

© Коллектив авторов, 2020
УДК 616-006.446.8
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15075>
ISSN – 2073-8137

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ c-Kit У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ МИЕЛОИДНЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

А. В. Виноградов^{1,2}, Д. В. Изотов², А. В. Резайкин², С. В. Сазонов^{2,3},
Е. В. Щетинин⁴, Д. В. Бобрышев⁴, А. Г. Сергеев²

¹ Министерство здравоохранения Свердловской области, Екатеринбург,
Российская Федерация

² Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург,
Российская Федерация

³ Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург,
Российская Федерация

⁴ Ставропольский государственный медицинский университет,
Российская Федерация

MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF c-KIT GENE MUTATIONS IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA IN THE AGE ASPECT

Vinogradov A. V.^{1,2}, Izotov D. V.², Rezaykin A. V.², Sazonov S. V.^{2,3},
Shchetinin E. V.⁴, Bobryshev D. V.⁴, Sergeev A. G.²

¹ Sverdlovsk Regional Ministry of Health, Ekaterinburg, Russian Federation

² Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation

³ Institute of Medical Cell Technology, Ekaterinburg, Russian Federation

⁴ Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

Методом прямого автоматического секвенирования изучали онкогенный потенциал мутаций гена c-Kit в экзонах 7–12 и 16–19 гена у 67 больных с впервые выявленными формами острого миелоидного лейкоза (ОМЛ). Кроме того, 56 проб дополнительно обследованы на наличие инсерций в экзоне 12 гена NPM1 молекулярно-генетическим и иммуногистохимическим методами. Частота функционально значимых мутаций в гене c-Kit составила 13,4 % (n=9), из них 5 – в группе больных ОМЛ в возрасте 15–45 лет (15,2 %), 4 – у пациентов пожилого и старческого возраста (11,8 %). То есть частота мутаций гена c-Kit у больных в зависимости от возрастной принадлежности статистически не отличалась. В трех пробах выявлены инсерции в гене NPM1 (5,4 %). Однако методом компьютерного моделирования с использованием распределенной сети предсказания структуры показано, что онкогенным потенциалом среди выявленных молекулярных изменений обладали лишь миссенс-мутация с. 2447 A>T, а также инсерции и делеции экзонов 10 и 11 (6,0 %, n=4). При этом наиболее часто встречающаяся несинонимичная трансверсия с. 1621 A>C (7,5 %, n=5), как изолированная, так и в сочетании с транзицией с. 1636 A>G, не оказывала какого-либо существенного влияния на третичную структуру и не приводила к спонтанной активации белка c-Kit. Прогностическое значение выявленных мутаций в гене c-Kit при ОМЛ было неблагоприятным, однако применение ингибиторов тирозинкиназ имеет клинические перспективы наряду с высокодозной химиотерапией и аллогенной трансплантацией костного мозга.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз, ген c-Kit, молодой возраст, пожилой и старческий возраст, секвенирование, моделирование структуры белка

Direct automatic sequencing was used to study the oncogenic potential of mutations of the c-Kit gene in exons 7–12 and 16–19 of the gene in 67 patients with newly identified forms of acute myeloid leukemia (AML). Besides, 56 samples were additionally tested for insertion in exon 12 of the NPM1 gene using molecular genetic and immunohistochemical methods. The frequency of functionally significant mutations in the c-Kit gene was 13.4 % (n=9), 5 of which were in the group of AML patients aged 15–45 years (15.2 %), 4 – in elderly patients (11.8 %). That is, the frequency of mutations of the c-Kit gene in patients, depending on age, did not differ statistically significantly. Three samples revealed insertions in the NPM1 gene (5.4 %). However, by computer modeling using Protein Homology/AnalogY Recognition Engine, it was shown that only the missense mutation of c. 2447 A>T, as well as insertions and deletions of exons 10 and 11 (6.0 %, n=4) had oncogenic potential among the detected molecular changes. At the same time, the most common non-synonymous transversion of c. 1621 A>C (7.5 %, n=5), both isolated and combined with the transit of c. 1636 A>G, did not have any significant effect on the structure and did not lead to spontaneous activation of the c-Kit protein. The prognostic impact of detected mutations in the c-Kit gene in AML was unfavorable, but the use of tyrosine kinase inhibitors has clinical prospects along with high-dose chemotherapy and allogeneic bone marrow transplantation.

