

44 - 50.

10. Accelerated and Safe Expansion of Human Mesenchymal Stromal Cells in Animal Serum-Free Medium for Transplantation and Regenerative Medicine / Lange C., Cakiroglu F., Spiess A., Cappallo-obermann H. et al. // Journal of Cell Physiology. - 2007. - N 8904. - PP. 18–26.

11. Пулин, А.А. Поверхностные маркеры, характеризующие мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) костного мозга человека / А.А. Пулин, И.Н. Сабурина, В.С. Репин // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2008. – Т. III, № 3. – С. 25 – 30.

12. Specific plasma membrane protein phenotype of culture-amplified and native human bone marrow mesenchymal stem cells / Delorme B., Ringe J., Gally N. et al. // Blood. - 2008. - N 111. - PP. 2631 - 2635.

Виноградов А.В.

ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРА МУТАЦИЙ ГЕНОВ DNMT3A, FLT3, KIT, NPM1, NRAS И TP53 У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ МИЕЛОИДНЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА МЕТОДОМ ПРЯМОГО АВТОМАТИЧЕСКОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Министерство здравоохранения Свердловской обл.,
ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая
больница №1»,
ФГБОУ ВО «Уральский государственный
медицинский университет»,
г. Екатеринбург, e-mail: vinogradov-av@yandex.ru

Острые миелоидные лейкозы (ОМЛ) представляют собой гетерогенную группу злокачественных опухолей системы крови, характеризующихся клональной пролиферацией в костном мозге и некоторых других тканях и органах подвергшихся опухолевой трансформации кроветворных клеток-предшественниц, несущих поверхностные, цитоплазматические и ядерные миелоидные маркеры, что обуславливает развитие клинико-лабораторной симптоматики костномозговой недостаточности [1].

Согласно результатам современных исследований, к генам, наиболее часто мутирующим при ОМЛ взрослых, относятся FLT3 (39%), NPM1 (33%), DNMT3A (31%), NRAS (22%), TP53 (9%) и другие [2]. При этом наряду с так называемыми «драйвными» мутациями, играющими ключевую роль в патогенезе ОМЛ, могут также возникать и выявляться случайные («пассажирские»), возникающие как на фоне генетической неста-

бильности и не имеющие клинического значения для онкогенеза ОМЛ [3-6]. Патогенетически значимые для развития ОМЛ мутации распределяются на несколько классов: активационные повреждения клеточных сигнальных путей (FLT3, NRAS, KIT), нуклеофозмина (NPM1), аппарата метилирования ДНК (DNMT3A), программированной клеточной гибели (TP53) и другие [7, 8]. Однако до настоящего времени молекулярно-генетическая детекция указанных генных мутаций не нашла широкого применения в организациях практического здравоохранения при диагностике ОМЛ, кроме того, не в полной мере учитываются в классификации ВОЗ для миелоидных опухолей пересмотра 2016 года [1, 7].

Установлено, что молекулярно-генетические паттерны ОМЛ существенно отличаются в различных возрастных группах пациентов. Так, для ОМЛ первого года жизни характерны генетические нарушения с вовлечением гена MLL, тогда как для ОМЛ детей более старшего возраста они достаточно редки. У пациентов в возрасте 18–45 лет и подростков чаще встречаются специфические генетические аномалии (например, транслокации t(8;21)(q22;q22), t(15;17)(q22;q11), инверсия inv(16)(p13;q22)), а также мутации генов NPM1 и СЕВРА, ассоциированные с благоприятным прогнозом и включенные в классификацию ВОЗ для миелоидных новообразований в качестве диагностического критерия ОМЛ [8, 9].

Цель исследования

Определить частоту мутаций генов DNMT3A, FLT3, KIT, NPM1, NRAS и TP53 у больных острыми миелоидными лейкозами пожилого возраста.

Материалы и методы исследований

Исследовали пробы костного мозга и периферической крови 41 больного ОМЛ в возрасте от 60 до 75 лет, проходивших лечение в Свердловском областном онкогематологическом центре в период с 2009 по 2017 гг.

