

Применение метода конкурентной ОТ-ПЦР для определения уровня экспрессии BCR-ABL транскриптов у детей с Ph -позитивным ХМЛ

А.Г.Сергеев

Уральская государственная медицинская академия

г.Екатеринбург

Диагностика хронического миелоцитарного лейкоза (ХМЛ) у детей представляет определенные трудности, поскольку морфологический и цитохимический анализ не во всех случаях позволяет однозначно подтвердить или отвергнуть диагноз. В 95% случаев ХМЛ у детей ассоциирован с наличием в опухолевых клетках Филадельфийской (Ph) хромосомы, которая образуется в результате транслокации t(9;22). На молекулярном уровне данная транслокация приводит к образованию химерного BCR-ABL гена, продукты которого играют ведущую роль в патогенезе ХМЛ. BCR-ABL транскрипты могут быть обнаружены с помощью метода полимеразной цепной реакции с предварительной обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), что позволяет дифференцировать ХМЛ и другие миелопролиферативные заболевания.

С помощью "гнездного" варианта ОТ-ПЦР, описанного ранее (Schlieben S. et al., 1996), было обследовано 13 пациентов в возрасте от 1 года до 11 лет с направительным диагнозом ХМЛ. Химерные транскрипты выявлены у 8 больных, причем в 7 случаях диагноз был подтвержден цитогенетически (в одном случае кариотипирование провести не удалось). У 5 BCR-ABL-негативных пациентов в последующем диагноз ХМЛ был снят.

Нами было показано, что в некоторых случаях после купирования бластного криза ХМЛ у детей при наличии в клетках костного мозга Ph хромосомы BCR-ABL транскрипты в течение определенного времени не удается обнаружить с помощью ОТ-ПЦР. Этот факт свидетельствует о том, что опухолевые клетки, несущие Ph хромосому, могут существенно различаться по уровню экспрессии BCR-ABL гена. Для контроля уровня экспрессии BCR-ABL гена у больных в хронической фазе ХМЛ нами был разработан и апробирован метод количественного определения химерных транскриптов с помощью конкурентного ПЦР-анализа. При исследовании проб крови и костного мозга от 3-х пациентов с периодичностью 3-5 месяцев было показано, что относительно низкий

уровень экспрессии транскриптов сохранялся у двух больных в течение 1,5 и 2,5 лет (срок наблюдения). В третьем случае после 2-х летнего стабильно низкого уровня экспрессии BCR-ABL гена было отмечено 1000-кратное нарастание концентрации химерных транскриптов за 4 месяца до развития бластного криза, от которого больной погиб. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости использования количественного ПЦР-мониторинга для ранней диагностики бластного криза у детей с Rh-положительным ХМЛ.