

Cellular Therapy and Transplantation

Клеточная терапия и трансплантация

cttjournal.com

CTT Impact Factor (Scopus CiteScore) is 0.50 (2019)

Импакт-фактор (Scopus CiteScore) журнала

«Клеточная терапия и трансплантация» составляет 0,50 (2019 г.)

ISSN 1866-8836 (online)

ISSN 1867-416X (printed version)

doi: 10.18620/ctt-1866-8836-2020-9-3-1-152

Editor-in-Chief:

Kulagin A. D. (St. Petersburg, Russia)

Co-Editors-in-Chief:

Wagemaker G. (Rotterdam, Netherlands)

Zander A. R. (Hamburg, Germany)

Deputy Editor:

Fehse B. (Hamburg, Germany)

Managing Editor:

Chukhlovin A. B. (St. Petersburg, Russia)

Editorial Board:

Aleynikova O. V. (Minsk, Belarus)

Borset M. (Trondheim, Norway)

Chechetkin A. V. (St. Petersburg, Russia)

Fibbe W. (Leiden, Netherlands)

Galibin O. V. (St. Petersburg, Russia)

Hölzer D. (Frankfurt a.M., Germany)

Klimko N. N. (St. Petersburg, Russia)

Kolb H.-J. (München, Germany)

Kröger N. (Hamburg, Germany)

Lange C. (Hamburg, Germany)

Mamaev N. N. (St. Petersburg, Russia)

Mikhailova N. B. (St. Petersburg, Russia)

Moiseev I. S. (St. Petersburg, Russia)

Nagler A. (Tel-Aviv, Israel)

Nemkov A. S. (St. Petersburg, Russia)

Paramonov I. V. (Kirov, Russia)

Roumiantsev A. G. (Moscow, Russia)

Savchenko V. G. (Moscow, Russia)

Smirnov A. V. (St. Petersburg, Russia)

Uss A. L. (Minsk, Belarus)

Zubarovskaya L. S. (St. Petersburg, Russia)

Volume 9 Number 3

Том 9 Номер 3

CTT Journal Archive

<http://cttjournal.com/archive.html>

Архив журнала КТТ

<http://cttjournal.com/archive.html?&L=1>

The Journal founders:

University Medical Center

Hamburg-Eppendorf (Germany),

First St. Petersburg I. Pavlov State

Medical University (Russia),

and Foundation for Development

of Bone Marrow Transplantation

(St. Petersburg, Russia)

Учредители журнала:

Университетский медицинский центр

Гамбург-Эппендорф (Германия),

Первый Санкт-Петербургский

государственный медицинский

университет им. И. П. Павлова (Россия)

и Фонд развития трансплантации

костного мозга, Санкт-Петербург

Издание зарегистрировано

В Федеральной службе по надзору

за соблюдением законодательства

в сфере массовых коммуникаций

и охране культурного наследия,

Свидетельство о регистрации

ПИ № ФС-22142 от 27 октября 2005 г.

ISSN: 1867-416X; E-ISSN:1866-88-36

Изготовление оригинал-макета:

ООО «Дизайн-студия «М-Квадрат»,

г. Санкт-Петербург

М. Маликова, М. Булан, Ж. Карбутова.

Design and layout by

"Design Studio M-Kvadrat", LLC,

St. Petersburg

M. Malikova, M. Bulan, Zh. Karbutova.

Отпечатано в типографии «Светлица»,

г. Санкт-Петербург.

Бумага – мелованная глянцевая,

115 г/м²; обложка – мелованная

глянцевая, 250 г/м².

Тираж 500 экз.

Printing house "Svetlitsa",

Saint Petersburg.

Gloss paper, 115 g/m²; cover – gloss paper,

250 g/m².

This journal is published in 500 copies.

