

Секция «Фундаментальная медицина»

Молекулярная диагностика мутации T315I у пациентов с хроническим миелоидным лейкозом

Скоробогатова Алина Валерьевна

Студент

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

E-mail: alinka.sk@mail.ru

В киназном домене BCR-ABL к настоящему времени описаны более 70 видов точечных мутаций, выявленных у больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ), резистентных к терапии иматинибом [1]. Мутация киназного домена гена BCR-ABL T315I у больных ХМЛ обуславливает полную резистентность лейкозных клеток к терапии всеми зарегистрированными ингибиторами тиронкиназ (ИТК) [2]. Применяемые в настоящее время методы для диагностики мутации T315I (прямое секвенирование, денатурирующая жидкостная хроматография и др.) являются трудоемкими и относительно низкочувствительными [3]. Учитывая крайне важное значение этой мутации для выбора терапии при ХМЛ, необходима разработка и внедрения в практику более простых, но при этом высокоспецифичных методов диагностики.

Задача исследования – апробировать разработанную методику аллель-специфичной TaqMan ПЦР РВ для количественной оценки мутации T315I у больных ХМЛ.

Материалом для исследования явилось 30 образцов мРНК, выделенной из клеток крови больных ХМЛ. Уровень экспрессии транскрипта гена BCR-ABL p210 в исследуемых образцах составил 0,3-18%.

Для определения чувствительности метода нами были приготовлены разведения лейкоцитов пациента со 100% мутацией T315I с клетками линии K562.

Выделение мРНК, получение кДНК и аллель-специфичная ПЦР РВ проводились с использованием наборов реагентов «РИБО-золь-D», «Реверта-L» компании «Интер-ЛабСервис» (Россия) и «Синтол» (Россия) в соответствии с рекомендациями производителя.

У 8 из 30 исследуемых пациентов отмечалась резистентность к таргетной терапии. У двух из 8 резистентных пациентов выявлен клон с мутацией T315I в количестве 6,75 и 95% (T315I/BCR-ABL*100%). Чувствительность метода составила до 0,1%.

Таким образом, метод для количественной оценки мутации T315I у пациентов с ХМЛ позволяет обнаружить мутации при низких (до 0,1%) её концентрациях, что может являться основой для своевременной диагностики наличия мутантного клона и выбора терапии у больных ХМЛ.

Литература

1. Apperley JF. Part I: mechanisms of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. *Lancet Oncol.* 2007 Nov;8(11):1018-29.
2. Jakob R.E., Dumitrescu TP, et al Conformational disturbance in Abl kinase upon mutation and deregulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2009; 106(5): 1386-91.

3. Quintás-Cardama A, Kantarjian HM, Cortes JE. Mechanisms of primary and secondary resistance to imatinib in chronic myeloid leukemia. *Cancer Control*. 2009 Apr;16(2):122-31.