УДК: 577.29:616-092:616.155.392.8-036

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МУТАЦИЙ V617F В ГЕНЕ JAK2 И ДРАЙВЕРНЫХ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ CALR И MPL У ПЕРВИЧНЫХ ПАЦИЕНТОВ С PH-НЕГАТИВНЫМИ MPN

Каримов Хамид Якубович, Султонова Шероза Хикмат кизи
Шамсутдинова Дилдора Бахрамовна, Яриев Алишер Алижонович
Омонов Мадорбек, Бобоев Кодиржон Тухтабаевич
Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии (Ташкент, Узбекистан)

Аннотация. *Целью исследования было определить частоту и распределение драйверных мутаций в генах JAK2 V617F, CALR и MPL у первичных пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными неоплазиями (MPN). Методы. В исследование были включены 250 пациентов, обратившихся в Республиканский центр гематологии. Молекулярно-генетическое тестирование проводилось методом Real-Time ПЦР с использованием диагностического набора MPN Screening Kit. Наиболее часто выявлялась мутация JAK2 V617F — у 69,6% пациентов. Мутации в гене CALR обнаружены у 16,4%, а в MPL — у 4%. У 20% пациентов не выявлено ни одной из исследуемых мутаций (triple-negative). Наиболее распространённой клинической формой заболевания оказалась эссенциальная тромбоцитемия (37,6%), за ней следовали истинная полицитемия (33,6%) и первичный миелофиброз (28,8%). Выводы. Результаты подчеркивают важность молекулярного анализа для уточнения диагноза, прогноза и персонализации лечения при Ph-негативных MPN. Особое внимание следует уделять triple-negative пациентам, которым требуется расширенная генетическая диагностика.*

Ключевые слова: *Ph-негативные миелопролиферативные неоплазии (MPN); драйверные мутации, мутационный профиль, triple-negative, JAK2 V617F, CALR, MPL*

PH-NEGATIV MPN BILAN OG´RIGAN BIRLAMCHI BEMORLARDA JAK2 GENIDAGI V617F MUTATSIYALARI VA CALR VA MPL GENIDAGI DRIVER MUTATSIYALARNING TAQSIMLANISHI

Karimov Xamid Yakubovich, Sultonova Sheroza Xikmatovna
Shamsutdinova Dildora Baxramovna, Yariyev Alisher Alijonovich
Omonov Madorbek, Boboyev Kodirjon Tuxtaboyevich
Respublika ixtisoslashtirilgan gematologiya ilmiy-amaliy tibbiyot markazi (Toshkent, O‘zbekiston)

Abstrakt. *Tadqiqotning maqsadi. Ph-manfiy miyeloproliferativ neoplaziya (MPN) bilan og‘rigan birlamchi bemorlarda JAK2 V617F, CALR va MPL genlarida drayver mutatsiyalarning chastotasi va taqsimlanishini aniqlashdan iborat. Material va usullar. Tadqiqotga Respublika gematologiya markaziga murojaat qilgan 250 nafar bemor kiritilgan. Molekulyar-genetik testlash MPN Screening Kit diagnostik to‘plami yordamida Real-Time PZR usulida o‘tkazildi. Xulosalar. Natijalar Ph-salbiy MPNda tashxis, prognoz va davolashni individuallashtirishni aniqlashtirish uchun molekulyar tahlilning muhimligini ta’kidlaydi. Kengaytirilgan genetik diagnostikaga muhtoj bo‘lgan triple-negative bemorlarga alohida e’tibor qaratish lozim.*

Kalit so‘zlar: *Ph-manfiy miyeloproliferativ neoplaziyalar (MPN), drayver mutatsiyalar, mutatsion profil, triple-negative, JAK2 V617F, CALR, MPL.*

DISTRIBUTION OF THE JAK2 V617F MUTATION AND DRIVER MUTATIONS IN THE CALR AND MPL GENES AMONG PRIMARY PATIENTS WITH PHILADELPHIA-NEGATIVE MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS (MPNS)

