

Роль точечных мутаций гена *RUNX1* в патогенезе миелодиспластических и миелопролиферативных заболеваний у детей

Диссертация
Магистрантки кафедры генетики
биологического факультета БГУ
Мишковой О.А.

Научный руководитель
К. б. н., доцент Гринёв В.В.

Оглавление

- 
1. Актуальность темы.
 2. Цели и задачи.
 3. Объект и предмет исследований.
 4. Научная гипотеза.
 5. Основные результаты.
 6. Научная новизна.
 7. Положения, выносимые на защиту.
 8. Конференции и публикации.
 9. Благодарности.
 10. Спасибо за внимание
 11. Приложение

1. Актуальность темы



Нарушение транскрипционной регуляции – это одно из ключевых событий в процессе лейкемогенеза. В последнее время были охарактеризованы некоторые участники, имеющие критическое значение для этого процесса. Одним из них является продукт гена *RUNX1*.

Роль мутаций гена *RUNX1* в альтернативных путях кооперации мутаций в процессе лейкемической трансформации представляет большой интерес. Принято считать, что мутации в этом гене принадлежат к группе II событий, приводящих к нарушению регуляции процесса дифференциации клеток. В то время как мутации группы I проявляются в нарушении пролиферации. У пациентов с миелодиспластическим синдромом/острым миелоидным лейкозом (МДС/ОМЛ) и мутацией в *RUNX1*, последние чаще всего наблюдаются в *NRAS*, *FLT3*, *JAK2* и *c-KIT* генах.

2. Цели и задачи



Цель: исследование роли точечных мутаций гена *RUNX1* в патогенезе миелодиспластических и миелопролиферативных заболеваний у детей

Задачи:

1. Определить группы пациентов детского возраста с миелодиспластическими и миелопролиферативными заболеваниями, в которых наиболее часто встречаются точечные мутации гена *RUNX1*
2. Охарактеризовать кооперативные пути лейкемогенеза у пациентов с точечными мутациями гена *RUNX1*

3. Объект и предмет исследований



В исследование были включены 248 пациентов в возрасте от 1 до 18 лет с миелодиспластическим или миелопролиферативными заболеваниями за период с 1986 по 2009г. Исследования были одобрены комитетом ГУ РНПЦДОГ по этическим вопросам (протокол от февраля 2007г.)



- Пациенты (248 человек) были разделены на шесть групп по их клиническим характеристикам:
- de novo ОМЛ – 204 человека
 - de novo МДС – 20 человек
 - вторичный ОМЛ после лечения опухоли – 6 человек
 - вторичный ОМЛ после лечения АА – 3 человека
 - ЮММЛ – 10 человек
 - ХММЛ – 5 человек.

4. Научная гипотеза



Поскольку до сих пор вся существующая информация была получена для взрослых пациентов, было принято решение исследовать случаи точечных мутаций гена *RUNX1* в детских миелодиспластических и миелопролиферативных заболеваниях. Кроме того, была предпринята попытка охарактеризовать описанные ранее для взрослых пути кооперации мутаций в выбранной группе пациентов с мутациями в *RUNX1*.



5. Основные результаты

- В ходе проведенного нами исследования было показано, что частота мутаций гена *RUNX1* в группе пациентов детского возраста с диагнозом первичный ОМЛ составила 3%, первичный МДС - 15%, вторичный ОМЛ – 33%.
- В группе пациентов с индуцированными заболеваниями показана кооперация между мутациями в генах *RUNX1*, *NRAS* и хромосомной aberrацией $-7/7q-$, тогда как в группе с мутациями в гене *RUNX1* и диагнозом первичный ОМЛ и МДС преобладают пациенты нормальным кариотипом в опухолевых клетках.
- В группе пациентов с диагнозом *de novo* и вторичный ОМЛ и МДС, характеризующихся нормальным кариотипом или aberrацией $-7/7q-$, необходимо проводить мутационный скрининг гена *RUNX1*, с целью поиска генетического маркера для эффективного отслеживания минимальной остаточной болезни в ходе лечения и на стадии ремиссии.

6. Научная новизна



Впервые получена информация о роли точечных мутаций гена RunX1\AML1 в патогенезе миелодиспластических и миелопролиферативных заболеваний у детей.

Охарактеризованы альтернативные пути кооперации мутаций у пациентов с МДС\ОМЛ.

7. Положения, выносимые на защиту



1. Наиболее часто точечные мутации гена RunX1\AML1 встречаются у пациентов с диагнозом «вторичный ОМЛ»;
2. В случаях индуцированного терапией ОМЛ показана кооперация между мутациями RunX1, NRas и хромосомной aberrацией -7/7q.