Keywords: acute myeloid leukemia, c-Kit gene, young age, old and senile age, sequencing, protein structure modeling

Для цитирования: Виноградов А. В., Изотов Д. В., Резайкин А. В., Сазонов С. В., Щетинин Е. В., Бобрышев Д. В., Сергеев А. Г. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ c-Kit У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМИ МИЕЛОИДНЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2020;15(3):315-319. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15075>

For citation: Vinogradov A. V., Izotov D. V., Rezaykin A. V., Sazonov S. V., Shchetinin E. V., Bobryshev D. V., Sergeev S. V. MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF c-Kit GENE MUTATIONS IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA IN THE AGE ASPECT. *Medical News of North Caucasus*. 2020;15(3):315-319. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15075> (In Russ.)

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
ДИ – доверительный интервал
ОМЛ – острый миелоидный лейкоз

ПЦР – полимеразная цепная реакция
РНК – рибонуклеиновая кислота
JM-домен – юкстамембранный домен

В патогенезе острых миелоидных лейкозов (ОМЛ) ключевую роль играют генетические аномалии, возникающие при злокачественной трансформации кроветворных клеток. Это могут быть как точечные генные мутации, затрагивающие одну пару нуклеотидов (несинонимичные замены, инсерции, делеции), так и крупные хромосомные перестройки, вовлекающие от фрагмента одной до нескольких хромосом. Как правило, для развития лейкоза недостаточно одного генетического события, поэтому большое значение в молекулярной диагностике уделяется исследованию комбинаций мутаций на разных стадиях онкогенеза. При этом детекция тех или иных генных и хромосомных мутаций и оценка их молекулярных последствий является важным предиктором ответа опухоли на лечение и активно используется при планировании высокодозной, таргетной химиотерапии, трансплантации костного мозга, а также при ведении пациентов в посттрансплантационном периоде [1–3].

Цель исследования – проанализировать онкогенный потенциал мутаций в гене c-Kit у больных острыми миелоидными лейкозами молодого, пожилого и старческого возрастов с использованием распределенной сети предсказания структуры белка.

Материал и методы. В исследование включены 67 больных ОМЛ, прошедших лечение в гематологическом отделении ГАУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1» с 2010 по 2019 г. Среди пациентов в возрасте от 15 до 45 лет было 33 человека, от 60 лет и старше – 34; мужчин – 33, женщин – 34.

Диагностика ОМЛ осуществлялась в соответствии с международными рекомендациями на основании клинического анализа крови, цитологического и цитохимического анализа аспирата костного мозга, иммунофенотипирования. Морфологический вариант лейкоза определяли в соответствии с классификацией ВОЗ [1, 2]. В соответствии с ней в исследуемой группе с морфологическим вариантом М0 наблюдались трое пациентов, М1 – 4, М2 – 30, М3 – 4, М4 – 17, М4эо – 2, М5 – 2, М6 – 2, М7 – 1, острый миелофиброз – 1, бластная плазмацитоидная дендритоклеточная опухоль – 2.

Во всех случаях для уточнения генетических характеристик опухолевых клеток проводили их цитогенетическое и/или молекулярно-генетическое исследование – ПЦР в реальном времени для детекции химерных РНК-транскриптов t(8;21), t(9;22), t(11;19), t(15;17), inv(16). В результате больные стратифицировались в следующие генетические подгруппы: 1) с вышеуказанными специфическими аномалиями хромосом; 2) с прочими структурными aberrациями; 3) анеуплоидия; 4) комплексные хромосомные ано-

малии; 5) делеция либо моносомия по хромосоме 5; 6) нормальный кариотип. Если вариант мутации цитогенетическим и ПЦР-методами уточнить не удавалось, пациенты распределялись в подгруппу с неуточненным вариантом генетических повреждений [4].

Исследование изменений в гене c-Kit осуществлялось в образцах периферической крови и костного мозга, содержащих опухолевые клетки в концентрации от 1000/мкл и выше, методом прямого автоматического секвенирования на платформах ABI Prism 310 и 3130 Genetic Analyzer. Детекцию мутаций осуществляли в кодирующих последовательностях экзонов 7–12 и 16–19 с использованием специально разработанных праймеров [5]. Кроме того, 56 проб были дополнительно протестированы на наличие мутаций в экзоне 12 гена NPM1 молекулярно-генетическим и иммуногистохимическим методами.