Karimov Khamid Yakubovich, Sultonova Sheroza Khikmatovna
Shamsutdinova Dildora Bakhramovna, Yariyev Alisher Alijonovich
Omonov Madorbek, Boboyev Kodirjon Tukhtaboyevich
Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Hematology (Tashkent, Uzbekistan)

Abstract. *The aim of the study was to determine the frequency and distribution of driver mutations in the JAK2 V617F, CALR, and MPL genes in primary patients with Ph-negative myeloproliferative neoplasms (MPN). Materials and methods. The study included 250 patients who applied to the Republican Center for Hematology. Molecular genetic testing was performed using the Real-Time PCR method using the MPN Screening Kit diagnostic kit. Results. The JAK2 V617F mutation was most frequently detected in 69.6% of patients. Mutations in the CALR gene were found in 16.4%, and in the MPL gene in 4%. In 20% of patients, none of the studied mutations (triple-negative) were*

detected. The most common clinical form of the disease was essential thrombocytemia (37.6%), followed by true polycythemia (33.6%) and primary myelofibrosis (28.8%).

Keywords: *Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms (MPN); driver mutations; mutation profile; triple-negative; JAK2 V617F; CALR; MPL.*

Введение. Филадельфия (Ph)-негативные миелопролиферативные неоплазии (MPN) представляют собой группу клональных заболеваний гемопоэтических стволовых клеток, характеризующихся хронической пролиферацией одного или нескольких ростков миелоидного ряда с повышенным выходом зрелых форм в периферическую кровь. Согласно классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) от 2016 года, к числу Ph-негативных MPN относят: истинную полицитемию (Polycythemia Vera, PV), эссенциальную тромбоцитемию (Essential Thrombocythemia, ET), первичный миелофиброз (Primary Myelofibrosis, PMF), а также некоторые другие, более редкие формы [7]**.** Основную долю зарегистрированных случаев Ph-негативных MPN составляют PV, ET и PMF. (см. Таблица 1) [6].

Мутация JAK2 V617F выявляется приблизительно у 95–97 % пациентов с истинной полицитемии и у 55–60 % больных с другими формами Ph-негативных миелопролиферативных новообразований, такими как эссенциальная тромбоцитемия и первичный миелофиброз [1]. Истинная полицитемия (PV) ассоциируется с приобретёнными драйверными мутациями в гене Janus-киназы 2 (JAK2), наиболее распространённой из которых является мутация V617F в 14 экзоне [4]. Позднее были идентифицированы и другие патогенные варианты гена JAK2, преимущественно располагающиеся в экзонах 12–15. Однако мутация JAK2V617F не является строго специфичной для классических Ph-негативных миелопролиферативных новообразований (МПН). В отличие от мутаций в генах CALR и MPL, которые преимущественно ассоциируются с МПН, соматическая мутация JAK2V617F встречается в более широком спектре миелоидных патологий, что ограничивает её диагностическую специфичность.

Мутации в гене CALR представляют собой делеции или инсерции, локализованные в последнем экзоне гена (CALR, хромосома 19p13.2), кодирующем С-концевую область соответствующего белка. Наиболее распространённые варианты — тип 1 (делеция 52 пар оснований) и тип 2 (инсерция 5 пар оснований). На сегодняшний день описано более 50 различных типов мутаций, при этом аллельная нагрузка обычно составляет 40–50 %, что указывает на клональное доминирование мутантного гемопоэза. С клинической точки зрения, мутации CALR выявляются исключительно при эссенциальной тромбоцитемии (ET) и первичном миелофиброзе (PMF), встречаясь примерно в 20–25 % случаев. Согласно классификации ВОЗ 2016 года, определение CALR-статуса включено в диагностические критерии для ET и PMF и должно проводиться у всех пациентов, у которых не выявлена мутация JAK2 [2]. Установлено более 50 различных вариантов мутаций, подавляющее большинство из которых вызывают рамочный сдвиг (+1 bp), что подтверждает гомологичную молекулярную природу этих нарушений.