Диагностику ОМЛ осуществляли, в соответствии с рекомен-

дациями ВОЗ [4, 8], на основании клинической картины, цитологического анализа крови и костного мозга, цитохимического и иммунофенотипического исследования бластных клеток. По медицинским показаниям выполняли трепанобиопсию подвздошной кости с последующим гистологическим и иммуногистохимическим исследованием [10]. Морфологический вариант ОМЛ определяли согласно франко-американо-британской (FAB) классификации [9, 11]. В соответствии с этим, в исследуемой группе с морфологическим вариантом M0 наблюдался один пациент, M1 — 5, M2 — 18 (в т.ч. M2эо и M2базо — по одному), M3 — 2, M4 — 10, M5 — 1, M6 — 2, острый миелофиброз — 1, бластная плазмацитоидная дендритоклеточная опухоль (БПДКО) — 1.

В исследуемой группе всем пациентам выполнено цитогенетическое и/или молекулярно-генетическое исследование (полимеразная цепная реакция — ПЦР в реальном времени на t(8;21), inv(16), t(9;22), аномалии 11q23), на основании результатов которых они распределялись, в зависимости от характера выявленных хромосомных aberrаций, в пять подгрупп [4,5,9]: транслокация t(8;21)(q22;q22), транслокация t(15;17)(q22;q11), прочие анеуплоидии, прочие структурные аномалии хромосом, комплексные хромосомные аномалии (две и более). Случаев детекции инверсии inv(16)(p13;q22) и транслокации t(9;22)(q34;q11) зафиксировано не было.

Детекцию криптических генных мутаций осуществляли с использованием технологии прямого автоматического секвенирования. Всего на наличие мутаций в кодирующих последовательностях экзонов 12-15 и 19-21 гена FLT3 в изучаемой выборке протестированы 38 биообразцов, экзонов 4-11 гена TP53 — 36, экзонов 9-12 гена NPM1 — 30, экзонов 7-12 и 16-19 гена KIT — 29, экзонов 1-4 гена NRAS — 21, экзонов 18-26 гена DNMT3A — 10. Праймеры, использованные для детекции мутаций в указанных генах, описаны нами ранее [12, 13].

Выделение тотальной РНК из лейкозных blasts проводили с помощью комплекта реагентов RiboPure™ RNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific Inc., США) методом гуанидин

тиоцианат-фенол-хлороформной экстракции с последующей очисткой при помощи микроколонок со связывающей мембраной. Реакцию обратной транскрипции с целью получения кДНК проводили с использованием ревертазы M-MLV и гексануклеотидных праймеров со случайной последовательностью нуклеотидов. Участки кДНК, соответствующие исследуемым экзонам указанных генов, амплифицировали методом ПЦР [7]. Анализ продуктов амплификации проводили методом электрофореза с последующей детекцией в ультрафиолетовом трансиллюминаторе [12, 13].

Секвенирование амплифицированных фрагментов проводили на автоматических генетических анализаторах ABI Prism 310 (Applied Biosystems, США) и 3130 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific Inc., США) по прямой и обратной последовательностям согласно рекомендациям производителя. Сопоставление сегментов, выравнивание и сравнение последовательностей нуклеотидов и аминокислот проводили с использованием компьютерной программы MEGA, версия 5.0 [14].

Программное лечение больных ОМЛ проводили по клиническим протоколам (протокол для лечения больных ОМЛ старше 60 лет) и в соответствии с национальными клиническими рекомендациями, разработанным Российской группой по изучению острых лейкозов [15, 16], в которых использовалась интенсивная индукция-консолидация цитарабином в сочетании с антрациклинами с последующей поддерживающей полихимиотерапией.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программ для ЭВМ «Генанализ», «Генсвязь» и «Биомод» [17-19]. Проверку статистических гипотез проводили с использованием точного критерия Фишера (F). Доверительные интервалы для средних частот мутаций генов определяли на основе биномиального распределения. Оценку взаимозависимости молекулярных повреждений различных генов, выявляемых в одной пробе, проводили посредством сравнения ожидаемой вероятности, рассчитанной по формуле для независимых событий, с наблюдаемой в исследуемой выборке

частотой. Если при сопоставлении расчетной и наблюдаемой частот выявлялось совпадение, то мутации считались независимыми. Если наблюдаемая частота отличалась от расчетной при уровне значимости $p=0,05$, то события признавали взаимозависимыми [20].

Результаты исследования

Установлено, что в исследуемой группе больных ОМЛ в возрасте 60-75 лет хромосомные aberrации, ассоциированные с благоприятным прогнозом вероятностной выживаемости, определялись цитогенетическим методом (G-banding) в двух наблюдениях (4,9%), промежуточным и неблагоприятным — в 9 (22,0%) и 13 случаях (31,7%), соответственно. Кроме того, в 17 пробах уточнить вариант генетической поломки с применением цитогенетического метода и ПЦР не удалось. Они, соответственно, были классифицированы как ОМЛ с неуточненным кариотипом [21].