Моделирование третичной структуры белков проводили с использованием распределенной сети предсказания структуры Protein Homology/AnalogY Recognition Engine (Phyre) версия 2.0 в режиме «Intensive». В качестве референтной использована полученная для белка c-Kit методом рентгеноструктурного анализа с разрешением 2,90 Å модель 1PKG из Protein Data Bank (PDB 1PKG). Структуры мутантных вариантов белка c-Kit моделировали на основе полученных при секвенировании нуклеотидных последовательностей для каждой положительной пробы. Для визуализации и анализа использовали программное обеспечение PyMol версия 2.3.4.

Статистическую обработку средних частот генетических событий проводили на основе биномиального распределения с использованием доверительных интервалов.

Результаты и обсуждение. Изменения в кодирующей последовательности экзонов 7–12 и 16–19 гена c-Kit по сравнению с референтной NM_000222 (GeneBank) в материале от больных ОМЛ определены в 13 пробах пациентов в возрасте моложе 45 лет (39,4 %, при 95 % ДИ от 24,7 до 56,3 %). Среди них в одном случае выявлялась несинонимичная нуклеотидная замена с. 2447 A>T (3,0 %, при 95 % ДИ от 0,5 до 15,3 %), в двух – делеция (6,1 %, при 95 % ДИ от 1,7 до 19,6 %) протяженностью с 1529 по 1774 позиции нуклеотидов, соответствующая экзонам 10 и 11, в одном – инсерция протяженностью 280 нуклеотидов, начиная с позиции 1776, соответствующая интрону 11 (3,0 %, при 95 % ДИ от 0,5 до 15,3 %), в двух – несинонимичная трансверсия с. 1621 A>C в сочетании с синонимичной с. 2586 G>C (6,1 %, при 95 % ДИ от 1,7 до 19,6 %), в восьми – различные синонимичные замены (24,2 %, при 95 % ДИ от 14,8 до 37,0 %). В группе больных ОМЛ старшей возрастной группы (60 лет и старше) мутации в экзонах 7–12 и 16–19 гена c-Kit также выявлены в 13 пробах (38,2 %, при 95 % ДИ от 24,7 до 56,3 %).

при 95 % ДИ от 23,9 до 55,0 %). Среди них в одном случае выявлялась несинонимичная нуклеотидная трансция с. 1636 A>G в сочетании с несинонимичной трансверсией с. 1621 A>C и синонимичной заменой с. 1821 T>C (2,9 %, при 95 % ДИ от 0,5 до 14,9 %), в одном – делеция, соответствующая экзонам 10 и 11 (2,9 %, при 95 % ДИ от 0,5 до 14,9 %), в двух – несинонимичная трансверсия с. 1621 A>C в сочетании с синонимичной с. 2586 G>C (5,9 %, при 95 % ДИ от 1,6 до 19,1 %), в девяти – различные синонимичные замены (26,5 %, при 95 % ДИ от 14,6 до 43,1 %). В целом наиболее часто среди функционально значимых мутаций в исследуемой группе выявлялась замена с. 1621 A>C, определявшаяся в 5 пробах (7,5 %, при 95 % ДИ от 3,2 до 16,3 %). Однако, по данным литературы, она является полиморфным аллельным вариантом и не имеет патогенетического значения в развитии опухолей [6, 7]. Выявленные синонимичные замены с. 1638 A>G (n=9, 13,4 %, при 95 % ДИ от 7,2 до 23,6 %), с. 2586 G>C – (n=7, 13,4 %, при 95 % ДИ от 5,2 до 20,0 %) и с. 2394 C>T (n=1, 1,5 %, при 95 % ДИ от 0,2 до 8,0 %) не приводят к изменению структуры кодируемого белка, а потому также не могут рассматриваться как генетические события, являющиеся драйверными в лейкогенезе.

Инсерции в экзоне 12 гена NPM1 определялись в 3 биообразцах (5,4 %, при 95 % ДИ от 1,8 до 14,6 %) при ОМЛ М1 с заменами с. 1621 A>C и с. 2586 G>C с-Kit, ОМЛ М4 с полиморфизмом с. 2394 C>T, а также ОМЛ М4 с делецией n. Del. 1529–1774 в сочетании с несинонимичной заменой с. 2586 G>C. В двух случаях при морфологическом варианте М4 пациенты были из группы 15–45 лет, в одном, при М1, – старше 60 лет. В прочих исследованных пробах изменения в гене NPM1 не выявлялись.