Мутации в гене MPL занимают третье место по частоте среди драйверных мутаций, выявляемых при Ph-негативных миелопролиферативных неоплазиях [5]. Ген MPL, расположенный на хромосоме 1p34, кодирует рецептор тромбопоэтина (TpoR). Мутации, такие как W515L, W515K и другие, приводят к конститутивной активации сигнального пути JAK–STAT, аналогично мутациям в JAK2.

Диагностический поиск мутаций MPL обязателен у пациентов с ET и PMF, у которых не выявлены мутации JAK2 и CALR, что отражено в диагностических алгоритмах ВОЗ (2016) [3] и ICC (2022).

Таблица 1.

Частота мутаций в Ph-негативных MPN

Ген	Подтип MPN	Частота мутации
JAK2V617F	PV	~97 %
JAK2V617F	ET / PMF	55–60 %
JAK2 exon 12	PV (V617F–)	~3 %
CALR (тип 1/2)	ET / PMF	20–25 %
MPL (W515L/K)	ET	3–5 %
MPL (W515L/K)	PMF	6–10 %

Таким образом, совместный анализ этих трёх генов охватывает подавляющее большинство случаев Ph-негативных MPN и лежит в основе молекулярной диагностики этих заболеваний.

Цель исследования. Определить частоту и распределение мутаций JAK2 V617F, а также драйверных мутаций в генах CALR и MPL у первичных пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными неоплазиями (MPN) с целью

уточнения молекулярного профиля заболевания.

Научная новизна. Данное исследование расширяет существующие представления о молекулярной природе Ph-негативных миелопролиферативных неоплазий, представляя актуализированный анализ частоты мутаций JAK2 V617F, CALR и MPL у первичных пациентов. Новизна заключается в сопоставлении этих данных с современными диагностическими классификациями (ВОЗ 2016, ICC 2022), что позволяет пересмотреть подходы к молекулярной верификации диагноза и формированию персонализированной тактики лечения.

Материалы и методы исследования. Материалом исследования послужили образцы крови 250 пациентов с подозрением на хронические миелопролиферативные неоплазии (MPN), обратившихся в Республиканский специализированный научно-практический центр Гематологии РУз.

Методом исследования была полимеразная цепная реакция в реальном времени (Real-Time PCR), выполненная с использованием набора MPN Screening Kit (SNP Biotechnology), предназначенного для выявления драйверных мутаций в генах JAK2, CALR, MPL и CSF3F. Набор позволяет детектировать следующие мутации: JAK2, экзон 14-V617F; JAK2, экзон 12-мутации в аминокислотах 530-547; CALR, экзон 9-тип 1 (делеция), тип 2 (инсерция), а также другие варианты; MPL, экзон 10-S505N, W515A, W515K, W515L, W515S; CSF3R-T615A и T618I.

Результаты. В исследование были включены 250 первичных пациентов с подозрением на MPN. Среди них преобладали мужчины — 132 человека (52,8%), тогда как женщин было 118 (47,2%).

Наиболее часто диагностируемой формой заболевания оказалась эссенциальная тромбоцитемия, выявленная у 94 пациентов (37,6%). Из них 49 (52,1%) были мужчины и 45 (47,9%) — женщины. Истинная полицитемия была установлена у 84 пациентов (33,6%), из которых 45 (53,6%) — мужчины и 39 (46,4%) — женщины. Первичный миелофиброз диагностирован у 72 пациентов (28,8%), среди которых 38 (52,8%) — мужчины и 34 (47,2%) — женщины.

Таким образом, все три основные формы Ph-негативных MPN были представлены относительно равномерно, однако с некоторым преобладанием эссенциальной тромбоцитемии. В выборке наблюдалось умеренное преобладание мужского пола. Эти данные отражают типичное распределение заболеваний по полу и нозологической структуре, что согласуется с литературными данными.