Генетические изменения в экзонах 12-15 и 19-21 гена FLT3 относительно референсной последовательности NM_004119 были выявлены в 7 пробах (18,4%), при морфологических вариантах M1, M4 и M5 (таблица). Среди них в одном случае выявлялась несинонимичная трансверсия с. 2479 A>T (2,6%), в шести (15,8%) — внутренние tandemные дубликации (ITD) и инсерции в кодирующей последовательности юкстамембранного и киназного доменов. Точка дубликации и длина дублицирующегося фрагмента при FLT3 ITD варьировала в каждом из исследуемых образцов (таблица). Соответственно, степень вовлечения юкстамембранного и тирозинкиназного доменов белка Flt3 в структурные перестройки также отличалась, что, по данным литературы, влияет на химиочувствительность опухолевых клеток к таргетному лечению ингибиторами тирозинкиназ (ТКИ) I и II типа [22-25]. Кроме того, в пяти случаях (при ОМЛ M2, M2базо, M3, M4 и БПДКО) определялись синонимичные однонуклеотидные замены с. 1683 A>G (13,2%), не имеющие доказанного клинического значения в развитии гемобластозов.

Таблица

Характеристика мутаций гена FLT3, выявленных у больных ОМЛ в возрасте от 60 до 75 лет

Вариант по FAB	Результаты секвенирования*	Локализация мутации в кодирующей последовательности	Чувствительность к ингибиторам тирозинкиназы
M1	ITD 54 п.о./1786 18 а.о./596	Юкстамембранный домен, мотив JM-Z	ТКИ I типа
M4	с. 2479 A>T I827F	Тирозинкиназный домен II	ТКИ II типа
M4	ITD 21 п.о./1784 7 а.о./595	Юкстамембранный домен, мотив JM-Z	ТКИ I типа
M5	ITD 27 п.о./1780 9 а.о./594	Юкстамембранный домен, шарнирная область	ТКИ I типа
M1	ITD 18 п.о./1794 6 а.о./598	Юкстамембранный домен, мотив JM-Z	ТКИ I типа
M4	ITD 111 п.о./1843 37 а.о./615	Тирозинкиназный домен I, β 1-лист	ТКИ I типа**
M4	ITD 27 п.о./1754 9 а.о./585	Юкстамембранный домен, мотив JM-S	ТКИ I типа

* п.о. — число пар оснований вставки, цифра через дробь указывает ее положение в кодирующей последовательности транскрипта гена, а.о. — аминокислотные остатки, цифра через дробь указывает положение вставки в полипептидной цепи.

** согласно [25].

Кооперация FLT3 ITD с криптоическими мутациями в других исследованных генах зафиксирована в трех наблюдениях (42,9%). В первом случае, ОМЛ M1, наряду с FLT3 ITD определялась инсерция типа A в экзоне 12 гена NPM1, а также трансверсия с. 1621 A>C в гене KIT. В другом наблюдении, при ОМЛ M4, FLT3 ITD выявлялась в пробах периферической крови и ликвора в сочетании с транзицией с. 2645 G>A в гене DNMT3A. В третьем, при ОМЛ M5, наряду FLT3 ITD определялась делеция в гене KIT.

При проведении стандартной программной полихимиотерапии наличие мутаций в гене FLT3 ассоциировалось с неблагоприятным прогнозом ОМЛ. Медиана общей вероятностной выживаемости больных с мутациями в экзонах 12-15 и 19-21 гена FLT3 не превышала 12 месяцев. В трех случаях была зафиксирована ранняя летальность, еще в двух — рецидивы заболевания.

Тетрануклеотидная инсерция типа A в экзоне 12 гена NPM1 определялись в одном исследованном образце при ОМЛ M1 (3,3%). Наряду с указанной инсерцией в исследованной пробе также выявлялись два функционально значимых повреждения в других генах, в том числе FLT3 ITD и трансверсия с. 1621 A>C в гене KIT. Проведенные нами ранее статистические расчеты показали, что мутации генов NPM1 и FLT3 являлись неслучайными генетическими событиями, кооперирующимися в онкогенезе ОМЛ, а их наличие могло обуславливать ухудшение прогноза общей вероятностной выживаемости NPM1-позитивных пациентов [10,26]. В данном наблюдении зафиксирована смерть в дебюте заболевания до начала программной полихимиотерапии.

