

Ситько Валентина Витальевна, Бебешко Владимир Григорьевич, Минченко Жанна Николаевна,
Мишарина Жанна Анатольевна

**МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРЕСТРОЕК ГЕНОВ IGH У
БОЛЬНЫХ В-КЛЕТОЧНЫМИ НЕХОДЖКИНСКИМИ ЛИМФОМАМИ**

В статье представлены результаты молекулярно-цитогенетических исследований у 42-х больных В-клеточными неходжкинскими лимфомами (В-НХЛ). С помощью метода I-FISH были выявлены перестройки генов IGH, которые имели важное диагностическое и прогностическое значение для пациентов. Сделан вывод о том, что определение транслокаций с участием генов IGH позволит онкогематологам верифицировать диагноз и оптимизировать тактику лечения больных В-НХЛ для преодоления резистентности в условиях применения современных программ ПХТ.

Адрес статьи: www.gramota.net/materials/1/2015/7/31.html

Статья опубликована в авторской редакции и отражает точку зрения автора(ов) по рассматриваемому вопросу.

Источник

Альманах современной науки и образования

Тамбов: Грамота, 2015. № 7 (97). С. 114-116. ISSN 1993-5552.

Адрес журнала: www.gramota.net/editions/1.html

Содержание данного номера журнала: www.gramota.net/materials/1/2015/7/

© Издательство "Грамота"

Информация о возможности публикации статей в журнале размещена на Интернет сайте издательства: www.gramota.net
Вопросы, связанные с публикациями научных материалов, редакция просит направлять на адрес: almanac@gramota.net

УДК 616-006.441

Биологические науки

В статье представлены результаты молекулярно-цитогенетических исследований у 42-х больных В-клеточными неходжкинскими лимфомами (В-НХЛ). С помощью метода I-FISH были выявлены перестройки генов IGH, которые имели важное диагностическое и прогностическое значение для пациентов. Сделан вывод о том, что определение транслокаций с участием генов IGH позволит онкогематологам верифицировать диагноз и оптимизировать тактику лечения больных В-НХЛ для преодоления резистентности в условиях применения современных программ ПХТ.

Ключевые слова и фразы: В-клеточные неходжкинские лимфомы; IGH транслокации; ген FGFR3; ген MYC; ген CCND1; ген MAF; ген MALTI.

Ситько Валентина Витальевна

Бешешко Владимир Григорьевич, д. мед. н., профессор

Минченко Жанна Николаевна, д. биол. н., профессор

Национальный научный центр радиационной медицины НАМН Украины, г. Киев

vg.besheshko@gmail.com

Мишарина Жанна Анатольевна, к. мед. н.

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев Украина

Valentina-Sitko@yandex.ru

МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРЕСТРОЕК ГЕНОВ IGH У БОЛЬНЫХ В-КЛЕТОЧНЫМИ НЕХОДЖКИНСКИМИ ЛИМФОМАМИ[©]

В-клеточные неходжкинские лимфомы (В-НХЛ) – сложная гетерогенная группа злокачественных новообразований лимфоидного происхождения, имеющих неоднородные клинические, биологические, цитогенетические и молекулярные особенности. Характерным генетическим признаком многих В-клеточных злокачественных новообразований является дисрегуляция онкогенов как следствие транслокации с вовлечением генов тяжелых цепей иммуноглобулинов IGH (локус 14q32.3) [2, с. 279]. На сегодняшний день известно более 20-ти различных хромосомных партнеров, которые транслоцируются в пределах локуса 14q32. Для В-НХЛ наиболее характерны: t(4;14)(p16;q32), t(8;14)(q24;q32), t(11;14)(q13;q32), t(14;16)(q32;q23), t(14;18)(q32;q21). Такие транслокации в основном связаны с конкретным подтипом В-НХЛ. Так, транслокация t(8;14), ассоциированная с сверхэкспрессией онкогена MYC, ключевого фактора транскрипции, наблюдается в 80-90% случаев лимфомы Беркитта (ЛБ) [10, р. 1]. У больных фолликулярной лимфомой в 80-90% случаев независимо от гистологического варианта лимфомы регистрируется транслокация t(14;18) [6, р. 3424]. Данная транслокация также может проявляться в 30-50% случаев при лимфомах маргинальной зоны, или MALT-лимфомах [9, р. 791]. Для лимфом из клеток мантийной зоны характерной аномалией является транслокация t(11;14) [4, р. 1979]. Сведения о наличии транслокаций у больных В-НХЛ важны для верификации диагноза и при выборе специфической терапии.