Главный редактор:

Кулагин А. Д. (Санкт-Петербург, Россия)

Со-редакторы:

Вагемакер Г. (Роттердам, Нидерланды)

Цандер А. Р. (Гамбург, Германия)

Заместитель главного редактора:

Фезе Б. (Гамбург, Германия)

Ответственный редактор:

Чухловин А. Б. (Санкт-Петербург, Россия)

Редакционная коллегия:

Алейникова О. В. (Минск, Беларусь)

Борсет М. (Трондхейм, Норвегия)

Галибин О. В. (Санкт-Петербург, Россия)

Зубаровская Л. С.

(Санкт-Петербург, Россия)

Климко Н. Н. (Санкт-Петербург, Россия)

Кольб Х. (Мюнхен, Германия)

Крегер Н. (Гамбург, Германия)

Ланге К. (Гамбург, Германия)

Мамаев Н. Н. (Санкт-Петербург, Россия)

Михайлова Н. Б.

(Санкт-Петербург, Россия)

Моисеев И. С. (Санкт-Петербург, Россия)

Наглер А. (Тель-Авив, Израиль)

Немков А. С. (Санкт-Петербург, Россия)

Парамонов И. В. (Киров, Россия)

Румянцев А. Г. (Москва, Россия)

Савченко В. Г. (Москва, Россия)

Смирнов А. В. (Санкт-Петербург, Россия)

Усс А. Л. (Минск, Беларусь)

Фиббе В. (Лейден, Нидерланды)

Хельтцер Д.

(Франкфурт-на-Майне, Германия)

Чечеткин А. В. (Санкт-Петербург, Россия)

The articles published in CTT

are provided under the following license:

Creative Commons Attribution 3.0

Unported, [http://creativecommons.org/](http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/)

[licenses/by/3.0/](http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/)

Журнал включен в Перечень ведущих

рецензируемых научных журналов и

изданий для опубликования основных

научных результатов диссертаций на

соискание ученых степеней доктора

и кандидата наук (перечень ВАК

Министерства образования и науки РФ).

AL-06

Loss of heterozygosity in the short tandem repeat (STR) profile of tumor DNA of *de novo* diagnosed ALL patients as a pattern of abnormal karyotype

Natalya V. Risinskaya¹, Yana A. Kozhevnikova², Valeriya A. Kovaleva², Olga A. Gavrilina¹, Julia A. Chabaeva¹, Anna A. Yushkova¹, Natalia S. Kostritsa², Sergei M. Kulikov¹, Elena N. Parovichnikova¹, Andrey B. Sudarikov¹

¹ National Research Center for Hematology, Moscow, Russia; ² School of Medicine, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Contact: Dr. Natalya V. Risinskaya, e-mail: risinska@gmail.com

Introduction

Genetic instability of tumor cells can lead to a change in the profile of short tandem repeats (STR) of the tumor relative to the STR profile of healthy cells of the patient. Loss of heterozygosity or allelic imbalance in STR loci confirm the chromosomal aberrations revealed by standard cytogenetic analysis in chromosomes containing this STR locus: deletions, monosomies, duplications, and the appearance of isochromosomes. However, in some patients, the loss of heterozygosity is also observed with a normal tumor karyotype. Our objective was to evaluate correlations between the loss of heterozygosity in blast cells of *de novo* diagnosed ALL patients and chromosomal aberrations revealed by standard cytogenetic analysis, as well as to verify hidden abnormalities in the case of discrepancies between cytogenetic data and molecular analysis of the STR profile of the tumor.

Materials and methods

Analysis of STR profiles of tumor cells was performed in 88 patients with *de novo* diagnosed Ph-negative ALL undergoing treatment according to the RALL-2016 protocol at the National Research Center of Hematology (Moscow, Russia). The patients were 18-55 years old, 53 men and 35 women. DNA was isolated from bone marrow samples taken from patients at diagnosis. Control DNA samples were taken from the blood of patients in complete remission and/or from the buccal epithelium. STR profiles for each pair of tumor/control samples were obtained by multiplex PCR using the CoDIS Plus kit (Gordiz, Moscow), followed by fragment analysis of PCR products on an ABI 3130 genetic analyzer (ThermoFisher Scientific, USA). Chromosomal microarray (CMA) of DNA with a detected loss of heterozygosity in STR loci was performed at the Genomed molecular pathology laboratory using the Genoscan 3000 system.

