существующих на сегодняшний день по диагностики и лечению больных с онкопатологией, для детекции химерного онкогена BCR-ABL типа p210 поставлена цель разработать специфические секвенспраймеры и T системы. Определение интенсивности экспрессии химерного онкогена BCR-ABL типа P210 и контрольного (house keeping) гена ABL проводилось согласно протоколу производителя. Для построения калибровочной кривой применялись десятикратные разведения положительных контрольных образцов (плазмиды, содержащие клонированные фрагменты генов BCR-ABL и ABL), концентрации которых составляли 102, 103, 104, 105, 106 копий в 5 мкл раствора. Результат относительной экспрессии гена BCR-ABL выражали как отношение среднего числа копий гена BCR-ABL к среднему числу копий гена ABL, умноженное на 106. Результаты выражали в виде десятичного логарифма (lg) снижения экспрессии по отношению к базовому уровню. Снижение экспрессии на 1 lg по отношению к базовому уровню означало уменьшение уровня экспрессии BCRABL-транскрипта по сравнению с базовым уровнем в 10 раз, на 2 lgP в 100 раз, на 3 lgP в 1000 раз, на 4 lg P в 10 000 раз.

Также для оценки динамики изменений экспрессии гена BCR-ABL использовалась международная шкала (International Scale, IS), рекомендованная Экспертной группой European Leukemia Net (ELN). При этом экспрессия контрольного гена ABL принимается за 100%.

Статистическая обработка данных: статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения Excel и включала в себя определение медианы, максимальных и минимальных значений, коэффициента корреляции.

Результат и обсуждения

Исследования химерных онкогенов BCRABL P210 и BCRABL P190 в зависимости от нозологической формы заболеваний позволило выявить значимые различия изученных генов. В частности, в исследовании у всех первичных больных гемобластомом (ХМЛ (84), В-ОЛЛ (9), Т-ОЛЛ (4), ОМЛ (острый миелобластный лейкоз) (4)) определены таргетные онкогенные мутации, а также оценена экспрессия регуляторных генов. Так, у больных В-ОЛЛ по изучению выявления мутации онкогенов *BCR-ABLP190* показали 0%, практически такие же результаты были получены и у больных с диагнозом Т-ОЛЛ, ОМЛ, тогда как у больных с ХМЛ – разные варианты онкогена *BCR-ABL (BCR-ABLP210, BCR-ABLP190)* были носителями мутаций.

Так, больные ХМЛ, у которых обнаружили мутации онкогена *BCR-ABLP190* и больные с этим диагнозом с обоими вариантами онкогена *BCR-ABL* (*BCR-ABLP190* и *BCR-ABLP210*) были отнесены к подгруппе неблагоприятного прогноза (рис.2.).

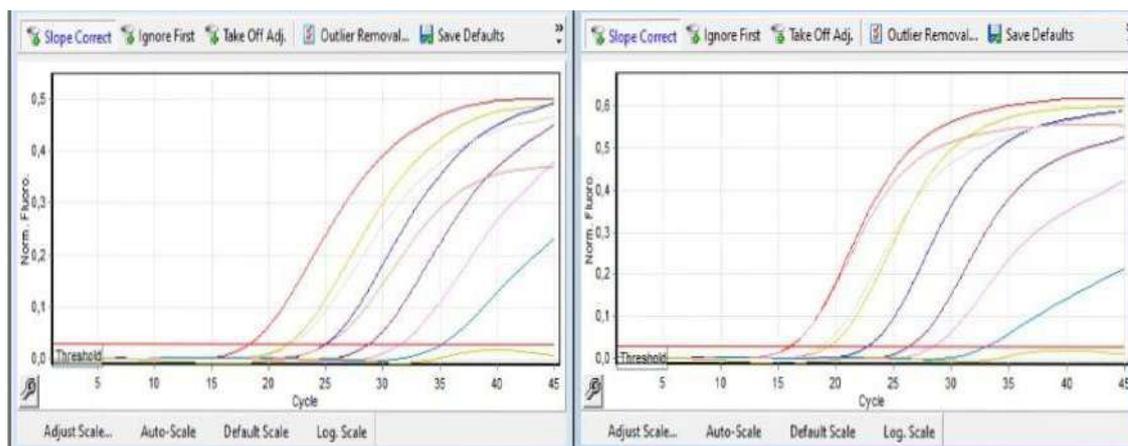


Рис. 2. Кинетика уровня транскрипта *BCR-ABLP210* у больных ХМЛ.