Структурные изменения в кодирующей последовательности экзонов 7-12 и 16-19 гена KIT относительно референсной последовательности NM_000222 определялись в 10 пробах (34,5%). Среди них в 7 случаях определялись изолированные синонимичные однонуклеотидные замены (24,1%, с. 2586 G>C, с. 1638 A>G, с. 2394 C>T), в двух случаях (6,9%) — несинонимичная однонуклеотидная замена с. 1621 A>C в сочетании с синонимичной трансверсией с. 2586 G>C, в одном (3,4%) — делеция (n. Del 1529-1774) и синонимичная трансверсия с. 2586 G>C. В последней пробе, ОМЛ M5, наряду с мутациями в гене KIT, определялась FLT3 ITD. В двух исследуемых образцах с синонимичной трансверсией с. 1621 A>C в сочетании с синонимичной с. 2586 G>C определялись также клинически значимые изменения исследованных экзонов других прото- и антионкогенов. Так, при ОМЛ M1, определялись вышеописанные инсерция типа A в гене NPM1 и FLT3 ITD, а при ОМЛ M2 — тандемная дупликация в гене TP53. По литературным данным, транс-

версия с. 1621 A>C является полиморфным аллельным вариантом гена KIT, не имеющим самостоятельного прогностического значения при ОМЛ [27], что коррелирует с полученными нами данными о случайном характере ее сочетания с другими функционально значимыми генетическими аномалиями при ОМЛ [10,28].

Делеция протяженностью с 1529 по 1774 позиции нуклеотидов в кодирующей последовательности экзонов 10 и 11 гена KIT (n. Del 1529-1774), приводящая к утрате 82 аминокислотных остатков в кодируемом белке Kit, была описана нами ранее при ОМЛ M2 с t(8;21)(q22;q22) и ОМЛ M4 с инсерцией типа A в экзоне 12 гена NPM1 [21]. По данным литературы, мутации в экзоне 11 гена KIT являются патогенетически значимыми, так как затрагивают участок рецептора, обеспечивающий ингибирование его аутофосфорилирования. Следовательно, в подобных наблюдениях должен прорабатываться вопрос о назначении таргетного лечения ТКИ в рамках клинических исследований [29].

Частота детекции точечных мутаций в кодирующей последовательности экзонов 18-26 гена DNMT3A в исследуемой выборке составила 10,0%. Выявленная мутация была представлена описанной ранее [30] несинонимичной транзицией с. 2645 G>A, обуславливавшей замену аминокислотного остатка аргинина на гистидин в позиции 882 кодируемого белка, и определялась при ОМЛ M4 с неуточненным кариотипом и FLT3 ITD.

Точечные мутации в гене NRAS определялись в двух наблюдениях (9,5%) при ОМЛ M2 и были представлены, соответственно, несинонимичными функционально значимыми однонуклеотидными заменами с. 35 G>A, с. 181 C>A. Случаев кооперации указанных мутаций с функционально значимыми генетическими аномалиями в других исследованных генах не зафиксировано. В первом случае, при ОМЛ M2 с кариотипом 46, XX, i(7)(p10)[5], гиперлейкоцитозом в дебюте заболевания, зафиксирована резистентность лейкозных клеток к программному химиотерапевтическому лечению, смерть пациентки наступила в срок 12 месяцев от выявления заболевания на фоне сдерживающей химиотерапии. Во втором наблюдении, ОМЛ M2 с

неуточненным кариотипом, гиперлейкоцитозом в дебюте заболевания, также определялась первичная резистентность лейкозных бластов к назначенному химиотерапевтическому лечению, смерть пациента зафиксирована через 1 месяц от начала программного лечения на фоне постцитостатической нейтропении.