Results

Normal tumor karyotype was established for 37 patients,

and abnormal karyotypes were found in 51 cases. When analyzing the STR profiles of DNA from tumor and healthy cells of each patient, we found a loss of signal from one of a pair of alleles at heterozygous STR loci in twenty patients (23%). Seven of them had a normal tumor karyotype. Also, in the case of an abnormal STR karyotype, the loci with loss of heterozygosity did not always belong to aberrant chromosomes. Chromosomal microarray revealed the presence of uniparental disomy of the shoulder, or the entire chromosome, which was cytogenetically normal, but carried an STR locus with loss of heterozygosity. In one patient with a normal karyotype, a 9p21.3 (21656682_22304230) x0 microdeletion affects the region of uniparental disomy at 9p (24.3-13.3). As a result, a cluster of MTAP, CDKN2A-AS1, CDKN2A, CDKN2B-AS1, CDKN2B genes containing three oncosuppressor genes involved in the regulation of antiproliferative and proapoptotic activities of Rb1 and p53, was completely absent from the tumor cell genome. Preliminary analysis had shown, that the LOH presents a significance risk factor for dismal prognosis. [HR= 4.1 (ci95 1.1-15.6)].

Conclusion

Analysis of STR-profile in the tumor cells confirms and supplements the data of cytogenetic analysis, and also reveals abnormal karyotype in the absence of mitoses in the sample. Moreover, LOH detection in cases of normal tumor karyotype reveals the phenomenon of uniparental disomy, hidden chromosomal aberration, which is often the cause for transition of oncogenic mutations to homozygous form, thus aggravating prognosis of the disease.

Acknowledgement

This study was supported by a Rakfond grant 5/2019.

Keywords

Loss of heterozygosity (LOH), *de novo* diagnosed ALL, hidden chromosomal abnormalities, uniparental disomy.

Потеря гетерозиготности в профиле коротких tandemных повторов (STR) опухолевой ДНК у пациентов с *de novo* диагностированным острым лимфобластным лейкозом как паттерн аномального кариотипа опухоли

Наталья В. Рисинская¹, Яна А. Кожевникова², Валерия А. Ковалева², Ольга А. Гаврилина¹, Юлия А. Чабаева¹, Анна А. Юшкова¹, Наталья С. Кострица², Сергей М. Куликов¹, Елена Н. Паровичникова¹, Андрей Б. Судариков¹

¹ Национальный медицинский исследовательский центр гематологии Минздрава России; ² Факультет Фундаментальной Медицины Московского Государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Введение

Генетическая нестабильность опухолевых клеток может приводить к изменению профиля коротких tandemных

повторов (STR) опухоли относительно STR профиля здоровых клеток пациента. Потеря гетерозиготности или аллельный дисбаланс в STR локусах подтверждают

выявленные стандартным цитогенетическим анализом хромосомные aberrации в содержащих данный STR локус хромосомах: делеции, моносомии, дубликации, появление изохромосом. Однако у некоторых пациентов потеря гетерозиготности наблюдается и при нормальном кариотипе опухоли. Цель работы: проанализировать связь потери гетерозиготности в бластных клетках пациентов с впервые диагностированным острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) с выявленными стандартным цитогенетическим анализом хромосомными aberrациями и верифицировать скрытые аномалии при расхождении данных цитогенетики и молекулярного анализа STR профиля опухоли.