8. Конференции и публикации

- «66-я научная конференция студентов, магистрантов, аспирантов» 7 мая 2009г., г. Минск
- «67-я научная конференция студентов, магистрантов, аспирантов» 4 мая 2010г., г. Минск
- Мигас А.А., Савва Н.Н., Матвеева (Мишкова) О.А., Алейникова О.В. Мутации гена RUNX1 у пациентов детского и юношеского возраста с de novo и вторичными ОМЛ и МДС. Сборник статей "Патогенез социально значимых заболеваний человека"., стр.79-82. Минск, БГМУ.

9. Благодарности



- научному руководителю к.б.н. Гринёву В.В.
- м.н.с. лаборатории молекулярно-генетических исследований ГУ РНПЦДОГ Мигасу А.А.
- зам.директора ГУ РНПЦДОГ по науке Савве Н.П.
- научной группе лаборатории молекулярно-генетических исследований ГУ РНПЦДОГ
- К.б.н., в.н.с. ГУ РНПЦДОГ Кустановичу А.М.



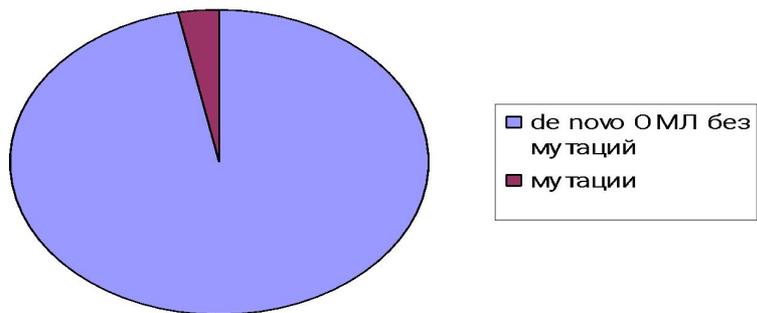
Спасибо за внимание

Обнаруженные нуклеотидные замены у пациентов.

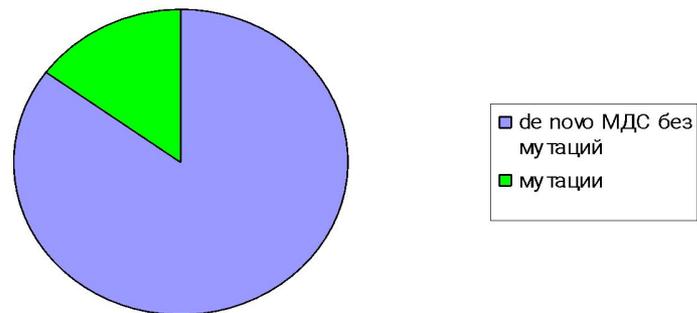
Номер случая	Диагноз	Нуклеотидная замена	Эффект	Домен
De novo ОМЛ (204)				
1	ОМЛ М1	g.167249 C>T	p.20Ser>syn	RUNT
2	ОМЛ М6	g.173656 C>A	p.114Ser> Stop	RUNT
3	ОМЛ М4	g.194814 G>A	p.174Arg>Glu	RUNT
4	ОМЛ М4	g.173729 C>G	p.139Arg>Gly	RUNT
5	ОМЛ М1	g.167371 T>G, g.167374 T>C, g.167375_167376 ins26	p.62Leu>Arg; p.63Val>Ala; сдвиг рамки считывания	RUNT RUNT RUNT
6	ОМЛ М2	g.194868-194885 del 17	Дерегуляция сплайсинга	
7	ОМЛ М2	g.167348 G>A	p.53Val>syn	RUNT
8	ОМЛ БДУ	g.219765 A>G	p.199Glu>syn	NRDBc
9	ОМЛ М2	g.219818 C>T	p.218Pro>Leu	NRDBc
De novo МДС (20)				
10	МДС	g.167262 T>C	p.29Leu>Trp	NRDBn/NRHn
11	МДС (РАИБ)	g.219725 C>T	p.187Thr>Ile	NRDBc
12	МДС (РА)	g.173686 T>G	p.124Met>Arg	RUNT
Вторичный ОМЛ после лечения первичной опухоли (6)				
13	вОМЛ М1	g.194808 G>C	p.172Gly>Ala	RUNT
14	вОМЛ М2	g.194868-194885 del 17	Дерегуляция сплайсинга	
Вторичный ОМЛ после лечения АА (3)				
15	вОМЛ М1	g.173736 G>T	p.141Gly>Stop	RUNT