Остальные пациенты, включая больных В-ОЛЛ, Т-ОЛЛ и ОМЛ (которые не обнаружены мутации), и ХМЛ (носители онкогена *BCR-ABLP210*, при отсутствии мутаций в гене *ABL*) составили подгруппу относительно благоприятного прогноза.

Результаты терапии у больных ХМЛ оценивали, в зависимости ответа цитогенетического и молекулярного методов исследования, так как от степени подавления опухолевого клона выделяют их различные виды (табл.2).

Таблица 2.

Результаты обследования по цитогенетическим стадиям *BCR-ABL* p210 у больных ХМЛ

Стадия	Нормальные значение	Больные ХМЛ (n=)
Полный (ПЦО)	Ph хромосома в метафазах не определяется (Ph+ 0%)	36
Частичный (ЧЦО)	Ph хромосома в 1-35% метафаз (Ph+ 1-35%)	22
Малый (МЦО)	Ph хромосома в 36-65% метафаз (Ph+ 36-65%)	21
Минимальный (МинЦО)	Ph хромосома в 66-95% метафаз (Ph+ 66-95%)	7
Отсутствие (нет ЦО)	Ph хромосома в более 95% метафаз (Ph+ >95%)	2

Данные приведенные в таблице 2. и на рисунке 3. показали, что большую часть от общего числа больных ХМЛ при оценке экспрессия регуляторных генов *BCR-ABL* p210 полный цитогенетический ответ, которая выявлялась в 41% случаях, это свидетельствует о том, что поставленный первичный диагноз был достоверным и проведенные терапевтические мероприятия своевременным, соответственно. У 9 больных который дал минимальный ответ (n=7), и отсутствие ЦО (n=2) тоже является значимым результатом, так как когда ответ оказывается недостаточным, это дает возможность вовремя изменять схему лечения, и дальнейшем снизить летальных исходов с этим диагнозом.

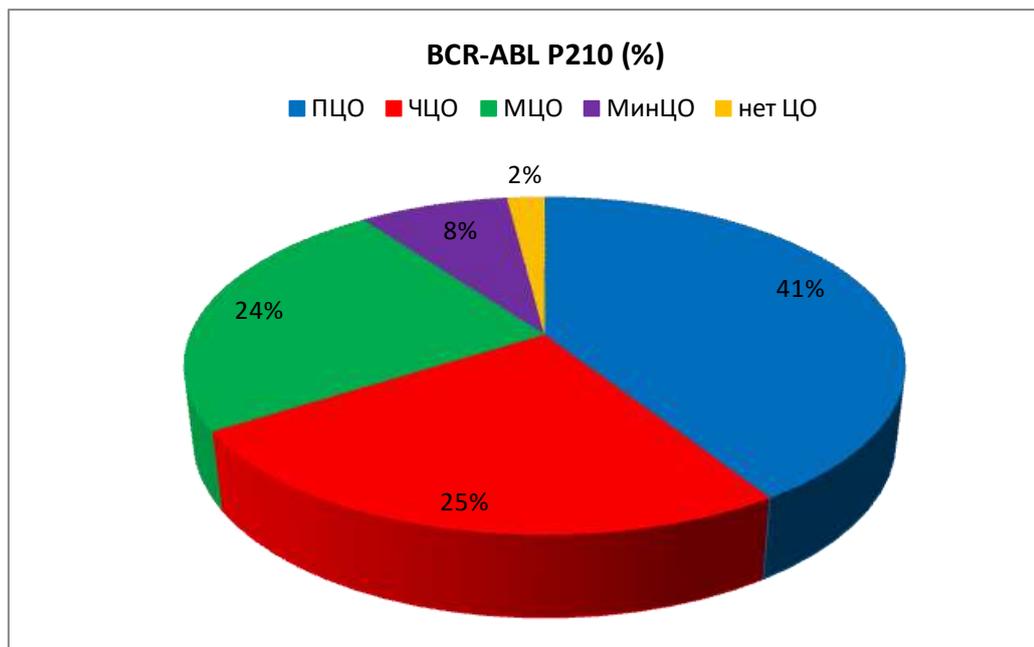


Рис. 3. Частота встречаемости мутации гена *ABLBCR 210* ХМЛ в общей группе больных (n=88)

Таким образом, полученные результаты по цитогенетическим исследованиям доказывают о том что, имеется положительный цитогенетический ответ, в основе которого лежат мутации регуляторных генов *BCR-ABL p210* и *BCR-ABLP190*, который в свою очередь определяет необходимость проведения исследования.