Цель исследования – определение роли перестроек генов IGH в субстратных клетках костного мозга и биопсийного материала лимфатических узлов больных В-НХЛ с помощью метода интерфазной флуоресцентной *in situ* гибридизации (I-FISH).

Материалы и методы исследования

Молекулярно-цитогенетическое исследование было проведено 42-м больным с В-клеточными неходжкинскими лимфомами. В-клеточная принадлежность лимфом была установлена по результатам патогистологического (ПГИ), иммуногистохимического исследований (ИГХИ) пораженной ткани лимфатических узлов и цитологическому анализу костного мозга грудины пациентов соответственно с классификацией ВОЗ (2008 г.). Биологическим материалом для молекулярно-цитогенетического анализа служили субстратные клетки с 24-х образцов лимфатических узлов, зафиксированных в парафине, и 18-ти образцов клеток костного мозга больных В-НХЛ. Возраст больных в период установления диагноза колебался от 5-ти до 75-ти лет и в среднем составлял 44,95±2,84 года. Были проанализированы образцы субстратных клеток у 25-ти пациентов мужского пола и у 17-ти – женского пола. Группа контроля была сформирована из пяти практически здоровых лиц в возрасте от 40-ка до 55-ти лет (в среднем 48,00±2,43 года). Основная цель создания и исследования группы контроля была направлена на проверку качества пробы и установление предельного процента клеток с ложно-положительным сигналом.

I-FISH анализ проводили на 24-часовых нестимулированных культурах клеток костного мозга и биопсийном материале лимфатических узлов, зафиксированных в парафине, с помощью локус-специфических ДНК-зондов: *Vysis IGH/FGFR3 dual fusion FISH probe kit t(4;14)(p16;q32)*; *Vysis IGH/MYC, CEP 8 tri-color*,

[©] Ситько В. В., Бешешко В. Г., Минченко Ж. Н., Мишарина Ж. А., 2015

dual fusion translocation probe; Vysis IGH/CCND1 dual color, dual fusion probes t(11;14)(q13;q32); Vysis IGH/MAF dual fusion FISH probe kit t(14;16)(q32;q23) и Vysis IGH/MALT1 dual fusion FISH probe kit t(14;18)(q32;q21) в соответствии с инструкцией производителя Abbott Molecular, США.

Анализ результатов проводили на программно-аппаратном комплексе *CytoVision* (Applied Imaging, UK) на базе микроскопа *Olympus BX51*, Япония. Для визуализации сигналов проб *Vysis* использовали фильтры: *DAPI/ORANGE/GREEN/AQUA*. В каждом случае анализировали не менее 50-ти интерфазных ядер с четкими сигналами.

В проанализированных ядрах периферической крови практически здоровых доноров транслокации с участием генов локусов тяжелых цепей *IGH* выявлены не были.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью компьютерной программы *Statistica 6.0*.

Результаты исследований и их обсуждение

В исследование были включены 42 больных В-клеточными неходжкинскими лимфомами, среди которых 29 человек болели диффузной крупноклеточной В-лимфомой (ДКВЛ), 7 – лимфомой Беркитта (ЛБ), 2 человека – лимфомой маргинальной зоны (МАЛТ-лимфома), еще 2 случая – фолликулярной лимфомы (ФЛ), по одному больному приходилось на лимфому из клеток мантийной зоны (ЛМЗ) и лимфоплазматическую лимфому (ЛПЛ) (Табл. 1). В целом, перестройки генов *IGH* были обнаружены у 22-х из 42-х больных В-НХЛ. С помощью метода *I-FISH* было обнаружено, что у 16-ти больных В-НХЛ регистрировались анеуплоидии с изменением количества в наборе от одной до трех и более хромосом 14. В исследуемых образцах больных В-НХЛ отмечались моносомия (9 больных), трисомия (4 больных) и полисомия (10 больных) хромосомы 14.