Молекулярно-генетическая характеристика и распределение мутаций. Всем пациентам проведён молекулярно-генетический анализ на наличие драйверных мутаций в генах JAK2, CALR и MPL, ассоциированных с Ph-негативными MPN. Наиболее часто выявлялась мутация JAK2 V617F (см. рисунок1)— в совокупности у 174 пациентов (69,6%), включая: 82 пациента с истинной полицитемии (PV), и 92 пациента с эссенциальной тромбоцитемией или миелофиброзом (ET/PMF). Мутации CALR (тип 1 или 2) встречались у 41 пациента (16,4%), преимущественно при ET и PMF. Мутации MPL (W515L/K) были обнаружены: у 4 пациентов (1,6%) с ET, и у 6 пациентов (2,4%) с PMF. У 2 пациентов (0,8%) с истинной полицитемии была выявлена мутация в 12 экзоне JAK2 — редкий вариант, встречающийся у V617F-негативных PV. У 50 пациентов (20%) мутации не были обнаружены — они классифицированы как triple-negative (см. таблицу 2). Такие случаи требуют особого подхода к диагностике и мониторингу, поскольку могут иметь другую молекулярную природу или быть ассоциированы с мутациями, не включёнными в стандартный набор.

Таблица 2.

Распределение мутаций V617F в гене JAK2 и драйверных мутаций в гене CALR и MPL у первичных пациентов с Ph-негативными MPN

Ген/Мутация	Число пациентов	
	n	%
JAK2 V617F (PV)	82	32,8%
JAK2 V617F (ET/PMF)	92	36,8%
JAK2 exon 12	2	0,8%
CALR (тип 1/2)	41	16,4%
MPL (ET)	4	1,6%
MPL (PMF)	6	2,4%
Triple-negative	50	20,0%

Эти данные подчёркивают клиническую значимость JAK2-мутаций, а также необходимость расширенного молекулярного анализа, особенно в triple-negative случаях. Мутационный профиль позволяет уточнять диагноз, прогноз и тактику ведения пациента.

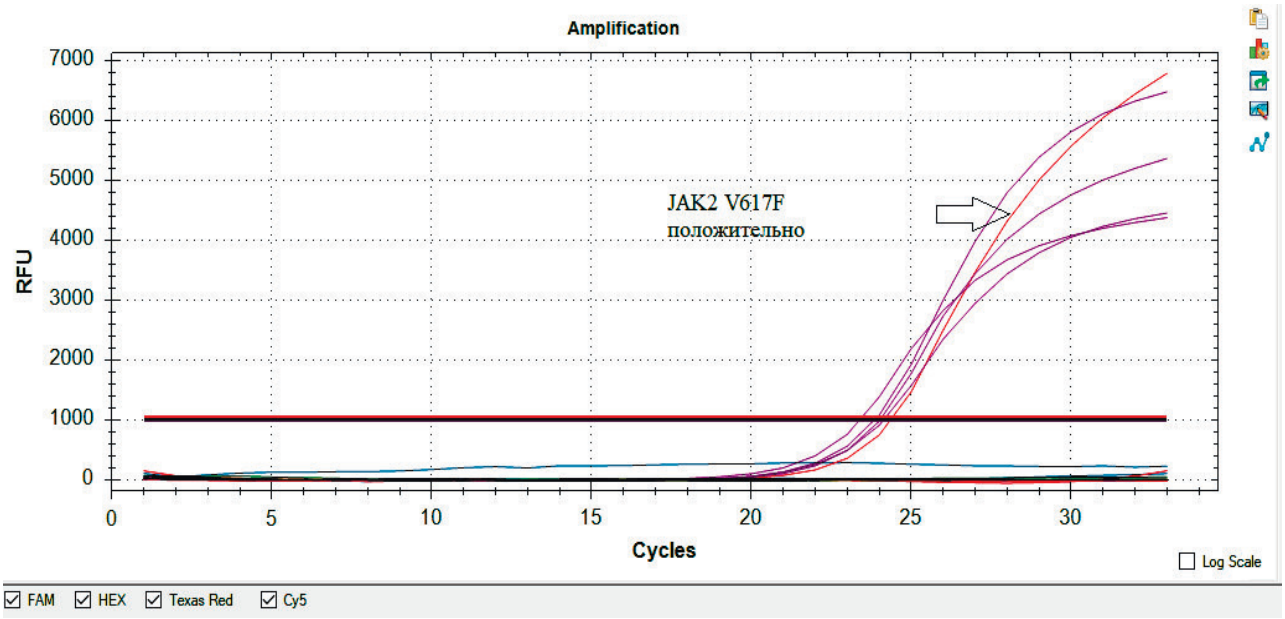


Рис. 1. Пациент К. с выявленной мутацией JAK2 V617F при отрицательных результатах на другие драйверные мутации (CALR, MPL)