Для проверки предположения, что выявленные миссенс-мутации, делеции и инсерция могут обладать онкогенным потенциалом, проведено компьютерное моделирование структуры мутантного с-Kit с использованием распределенной сети предсказания структуры белка.

Оказалось, что миссенс-мутация с. 2447 A>T, выявленная у больной молодого возраста с ОМЛ М4 и трисомией хромосом 4 и 21, приводящая к замене остатка аспарагиновой кислоты на валин в положении 816 активационной петли (р. 816 D>V), индуцировала структурные нарушения двух типов. Их можно определить как эффекты ближнего действия, влияющие на непосредственное окружение «горячей точки» на расстоянии менее 10 Å, и дальнедействующие, когда структурное возмущение затрагивает удаленные области в последовательности белка. К первым относится локальное изменение структуры активационной петли, заключающееся в нарушении формирования водородной связи между Asp816 и Asn819, приводящее к разворачиванию 3₁₀-спирали (рис. 1). Это небольшой участок А-петли, включающий остаток аминокислот в положениях 817–819 и служащий для стабилизации петли в «закрытой» конформации, характерной для аутоингибированного состояния. Лиганд-зависимая активация с-Kit «дикого» типа сопровождается аналогичным разворачиванием спирали в β-цепь, что повышает гибкость активационной петли и способствует ее переходу в «открытую» конформацию.

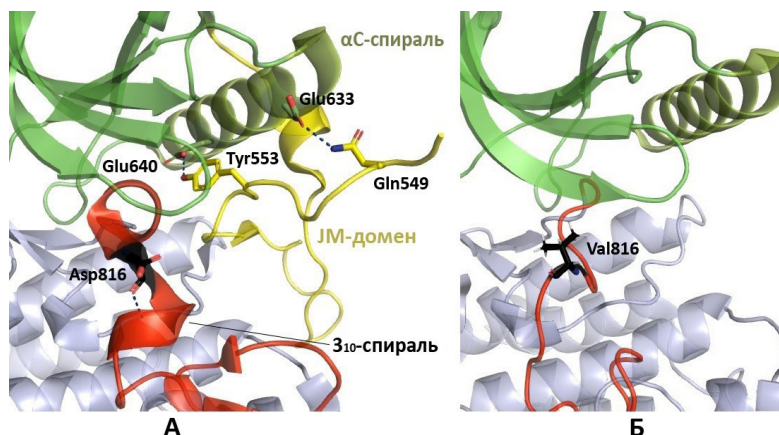


Рис. 1. Структура активационной петли с-Kit WT, включающая 3₁₀-спираль (А) и нарушение ее формирования при D816V (Б). Пунктирными линиями обозначены водородные связи, важные для сохранения аутоингибированного состояния белка

При мутации р. 816 D>V структура А-петли исходно не содержит 3₁₀-спираль и способна к спонтанной активации вне зависимости и наличия лиганда и димеризации рецептора.

Дальнедействующий эффект замены р. 816 D>V заключался в важной структурной перестройке юстамембранного (JM) домена на расстоянии более 15 Å от локализации точечной мутации. Это явление исследовано *in silico* методом молекулярной динамики и проявляется в дрейфе сегмента JM-S от исходного положения вблизи С-домена [8, 9]. Оно может способствовать спонтанной транспозиции JM-региона за пределы каталитически активной области, что приводит к высвобождению сайтов фосфорилирования и связывания с субстратом и инициирует переход белка с-Kit в активное состояние. Возможное объяснение эффекта заключается в ослаблении сети стабилизирующих взаимодействий между JM-доменом и N- и С-тирозинкиназными доменами при мутации р. 816 D>V.

Описанные структурные нарушения в области входа в активную область белка обуславливают резистентность ОМЛ с р. 816 D>V к таргетной терапии иматинибом из-за невозможности корректного связывания молекулы препарата с целевыми остатками аминокислот. Вместе с тем опухолевые клетки могут быть химиочувствительными к таким ингибиторам тирозинкиназ, как понатиниб и нилотиниб [10].