Таблица 1. Характеристика транслокаций с участием генов *IGH* у больных В-НХЛ

<i>IGH</i> транслокации	t(4;14)	t(8;14)	t(11;14)	t(14;16)	t(14;18)
В-НХЛ					
ДКВЛ (n=29)	1	3	2	1	2
ЛБ (n=7)	-	4	-	-	-
МАЛТ (n=2)	-	-	1	1	-
ФЛ (n=2)	-	-	-	-	2
ЛМЗ (n=1)	-	-	1	-	-
ЛПЛ (n=1)	-	-	-	-	-

Большинство хромосомных аномалий являются следствием транслокаций, которые могут приводить как к сбалансированным, так и к несбалансированным хромосомным перестройкам. Хромосомные транслокации приводят к изменению экспрессии генов и/или образованию слитых (химерных) генов, экспрессирующих причудливые продукты (РНК и белки), которые могут служить как диагностическими маркерами, так и терапевтическими мишенями [1, с. 387]. Наиболее значимыми для больных зрелыми В-клеточными новообразованиями являются хромосомные транслокации с привлечением генов тяжелых цепей *IGH*: t(4;14)(p16.3;q32.3) с изменениями гена *FGFR3*, t(8;14)(q24;q32) с перестройками гена *MYC*, t(11;14)(q13;q32) с абберациями гена *CCND1*, t(14;16)(q32;q23) с перестройками гена *MAF*, t(14;18)(q32;q21) с аномалиями гена *MALT1* [2, с. 279].

В общем, транслокации с участием генов *IGH* были идентифицированы у 18-ти из 42-х больных В-НХЛ: у девяти (9/29) больных ДКВЛ, у четырех больных ЛБ (4/7), у одного (1/2) больного МАЛТ-лимфомой, у двух (2/2) больных ФЛ и у одного (1/1) больного ЛМЗ.

Наиболее часто у больных В-НХЛ регистрировалась транслокация t(8;14), ассоциированная с надэкспрессией онкогена *MYC*. Она формируется в результате нарушения регуляции активности протоонкогена *MYC*, ключевого фактора транскрипции, с привлечением локуса гена тяжелой цепи иммуноглобулина *IGH*, который расположен на хромосоме 14 (регион 14q32) [8, р. 959]. Транслокация t(8;14) была обнаружена у троих из 29-ти больных ДКВЛ и четырех из семи больных ЛБ. Нарушение регуляции гена *MYC* приводит не только к активации клеточной пролиферации и злокачественной трансформации, но и к индукции апоптоза, геномной нестабильности, усилению ангиогенеза и блокированию дифференцировки [3, р. 635-643]. Пациентам с выявленной транслокацией гена *MYC* оптимизируется тактика лечения в сторону более агрессивной терапии с целью преодоления резистентности к современным программам полихимиотерапии (ПХТ).

Транслокация t(11;14) была выявлена в четырех проанализированных случаях: у двух больных ДКВЛ, одного больного МАЛТ-лимфомой и еще одного – ЛМЗ. Известно, что в результате данной транслокации может происходить надэкспрессия гена циклина D1, что может способствовать агрессивному клональному росту опухолевых клеток [4, р. 1979]. Пациенты с транслокацией *CCND1* имеют неблагоприятный прогноз течения заболевания.

Аномалии гена *MALT1* и, как следствие, транслокация t(14;18) были обнаружены у двух больных ФЛ и двух больных ДКВЛ. В результате транслокации t(14;18) происходит активация ядерного фактора каппа-В (nuclear factor kappa-B – NF-κB), что является ключевым регулятором экспрессии генов, которые отвечают за пролиферацию и апоптоз лимфоцитов. Наличие других хромосомных аномалий рядом с транслокацией

гена *MALT1* обычно ассоциируется с неблагоприятным прогнозом и трансформацией в диффузную крупноклеточную В-лимфому [2, с. 279].

Транслокация t(14;16) с перестройками гена *MAF* регистрировалась у одного пациента MALT-лимфомой и еще одного – ДКВЛ. Ген *MAF* является основным фактором транскрипции (bZIP), членом большой семьи транскрипционных факторов, участвующих в большом количестве клеточных процессов. Он может быть как активатором транскрипции, так и ее супрессором [5, р. 3781]. Пациенты с данной транслокацией имеют плохой прогноз, им показаны новые специфические терапевтические агенты, такие как ингибиторы протеасом или иммуномодуляторы.