Заключение. Проведённое исследование подтвердило высокую диагностическую значимость молекулярно-генетического анализа при верификации Ph-негативных миелопролиферативных неоплазий. У большинства пациентов были выявлены драйверные мутации в генах JAK2, CALR и MPL, среди которых доминировала мутация JAK2 V617F. Это соответствует мировым данным и подчёркивает её ведущую роль в патогенезе MPN.

Наиболее распространённой клинической формой заболевания оказалась эссенциальная тромбоцитемия, за ней следовали истинная полицитемия и первичный миелофиброз. В выборке наблюдалось умеренное преобладание мужчин.

Выявление мутаций позволило не только уточнить диагноз, но и провести стратификацию пациентов по молекулярным признакам, что имеет важное значение для выбора тактики лечения и прогноза. Особое внимание заслуживают случаи triple-negative, так как они требуют углублённого молекулярного обследования с возможным расширением диагностической панели.

Таким образом, интеграция молекулярно-генетических методов в клиническую практику способствует более точной диагностике MPN и индивидуализированному подходу к лечению пациентов.

Выводы:

1. В исследование были включены 250 первичных пациентов с подозрением на Ph-негативные MPN, среди которых отмечалось умеренное преобладание мужчин (52,8%).

2. Наиболее часто встречающейся формой заболевания являлась эссенциальная тромбоцитемия (37,6%), за ней следовали истинная полицитемия (33,6%) и первичный миелофиброз (28,8%).

3. Молекулярно-генетическое тестирование показало высокую частоту выявления мутаций: JAK2 V617F — у 69,6% пациентов, CALR — у 16,4%, MPL — у 4%.

4. У 0,8% пациентов с PV была выявлена редкая мутация в 12 экзоне гена JAK2, что подтверждает необходимость включения данного анализа при V617F-негативных формах.

5. В 20% случаев мутации не были обнаружены (triple-negative), что требует углублённой диагностики и может свидетельствовать о наличии других молекулярных нарушений.

6. Полученные результаты соответствуют мировым данным и подчёркивают важность комплексного молекулярно-генетического обследования в диагностике и классификации Ph-негативных MPN.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bellosillo B., Doubek M., Tomuleasa C., Griesshammer M., Marchetti M., Sacha T., Gisslinger H. JAK2 mutations in polycythemia vera: from molecular origins to inflammatory pathways and clinical implications // Memo. — 2025. — 17 (Suppl 4): S79–S93.DOI: https://doi.org/10.1007/s12254-024-01009-0

2. Mroczkowska-Bękarciak A., Szeremet A., Chyrko O., Wróbel T. CALR—mutant myeloproliferative neoplasms: insights from next-generation sequencing // Journal of Applied Genetics. — January 2025. DOI: https://doi.org/10.1007/s13353-025-00947-7

3. Passamonti F., Maffioli M. Update from the latest WHO classification of MPNs: a user's manual // Hematology Am Soc Hematol Educ Program. — 2016. — 2016(1):534-542. DOI: 10.1182/asheducation-2016.1.534

4. Schnittger S., Bacher U., Haferlach C., et al. Detection of JAK2 exon 12 mutations in 15 patients with JAK2V617F negative polycythemia vera // Haematologica. — 2009. — 94(3):414-418. DOI: 10.3324/haematol.13223

5. Scott L.M., Tong W., Levine R.L., et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis // N Engl J Med. — 2007. — 356(5):459–468. DOI: 10.1056/NEJMoa065202

6. Tefferi A., Pardanani A. MPL mutations in myeloproliferative neoplasms: biology and clinical implications // Blood Advances. — 2023. — 7(4):1234–1242. DOI: 10.1182/bloodadvances.2023000123

7. World Health Organization. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. — 4th ed. — Lyon: IARC Press, 2016. — 439 p.