Материалы и методы

Анализ STR-профилей ДНК опухолевых клеток был выполнен для 88 пациентов с диагностированным *de novo* Ph-негативным ОЛЛ, проходящих лечение по схеме «ОЛЛ-2016» в Национальном исследовательском центре гематологии (г. Москва, Россия). Возраст пациентов 18-55 лет, 53 мужчины и 35 женщин. ДНК была выделена из образцов костного мозга, взятых у пациентов при постановке диагноза. Контрольные образцы ДНК брали из крови пациентов в состоянии полной ремиссии и/или из буккального эпителия. STR-профили для каждой пары образцов ДНК пациента (опухоль/контроль) получали методом мультиплексной ПЦР с использованием набора праймеров к 19 STR-локусам и локусу амелогенина человека COrDIS Plus (Гордиз, Москва) с последующим фрагментным анализом ПЦР-продуктов на генетическом анализаторе ABI 3130 (ThermoFisher Scientific, USA). Хромосомный микроматричный анализ (ХМА) ДНК с выявленной потерей гетерозиготности в STR-локусах был выполнен на базе лаборатории молекулярной патологии «Геномед» с использованием системы Геноскан 3000.

Результаты и обсуждение

Нормальный цитогенетический кариотип опухоли был установлен для 37 пациентов, аномальный кариотип – для 51 пациента. Анализируя STR-профили ДНК из опухолевых и здоровых клеток каждого пациента, мы наблюдали потерю сигнала от одного из пары аллелей в ге-

терозиготных STR-локусах у двадцати пациентов (23%). У семерых из них был установлен нормальный кариотип опухоли. Кроме того, и при аномальном кариотипе STR локусы с потерей гетерозиготности не всегда принадлежали aberrантным хромосомам. Методом хромосомного микроматричного анализа было выявлено наличие однородительской дисомии плеча или всей хромосомы, нормальной по данным цитогенетического анализа, но несущей STR-локус с потерей гетерозиготности. У одного пациента с нормальным кариотипом в область однородительской дисомии 9p(24.3-13.3) попала микроделеция 9p21.3(21656682_22304230)x0, в результате кластер генов MTAР,CDKN2A-AS1,CDKN2A,CDKN2B-AS1,CDKN2B, содержащий три гена-онкосупрессора, продукты которых участвуют в регуляции антипролиферативной и проапоптотической активности Rb1 и p53, вообще не представлен в геноме опухоли. Предварительные результаты анализа общей выживаемости показали, что наличие потери гетерозиготности является значимым фактором неблагоприятного прогноза. В группе с потерей гетерозиготности вероятность неблагоприятного события (смерти) в 4.11 (ci95 1.08-15.63) раза выше.

Заключение

Анализ STR-профиля опухоли подтверждает и дополняет данные цитогенетического анализа, а также выявляет аномальный кариотип в случае отсутствия митозов в клетках образца. Кроме того, ПГ при нормальном кариотипе опухоли выявляет феномен однородительской дисомии, часто являющийся причиной перехода онкогенных соматических мутаций в гомозиготную форму, что отягощает прогноз заболевания.

Благодарность

Работа выполнена при поддержке Ракфонда, грант №5/2019.

Ключевые слова

Потеря гетерозиготности (ЛОН), *de novo* диагностированный ОЛЛ, хромосомные aberrации, скрытые хромосомные аномалии, однородительская дисомия.

AL-07

Donor lymphocyte Infusion for the prevention and treatment of acute leukemia relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adults

Anna G. Smirnova, Sergey N. Bondarenko, Ivan S. Moiseev, Bella I. Ayubova, Elena V. Babenko, Ildar M. Barkhatov, Alexander D. Kulagin, **Boris V. Afanasyev**

RM Gorbacheva Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov University, St. Petersburg, Russia

Contact: Dr. Anna Smirnova, e-mail: dr.annasmirnova@gmail.com

Introduction

Donor lymphocyte infusion (DLI) is one of the options for treating relapse of acute leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT), regardless of the type of leukemia, donor type and the period after allo-HSCT. The advantages of DLI includes the option of vary-

ing the lymphocyte dosage, and a combination with chemotherapy (ChT) and targeted therapy (TT). The main limiting factor for DLI is a risk of severe induced GVHD after DLI (indGVHD). The aim of this study was to assess efficacy and safety of DLI depending on the indications, type of donor and the dosage of lymphocytes.