Патогенетически значимые для ОМЛ мутации в экзонах 4-11 гена TP53 определялись в 7 пробах (19,4%) при ОМЛ M2, M2эо, M4, M6. То есть они являлись наиболее частыми клинически значимыми криптическими генными мутациями, выявленными в исследуемой группе больных ОМЛ. В пяти случаях указанные аномалии были ассоциированы с комплексными хромосомными aberrациями (при ОМЛ M2, M2эо, M4, M6), по одному наблюдению (при ОМЛ M2) — с нормальным и неуточненным кариотипом лейкозных клеток. В пяти пробах (13,9%) определялись несинонимичные нуклеотидные замены (при ОМЛ M2, M2эо, M4, M6), по одному случаю (2,8%) — однонуклеотидная делеция и тандемная дупликация гена TP53 (при ОМЛ M2). В одном случае при ОМЛ M2эо с кариотипом 45, XY, del(2)(q), iso(9)(q), r(12), del(17)(q), add(19)(p), — 15 одновременно определялись две несинонимичные транзиции кодирующей последовательности гена TP53 – с.292C>T и с.817C>T. Первая из них обуславливала аминокислотную замену p.98P>S в пролиновом домене, вторая — p.273R>C в структуре ДНК-связывающего домена белка p53. В остальных случаях были выявлены изолированные мутации, также приводившие к изменениям структуры ДНК-связывающего домена и инактивации белка p53. Они были представлены двумя транзициями (с.377A>G, с.817C>T), двумя трансверсиями (с.733G>T, с.841G>T), фреймшифт-мутацией (с.645delG) и тандемной дупликацией 19 нуклеотидов, начиная с позиции 960 от начала кодирующей последовательности гена TP53. Последняя приводила к вставке 6 аминокислот в кодируемом белке и сдвигу рамки считывания (рисунок).

В целом, наиболее частой клинически значимой мутацией гена TP53 у больных ОМЛ пожилого возраста оказалась транзиция с.817C>T (5,6%), встречающаяся как в виде изолирован-

ного повреждения, так и в сочетании с заменой с.292С>Т.

Синонимичная транзиция с. 639 А>G в гене TP53 определялась у двух пациентов (5,6%) при ОМЛ М4 с диплоидией и ОМЛ М2 с неуточненным кариотипом. Несинонимичная нуклеотидная замена с. 215 С>G, являющаяся полиморфным аллельным вариантом гена TP53 [6,20] и приводящая к аминокислотной замене р.72 Р>R, определялась в 30 пробах (83,3%), в том числе изолированная – в 24 (66,7%). В остальных случаях определялась последовательность гена TP53 «дикого типа», соответствующая референсной NM_000546 (8,3%).

Влияние выявленных криптических мутаций гена TP53 на прогноз ОМЛ оказалось крайне неблагоприятным. Все пациенты с мутантным р53 были резистентны к программной полихимиотерапии, и случаев достижения клинико-гематологических ремиссий не отмечалось. Медиана общей выживаемости больных не превышала 3 месяцев.

Заключение

Таким образом, функционально значимые мутации генов DNMT3A, FLT3, KIT, NRAS, NPM1 и TP53 определялись методом прямого автоматического секвенирования в 39,0% случаев ОМЛ в возрасте от 60 до 75 лет. При этом, в подгруппе больных с нормальным кариотипом указанная частота составляла 22,2%, с aberrантным кариотипом — 53,3%, с неуточненным — 35,3%. В целом, применение метода прямого автоматического секвенирования позволило уточнить прогноз у 30,8% больных ОМЛ из групп промежуточного и неуточненного цитогенетического прогноза за счет выявления криптических генных мутаций. Во всех указанных наблюдениях прогноз стандартного химиотерапевтического лечения ухудшался.

Последовательность нуклеотидов

```
#NM_000546(1) AGT GGT AAT CTA CTG GGA CGG AAC AGC TTT GAG GTG CGT [ 819]
#P53-271      AGT GGT AAT CTA CTG GGA CGG AAC AGC TTT GAG GTG CGT [ 819]

#NM_000546(1) GTT TGT GCC TGT CCT GGG AGA GAC CGG CGC ACA GAG GAA [ 858]
#P53-271      GTT TGT GCC TGT CCT GGG AGA GAC CGG CGC ACA GAG GAA [ 858]

#NM_000546(1) GAG AAT CTC CGC AAG AAA GGG GAG CCT CAC CAC GAG CTG [ 897]
#P53-271      GAG AAT CTC CGC AAG AAA GGG GAG CCT CAC CAC GAG CTG [ 897]

#NM_000546(1) CCC CCA GGG AGC ACT AAG CGA GCA CTG CCC AAC AAC ACC [ 936]
#P53-271      CCC CCA GGG AGC ACT AAG CGA GCA CTG CCC AAC AAC ACC [ 936]

#NM_000546(1) AGC TCC TCT CCC CAG CCA AAG AAG AAA CCA CTG GAT GGA [ 975]
#P53-271      AGC TCC TCT CCC CAG CCA AAG AAG AAA CCA CTG GAT GGA [ 975]

#NM_000546(1) GAA --- --- --- --- --- --- -TA TTT CAC CCT TCA GAT [1014]
#P53-271      GAA GAA ACC ACT GGA TGG AGA ATA TTT CAC CCT TCA GAT [1014]

#NM_000546(1) CCG TGG GCG TGA GCG CTT CGA GAT GTT CCG AGA GCT GAA [1053]
#P53-271      CCG TGG GCG TGA GCG CTT CGA GAT GTT CCG AGA GCT GAA [1053]

#NM_000546(1) TGA GGC CTT GGA ACT CAA GGA TGC CCA GGC TGG GAA GGA [1092]
#P53-271      TGA GGC CTT GGA ACT CAA GGA TGC CCA GGC TGG GAA GGA [1092]

#NM_000546(1) GCC AGG GGG GAG CAG GGC TCA CTC CAG CCA CCT GAA GTC [1131]
#P53-271      GCC AGG GGG GAG CAG GGC TCA CTC CAG CCA CCT GAA GTC [1131]
```