Еще в одном случае при ОМЛ М2 у больного старческого возраста в биоматериале одновременно присутствовали две несинонимичные замены с. 1621 A>C и с. 1636 A>G, а также синонимичная трансция с. 1821 T>C, при этом каких-либо хромосомных мутаций с использованием ПЦР-метода выявлено не было, а кариотип лейкозных клеток уточнить не удалось из-за отсутствия в препарате качественных метафазных пластинок. Известно, что трансверсия с. 1621 A>C локализована в экзоне 10 и приводит к замене остатка метионина на лейцин в положении 541 (р. 541 M>L). Он локализован в терминальном отделе α-спирали трансмембранного домена, при этом 3D-моделирование показало, что боковые цепи аминокислот как нормального (рис. 2А), так и мутантного белков (рис. 2Б) не участвуют в каких-либо стабилизирующих взаимодействиях. Это подтверждает значение замены с. 1621 A>C как аллельного полиморфизма, не играющего роли в онкогенезе острых лейкозов.

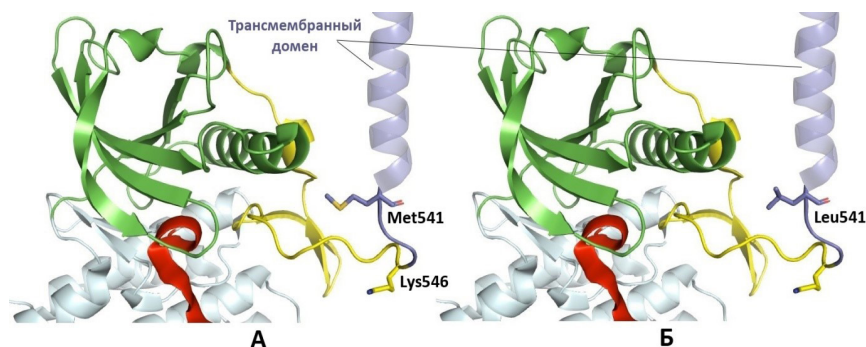


Рис. 2. Структура терминального отдела трансмембранного домена белка c-Kit WT (А) и в случае полиморфизма М541L (Б)

Вторая миссенс-мутация – транзиция с. 1636 А>G также была локализована в экзоне 10 и повреждала остаток лизина в положении 546, относящийся к трансмембранному домену. Компьютерное моделирование показало, что мутация не оказывает существенного воздействия на третичную структуру белка и процессы димеризации, а также не является активирующей (рис. 2А). Таким образом, обе выявленные миссенс-мутации в экзоне 10 c-Kit не являются «горячими» точками мутагенеза и могут не учитываться при рутинном скрининге.

Выявленные у больных ОМЛ М4 с диплоидией и инсерцией NPM1 в возрасте 35 лет и М5 с неуточненным кариотипом в возрасте 63 лет делеции p. Del. 1529–1774 в гене c-Kit повреждали весь экзон 10 и часть экзона 11, кодирующие трансмембранный и юкстамембранный домены. Моделирование их влияния на структуру белка c-Kit представлено на рисунке 3. Отсутствие JM-домена не позволяет белку сохранять аутоингибированное состояние, при этом взаимная ориентация N- и C-концевых тирозинкиназных доменов не нарушена, активационная петля находится в активной конформации, что свидетельствует в пользу возможности сохранения каталитической активности. С другой стороны, отсутствие трансмембранного домена ставит под сомнение способность белка сохранять правильное внутриклеточное положение и участвовать в формировании активирующих путей. Вопрос функциональной активности мутантного белка при подобных молекулярных повреждениях требует дополнительного исследования с использованием методов молекулярной динамики. Интересно, что в обоих случаях выявленные делеции p. Del. 1529–1774 сочетались с однонуклеотидным полиморфизмом с. 2586 G>C (p. 862 L>L) и могли быть обусловлены нарушениями сплайсинга.

Инсерция в экзоне 10 c-Kit, выявленная у молодой больной бластной плазмочитойной дендритоклеточной опухолью с кариотипом 48, XX, add(1)(p36), +6, +8, локализовалась в том же участке гена, что и вышеописанные делеции. Соответственно также нарушался механизм ингибирования аутофосфорилирования рецептора, однако при сохранении структуры трансмембранного домена. Следовательно, в указанном случае также необходимо рассмотрение возможности применения ингибиторов тирозинкиназ для таргетного воздействия на молекулярное повреждение.