Заключение

Хронический миелолейкоз представляют собой значительную долю лейкозиев, диагностика этих заболеваний нередко затруднительна, в связи с этим, предварительное направленное клиническое обследование и оценка цитогенетических и молекулярных исследований являются обязательными.

Проведенное нами скрининговое обследование некоторых видов онкогематологических пациентов позволило установить наибольшую регистрацию заболевания в возрасте от 18 до 44 лет, что составило 48,5% от общего количества обследованных. Данные свидетельствуют, что пик заболеваемости приходится на молодую возрастную группу, чем на категории людей среднего и пожилого возраста.

Следующим важным этапом в диагностике лейкозиев являются лабораторные исследования, а именно цитогенетические и молекулярные исследования которые, дали следующие результаты: практически у всех больных В-ОЛЛ, Т-ОЛЛ и ОМЛ *BCR-ABLP190* показали 0%, только у больных с ХМЛ – разные варианты онкогена *BCR-ABL (BCR-ABLP210, BCR-ABLP190)* были носителями мутаций. Полученные результаты доказывают, что они основаны на принципах дифференциальной диагностики с исключением наличия заболеваний и дают возможность быстрого и точного изучения патологии.

Таким образом, выявленные нами результаты (ПЦО-36 ЧЦО-22 МЦО-21 МинЦО-7 нет ЦО-2) со стороны цитогенетических показателей у больных ХМЛ (n=88) наличие мутаций *BCRABL P210* химерных онкогенов, доказывают необходимость проведения цитогенетических исследований для диагностики и проведения мониторинга лечения заболеваний.

Следовательно, полученные результаты позволяют сделать **вывод**, о том что, изучения цитогенетических и молекулярно генетических исследований в онкопатологиях отражают на наличие и степени тяжести заболеваний, что диктует необходимость проведения данных исследований для диагностики. В свою очередь, выявленные мутации у больных ХМЛ являются ранним предвестником заболеваний, как такового необходимым для дальнейшего подбора тактики проведения терапий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Савченко В.Г., Туркина А.Г., Зарицкий А.Ю. с соавт. Клинические рекомендации по диагностике и лечению хронического миелолейкоза. Клиническая онкогематология, 2017 10(3):294-316. <http://bloodjournal.ru/wp-content/uploads/2017092.pdf>
2. Bryan T Ciccarelli¹, Tinghui Hu¹, Qing Wang², Julia J Kim², Ian P Whitehead³ et al. Examination of clinically-derived p210 BCRABL1 RhoGEF mutations in a murine bone marrow transplantation model of CMLDOI: [10.1016/j.leukres.2020106440](https://doi.org/10.1016/j.leukres.2020106440).
3. Cambier N., Renneville A., Cazaentre T. et al. JAK2V617F-positive polycythemia vera and Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia: one patient with two distinct myeloproliferative disorders. Leukemia. 2008 22(7):1454-5. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2405088>.
4. Hossein Ayatollahi¹, Mohammad Reza Keramati¹, Abbas Shirdeh², Mohammad Mehdi Kooshyar² et al. BCR-ABL fusion genes and laboratory findings in patients with chronic myeloid leukemia in northeast Iran 2018 Winter 9(1):65-70. doi: 10.22088/cjim.9.1.65.
5. Samara Silveira da Cruz^{1,2}, Aline Damasceno Seabra¹, Lais Helena Rescinho Macambira¹ Chronic Myelogenous Leukemia with Double Philadelphia Chromosome and Coexpression of p210 and p190 Fusion Transcripts 2022 Mar 25 13(4):580. doi: 10.3390/genes13040580.
6. Shady Adnan-Awad^{1,2,3}, Daehong Kim^{1,2}, Helena Hohtari^{1,2}, Komal Kumar Javarappa⁴ et al. Characterization of p190-Bcr-Abl chronic myeloid leukemia reveals specific signaling pathways and therapeutic targets DOI:[10.1038/s41375-020-01082-4](https://doi.org/10.1038/s41375-020-01082-4)
7. Siricilla M., Nader K., Ferber A. A et al. Case report of chronic myelogenous leukemia with JAK2- and BCR-ABL-positive mutation. Am J Hematol Oncol. 2017 13(2).
8. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H. et al. (Eds): WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (Revised 4th edition). IARC: Lyon, 2017.

Поступила 20.04.2023