Последовательность аминокислот

```
#NM_000546 LRVEYLDDRN IFRHSVVVPY EPFEVGS DCT ITHYNYM CNS [240]
#P53-271   LRVEYLDDRN IFRHSVVVPY EPFEVGS DCT ITHYNYM CNS [240]

#NM_000546 SCMGGMNRRP ILTIITLED SGNLLGRNSF EVRVCA C PGR [280]
#P53-271   SCMGGMNRRP ILTIITLED SGNLLGRNSF EVRVCA C PGR [280]

#NM_000546 DRRTEENLR KRGEFHHELP PGSTKRALFN NITSSSOPPK [320]
#P53-271   DRRTEENLR KRGEFHHELP PGSTKRALFN NITSSSOPPK [320]

#NM_000546 KPLDGEYFTL QIRGRERFEM FRELNEALEL KDAQAGKEPG [360]
#P53-271   KPLDGEYFTG WRIFHPSDFW A*ALRDV PRA E*GLGTGCGP [360]
```

Рисунок. Структурные изменения кодирующей последовательности гена TP53 и кодируемого белка р53 при ОМЛ М2 с неуточненным кариотипом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Taylor J., Xiao W., Abdel-Wahab O. Diagnosis and classification of hematologic malignancies on the basis of genetics. Blood. 2017. Vol. 130 (4). pp. 410-423.
2. Metzeler K.H., Herold T., Rothenberg-Thurle M. et al. Spectrum and prognostic relevance of driver gene mutations in acute myeloid leukemia. Blood. 2016. Vol. 128 (5). pp. 686-698.
3. Zink F., Stacey S.N., Norddahl G.L. et al., Clonal hematopoiesis, with and without candidate driver mutations, is common in the elderly. Blood. 2017. Vol. 130 (6). pp. 742-752.
4. Vardiman J.V., Thiele J., Arber D.A. et al. The 2008 revision of the WHO classification of myeloid neoplasms and acute leukemia:

rationale and important changes. *Blood*. 2009. Vol. 114 (5). pp. 937-952.

5. 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.

6. Prokocimer M., Molchadsky A., Rotter V. Dysfunctional diversity of p53 proteins in adult acute myeloid leukemia: projections on diagnostic workup and therapy. *Blood*. 2017. Vol. 130 (10). pp. 699-712.

7. 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.

8. Swerdlow S. H., Campo E., Harris N. L. et al. WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC, 2008. 439 p.

9. Виноградов А.В. Клинико-диагностическое значение генетических аномалий при программном лечении острого миелоидного лейкоза. Дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук. – Екатеринбург, 2009. – 114 с.

10. Виноградов А.В., Резайкин А.В., Салахов Д.Р. и соавт. Сравнительный анализ результатов типирования молекулярных повреждений гена NPM1 при острых миелоидных лейкозах с использованием прямого автоматического секвенирования и иммуногистохимического метода // Вестник Уральской медицинской академической науки. - 2013. – №4. – С. 124-127.

11. 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.

12. Виноградов А.В. Разработка технологии детекции мутаций генов CDKN2A/ARF, FLT3, KIT, NPM1, NRAS, TET2, TP53, WT1 при острых миелоидных лейкозах // Российский онкологический журнал. – 2013. – №4. – С. 34-35.