При проведении программной химиотерапии цитарабином в сочетании с антрациклинами наличие патогенетически значимых мутаций в гене c-Kit в большинстве случаев ассоциировалось с неблагоприятным прогнозом ОМЛ. Морфологические

варианты при этом соответствовали М4, М5 и бластной плазмочитойной дендритоклеточной опухоли. Медиана общей выживаемости больных не превышала 6 месяцев. В трех случаях отмечена первичная резистентность (в том числе при наличии в лейкозных клетках инсерции в экзоне 12 гена NPM1), еще в одном при ОМЛ М4 с трансверсией с. 2447 А>Т выполнена тандемная гаплоидентичная трансплантация костного мозга в первой ремиссии, ее продолжительность в настоящее время составила 45 месяцев.

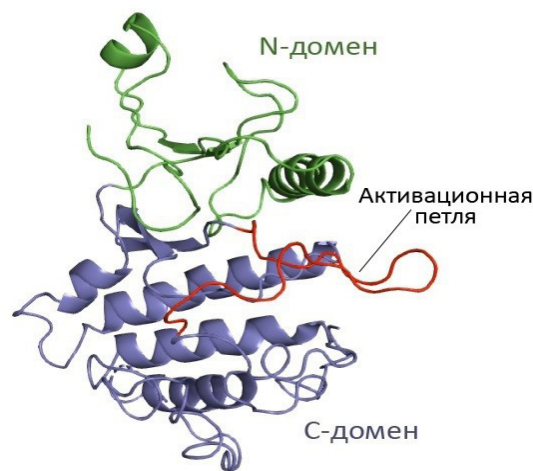


Рис. 3. Структура белка c-Kit при p. Del (1529; 1774). Зеленым и синим цветами выделены тирозинкиназные домены, красным отмечена активационная петля

Заключение. Таким образом, функционально значимые мутации в кодирующих последовательностях экзонов 7–12 и 16–19 гена c-Kit выявлены методом прямого автоматического секвенирования в 9 исследованных биообразцах (13,4 %, при 95 % ДИ от 7,2 до 23,6 %), из них 5 – в группе больных ОМЛ в возрасте 15–45 лет (15,2 %, при 95 % ДИ от 6,7 до 30,9 %), еще 4 (11,8 %, при 95 % ДИ от 4,7 до 26,6 %) – у пациентов пожилого и старческого возраста. В целом частота мутаций гена c-Kit у больных в зависимости от возрастной принадлежности статистически не отличалась. В 5,4 % наблюдений (при 95 % ДИ от 4,7 до 26,6 %) дополнительно выявлялись инсерции в экзоне 12 гена NPM1.

С использованием 3D-моделирования показано, что онкогенным потенциалом обладали лишь миссенс-мутация с. 2447 А>Т, а также инсерции и делеции (всего 4 наблюдения, 6,0 %, при 95 % ДИ от 2,3 до 14,4 %) гена c-Kit. При этом наиболее часто встречающаяся трансверсия с. 1621 А>С (5 случаев, 7,5 %, при 95 % ДИ от 3,2 до 16,3 %), как изолированная, так и в сочетании с транзицией с. 1636 А>G, не имела патогенетического значения при ОМЛ.

Полученные результаты должны учитываться при разработке у больных ОМЛ молодого, пожилого и старческого возрастов персонализированных программ лечения, включающих назначение таргетной терапии, включая ингибиторы тирозинкиназ, высокодозной химиотерапии и аллогенной трансплантации костного мозга.

Выводы

1. Частота детекции патогенетически значимых мутаций в кодирующих последовательностях экзонов 7–12 и 16–19 гена *c-Kit* у больных ОМЛ в возрасте 15–45 и старше 60 лет не имела статистически достоверных отличий и составляла 6,0 %.

2. Онкогенный потенциал выявленных мутаций гена *c-Kit* подтвержден методом молекулярного моделирования с использованием распределенной сети предсказания структуры белка.

3. Мутационный статус гена *c-Kit* должен учитываться при разработке персонализированных программ лечения ОМЛ, включающих применение ингибиторов тирозинкиназ, высокодозную химиотерапию и аллогенную трансплантацию костного мозга.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