Доля случаев мутаций среди групп пациентов с соответствующими диагнозами

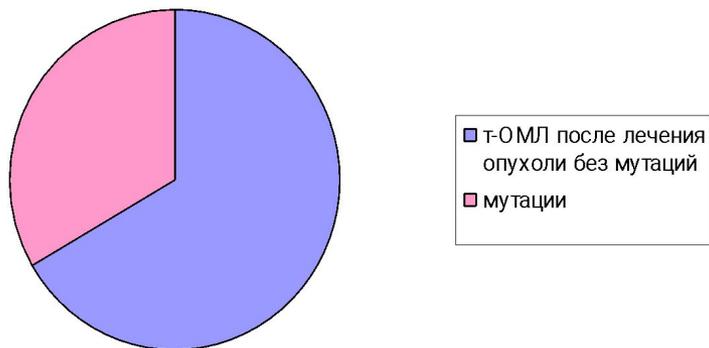
de novo ОМЛ



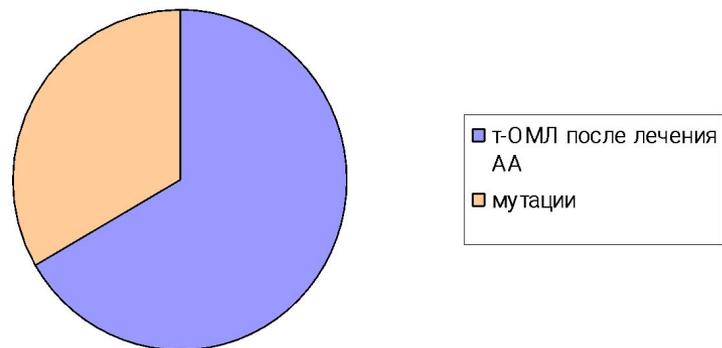
de novo МДС



Вторичный ОМЛ после лечения опухоли



Вторичный ОМЛ после лечения АА

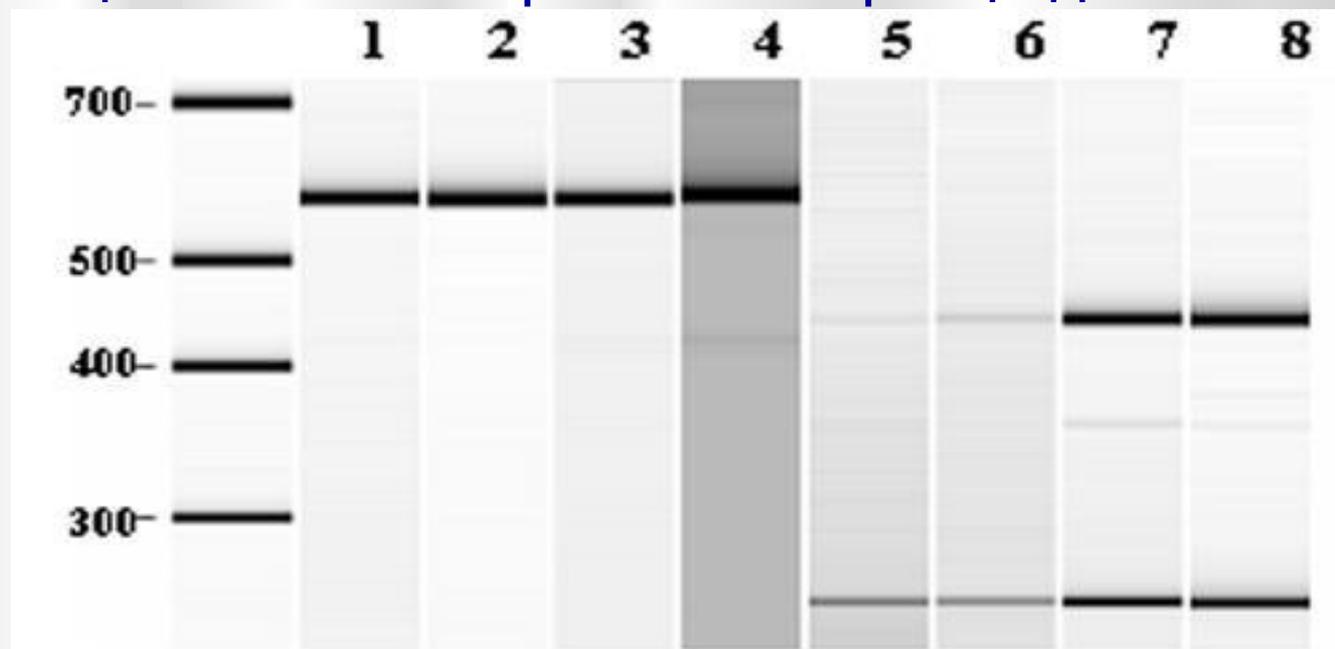




Особенности цитогенетических характеристик у пациентов с обнаруженным мутациями

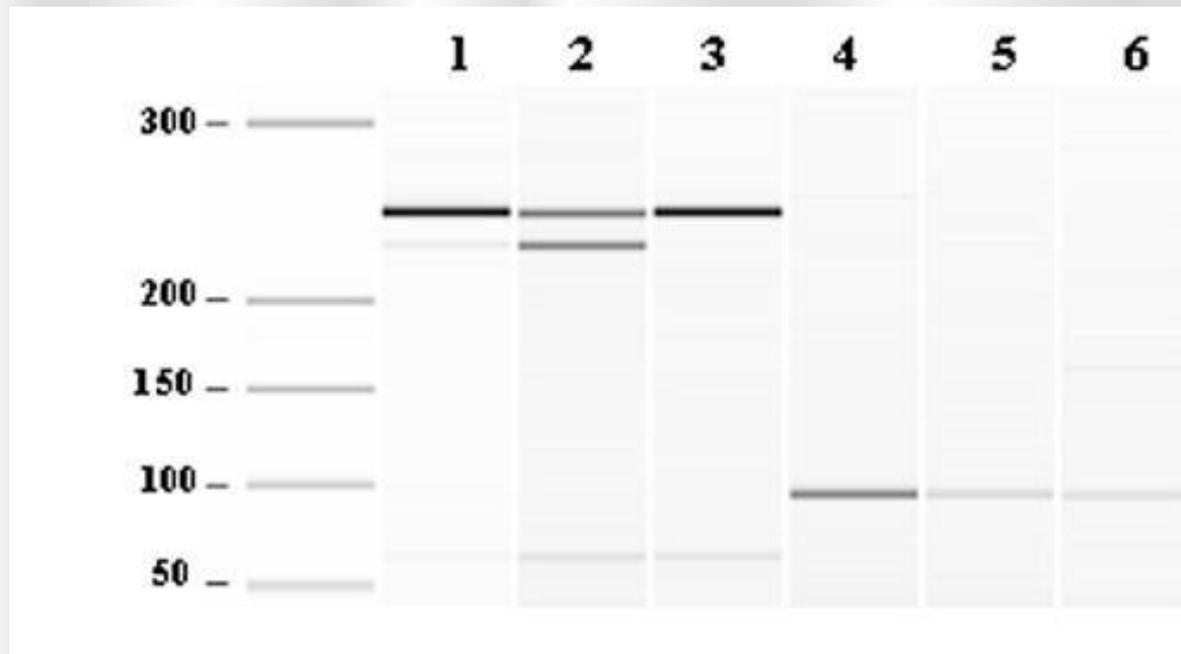
Диагноз	Цитогенетика	Количество случаев
de novo ОМЛ (6)	без аберраций	3
	-7/7q	2
	t(6;14)	1
de novo МДС (3)	без аберраций	2
	-7/7q	1
т-ОМЛ после лечения опухоли (2)	без аберраций	1
	t(9;11)	1
т-ОМЛ после лечения АА (1)	без аберраций	-
	-7/7q	1

Экспрессия генов *b-actin* и *RUNX1* у пациентов с делециями и в контрольном образце дикого типа.



Дорожки 1, 2 и 5, 6 представляют собой продукты амплификации кДНК генов *b-actin* и *RUNX1* в образцах № 6 и 14 соответственно. Дорожки 3, 4 и 7, 8 в контрольных образцах здоровых доноров.

Анализ числа копий гена *RUNX1* у пациентов с делецией в 17 пар оснований.



Дорожки 1-3 представляют продукты ПЦР амплификации экзона 5 и части интрона 5-6 гена *RUNX1* в случаях №6, 14 и для донора дикого типа соответственно. Расположенный выше фрагмент – продукт амплификации аллеля дикого типа. Нижний – продукт мутантного аллеля. Дорожки 4-6 демонстрируют ПЦР продукт амплификации фрагмента гена *b-globin* в таком же порядке.

Распределение мутаций в исследуемой области