Факторы роста фибробластов (FGF) и их рецепторы (FGFR) играют основную роль в процессе эмбрионального развития, гомеостаза тканей и метаболизма [7, р. 116]. Хромосомная транслокация t(4;14), которая приводит к надэкспрессии гена *FGFR3*, была обнаружена у одного больного ДКВЛ. Данная транслокация коррелирует с более короткой общей продолжительностью жизни у больных хроническими лимфопролиферативными новообразованиями.

Следовательно, выявление транслокации вышеперечисленных генов с вовлечением генов тяжелых цепей *IGH* в субстратных клетках больных В-НХЛ является диагностически и прогностически важным критерием, который позволит онкогематологам верифицировать диагноз и оптимизировать тактику лечения пациентов для преодоления резистентности в условиях применения современных программ ПХТ.

Список литературы

1. Четверина Е. В., Четверин А. Б. Наноклонии и диагностика онкологических заболеваний, ассоциированных с хромосомными транслокациями // Успехи биологической химии. 2010. Т. 50. С. 387-446.
2. Чехун В. Ф., Юрченко О. В. Современные молекулярно-биологические аспекты В-клеточных неходжкинских злокачественных лимфом // Онкология. 2007. Т. 9 (7). С. 278-279.
3. Adhikary S., Eilers M. Transcriptional Regulation and Transformation by MYC Proteins // Nature Reviews. 2005. Vol. 6. P. 635-645.
4. Bea S. Cyclin D1 Transcriptional Activation in MCL // Blood. 2014. Vol. 123 (13). P. 1979-1980.
5. Kim J. I., Li T., Ho I. C., Grusby M. J., Glimcher L. H. Requirement for the c-Maf Transcription Factor in Crystallin Gene Regulation and Lens Development // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. 1999. Vol. 96 (7). P. 3781-3785.
6. Kridel R., Sehn L. H., Gascoyne R. D. Pathogenesis of Follicular Lymphoma // Journal of Clinical Investigation. 2012. Vol. 122 (10). P. 3424-3431.
7. Turner N., Grose R. Fibroblast Growth Factor Signalling: from Development to Cancer // Nature Reviews Cancer. 2010. Vol. 10 (2). P. 116-129.
8. Tzankov A., Xu-Monette Z. Y., Gerhard M., Visco C. Rearrangements of MYC Gene Facilitate Risk Stratification in Diffuse Large B-cell Lymphoma Patients Treated with Rituximab-CHOP // Modern Pathology. 2014. Vol. 27 (7). P. 958-971.
9. Zhang S., Wei M., Liang Q. The t(14;18)(q32;q21)/IGH-MALT1 Translocation in Gastrointestinal Extranodal Marginal Zone Lymphoma of Mucosa-Associated Lymphoid Tissue (MALT Lymphoma) // Histopathology. 2014. Vol. 64 (6). P. 791-798.
10. Zhou K., Xu D., Cao Y. C-MYC Aberrations as Prognostic Factors in Diffuse Large B-cell Lymphoma: a Meta-Analysis of Epidemiological Studies // PloS One. 2014. Vol. 9 (4). P. 1-9.

MOLECULAR CYTOGENETIC CHARACTERISTIC OF *IGH* GENES REARRANGEMENTS IN PATIENTS WITH B-CELL NON-HODGKIN'S LYMPHOMAS

Sit'ko Valentina Vital'evna

Bebeshko Vladimir Grigor'evich, Doctor in Medicine, Professor

Minchenko Zhanna Nikolaevna, Doctor in Biology, Professor

National Research Center for Radiation Medicine of National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev

vg.bebeshko@gmail.com

Misharina Zhanna Anatol'evna, Ph. D. in Medicine

Bogomolets National Medical University, Kiev, Ukraine

Valentina-Sitko@yandex.ru

In the article the results of the molecular and cytogenetic studies of 42 patients with B-cell non-Hodgkin's lymphomas (B-NHL) are presented. With the help of I-FISH method the authors reveal *IGH* genes rearrangements, which are of great diagnostic and prognostic importance for patients. It is concluded that the identification of translocations involving *IGH* genes will allow oncologists-hematologists to verify diagnosis and to optimize the treatment strategy of patients with B-NHL to overcome resistance in the conditions of the use of modern chemotherapy programs.

Key words and phrases: B-cell non-Hodgkin's lymphoma; *IGH* genes translocations; *FGFR3* gene; *MYC* gene; *CCND1* gene; *MAF* gene; *MALT1* gene.