1. Khwaja A., Bjorkholm M., Gale R. E., Levine R. L., Jordan C. T. [et al.]. Acute myeloid leukemia. *Nature Reviews. Disease Primers*. 2016;2:16010. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.10>
2. Arber D. A., Orazi A., Hasserjian R., Thiele J., Borowitz M. J. [et al.]. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391-2405. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-03-643544>
3. Long L., Assaraf Y. G., Lei Z. N., Peng H., Yang L. [et al.]. Genetic biomarkers of drug resistance: A compass of prognosis and targeted therapy in acute myeloid leukemia. *Drug Resistance Updates*. 2020;52:100703. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2020.100703>
4. 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;4:38-51. [Vinogradov A. V., Rezaykin A. V., Izotov D. V., Sergeev A. G. Primeneniye tekhnologii pryamogo avtomaticheskogo sekvenirovaniya dlya detektsii mutatsiy genov *ASXL1*, *DNMT3A*, *FLT3*, *KIT*, *NRAS*, *TP53* i *WT1* pri ostrykh miyeloidnykh leykozakh s neutochnenym kariotipom. *Vestnik Uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki*. – *Bulletin of the Ural Medical Academic Science*. 2016;4:38-51. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.22138/2500-0918-2016-14-4-38-51>
5. Виноградов А. В., Резайкин А. В., Сазонов С. В., Сергеев А. Г., Капитонова М. Ю. Молекулярно-генетический анализ мутаций в генах *ASXL1*, *FLT3*, *KIT*, *NPM1*, *NRAS*, *TP53* и *WT1* у больных острыми миелоидными лейкозами зрелого возраста. *Медицинский вестник*

- Северного Кавказа*. 2020;15(1):32-36. [Vinogradov A. V., Rezaykin A. V., Sazonov S. V., Sergeev A. G., Kapitonova M. Yu. Molekulyarno-geneticheskij analiz mutatsij v genakh *ASXL1*, *FLT3*, *KIT*, *NPM1*, *NRAS*, *TP53* i *WT1* u bol'nykh ostryimi mieloidnymi lejkozami zrelogo vozrasta. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza*. – *Medical News of North Caucasus*. 2020;15(1):32-36. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15006>
6. Dufresne A., Alberti L., Brahmi M., Kabani S., Philippon S. [et al.]. Impact of KIT exon 10 M541L allelic variant on the response to imatinib in aggressive fibromatosis: analysis of the desminib series by competitive allele specific Taqman PCR technology. *BMC Cancer*. 2014;(14):632. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-632>
7. Hoade Y., Metzgeroth G., Schwaab J., Reiter A., Cross N. C. P. Routine Screening for KIT M541L Is Not Warranted in the Diagnostic Work-Up of Patients with Hypereosinophilia. *Acta Haematologica*. 2018;139(2):71-73. <https://doi.org/10.1159/000485959>
8. Laine E., de Beauchene I. C., Perahia D., Auclair C., Tchertanov L. Mutation D816V Alters the Internal Structure and Dynamics of c-Kit Receptor Cytoplasmic Region: Implications for Dimerization and Activation Mechanisms. *PLoS Computational Biology*. 2011;7(6):e1002068. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002068>
9. Raghav P. K., Singh A. K., Gangenahalli G. A. Change in Structural Integrity of c-Kit Mutant D816V Causes Constitutive Signaling. *Mutation Research*. 2018;808:28-38. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2018.02.001>
10. Babaei M. A., Kamalideghan B., Saleem M., Huri H. Z., Ahmadipour F. Receptor tyrosine kinase (c-Kit) inhibitors: a potential therapeutic target in cancer cells. *Drug Design, Development and Therapy*. 2016;(10):2443-2459. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S89114>

Сведения об авторах:

Виноградов Александр Владимирович, кандидат медицинских наук, главный специалист отдела организации медицинской помощи взрослому населению, врач-гематолог; тел.: 89089093135; e-mail: a.vinogradov@egov66.ru; <http://orcid.org/0000-0002-2033-3422>

Изотов Денис Владимирович, ординатор; e-mail: phoenus@ya.ru

Резайкин Алексей Васильевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры медицинской физики, математики и информатики; тел.: 89126785460; e-mail: alexrez@usma.ru; <http://orcid.org/0000-0002-8665-5299>

Сазонов Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии; тел.: 89122439164; e-mail: sazonov@usma.ru; <http://orcid.org/0000-0001-7064-0079>

Щетинин Евгений Вячеславович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии; тел.: (8652)352524; e-mail: ev.cliph@rambler.ru; <http://orcid.org/0000-0001-6193-8746>

Бобрышев Дмитрий Викторович, кандидат медицинских наук, начальник центра персонализированной медицины; тел.: (8652)357369; e-mail: bobryshevrg@ya.ru; <http://orcid.org/0000-0002-3947-4786>

Сергеев Александр Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии; тел.: 89126862914; e-mail: sergeev@usma.ru