13. 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.

14. Tamura K., Peterson D., Peterson N. et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 2011. Vol. 28 (10). pp. 2731-2739.

15. Программное лечение заболеваний системы крови // Сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови / Под ред. В. Г. Савченко. – М.: Практика, 2012. — 1056 с.

16. Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Афанасьев Б.В. и соавт. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению острых миелоидных лейкозов взрослых // Гематология и трансфузиология. – 2014. – Т.59. – S.2. – С. 2-29.

20. Виноградов А.В., Резайкин А.В., Сергеев А.Г. Прогностическое значение мутаций гена TP53 при программном лечении острых лейкозов // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. – 2013. – Т. 24. – №2. – С. 33-40.

17. Виноградов А.В. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ «Генанализ» № 2014610088, 09.01.2014, выдано Федеральной службой по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам.

18. Виноградов А.В. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ «Генсвязь» № 2016661500, 12.08.2016, выдано Федеральной службой по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам.

19. Виноградов А.В. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ «Биомод» № 2017661500, 12.08.2017, выдано Федеральной службой по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам.

21. 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 неуточненным кариотипом // Вестник Уральской медицинской академической науки. - 2016. – №4. – С. 89-101.

22. Chan P.M. Differential signaling of Flt3 activating mutations in acute myeloid leukemia: a working model. *Protein Cell*. 2011. Vol. 2. pp. 108-115.

23. Smith C.C., Wang Q., Chin C.S. et al. Validation of ITD mutations in FLT3 as a therapeutic target in human acute myeloid leukaemia. *Nature*. 2012. Vol. 485 (7397). pp. 260-263.

24. Verstraete K., Vandriessche G., Januar M. et al. Structural insights into the extracellular assembly of the hematopoietic Flt3 signaling complex. *Blood*. 2011. Vol. 118 (1). pp. 60-68.

25. Breitenbuecher F., Schnittger S., Grundler R. et al. Identification of a novel type of ITD mutations located in nonjuxtamembrane domains of the FLT3 tyrosine kinase receptor. *Blood*. 2009. Vol. 113 (17). pp. 4074-4077.

26. Виноградов А.В., Резайкин А.В., Сергеев А.Г. Детекция внутренних тандемных дупликаций и точковых мутаций гена FLT3 при острых миелоидных лейкозах методом прямого автоматического секвенирования // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2013. – №1. – С. 64-66.

27. Szatkowski D., Hellmann A. The overexpression of KIT proto-oncogene in acute leukemic cells is not necessarily caused by the gene mutation. *Acta Haematol*. 2015. Vol. 133 (1). pp. 116-123.

28. 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.

29. Heldin C.H., Lennartsson J. Structural and functional properties of platelet-derived growth factor and stem cell factor receptors. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol*. 2013. Vol. 5(8). p. a009100.

30. Jankowska A.M., Makishima H., Tiu R.V. et al. Mutational spectrum analysis of chronic myelomonocytic leukemia includes genes associated with epigenetic regulation: UTX, EZH2, and DNMT3A. *Blood*. 2011. Vol. 118 (14). pp. 3932-3941.

*Ефименко А.Ю.^{1,2}, Кочегура Т.Н.²,
Джояшвили Н.А.¹, Акоюн Ж.А.^{1,2},
Шаронов Г.В.¹, Калинина Н.И.¹,
Акчурун Р.С.³, Парфенова Е.В.^{1,3}*

АУТОЛОГИЧНАЯ КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ: ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ РИСКА НА СТВОЛОВЫЕ И ПРОГЕНИТОРНЫЕ КЛЕТКИ

¹ Факультет фундаментальной медицины, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,

² Медицинский научно-образовательный центр, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,

³ Российский кардиологический научно-производственный комплекс Министерства здравоохранения РФ,
г. Москва, e-mail: efimenkoan@gmail.com

Введение

Сердечнососудистые заболевания (ССЗ), в частности, ишемическая болезнь сердца (ИБС), являются одной из основных причин преждевременной смертности населения всех экономически развитых стран, а распространенность метаболических патологий, в первую очередь, сахарного диабета 2 типа (СД2) к настоящему времени приобрела характер эпидемии. Стабильно высокий уровень ССЗ обусловлен как постепенным старением населения, так и нездоровым образом жизни, которые приводят к возникновению таких факторов риска как избыточный вес, гипергликемия, гиперлипидемия, повышение артериально-