Миелопролифератив эмгэгийн үед *JAK2 V617F* генийн мутацийг тодорхойлсон дүн

Г.Чанцалдулам[1,2], Б.Пүрэвбуян[2], Б.Буяндэлгэр[2], Э.Солонго[2], Ж.Одонгоо[2], Д.Отгонбямба[2], Х.Нурлан[2], С.Нурбол[2], Э.Баасансүрэн[2], Г.Явуухулан[2], Ж.Сарантуяа[1], Я.Мөнхдэлгэр[1]

[1]АШУҮИС, Био-АС, Молекул биологи-Удамзүйн тэнхим
[2]Бонавита ХХК, Молекул биологи, Генетикийн лаборатори
Цахим шуудан: fbm24e006@gt.mnums.edu.mn, Утас: 96258382

Түлхүүр үг:

Жинхэнэ полицитеми
Жинхэнэ тромбоцитеми
Анхдагч миелофиброз
БхПГУ

Товч утга:

Үндэслэл: Миелопролифератив эмгэг *JAK2, CALR, MPL* зэрэг генийн мутацийн шалтгаантай үүсэх нь түгээмэл байдаг. Дэлхий дахинд миелопролифератив эмгэгийн шалтгаант нас баралтын түвшин бусад хорт хавдартай харьцуулахад харьцангүй бага хувьтай байдаг хэдий ч амь насанд эрсдэл учруулах боломж одоог хүртэл өндөр хэвээр байна. Хөгжингүй орнуудад миелопролифератив эмгэгийн эрт илрүүлэг, оношилгоо сайжирсаар байгаа нь тохиромжтой эмчилгээг эхлэх, эмчилгээний үр дүнг хянах боломжийг бүрдүүлж байна. Манай оронд энэ төрлийн генийн мутацийн шинжилгээ тогтмол хийгддэгүй учир өвчний оношийг бататгах, тохирох эмчилгээг эхлэх боломж хомс байгаа нь бидний судалгааны ажлын үндэслэл боллоо. **Зорилго:** *JAK2 V617F* генийн мутацийг бодит хугацааны полимеразын гинжин урвал (бхПГУ)-ын шинжилгээгээр илрүүлэх. **Арга, аргачлал:** Бид энэхүү судалгааг агшингийн судалгааны загвараар, магадлалт бус түүврийн аргаар хийж гүйцэтгэлээ. Судалгаанд хамрагдахыг зөвшөөрсөн 77 оролцогчоос 5-10 мл цус цуглуулж, дезоксирибонуклейн хүчлийг (ДНХ) ялгалаа. Ингээд *JAK2 V617F* генийн мутаци тодорхойлох бхПГУ-ын шинжилгээг Light Cycler480 төхөөрөмж ашиглан хийж гүйцэтгэв. Шинжилгээний үр дүнг тархалтын муруй байгуулж Microsoft excel болон SPSS 26.0 программыг ашиглан үнэллээ. **Үр дүн:** Судалгаанд 22-82 насны 77 үйлчүүлэгч хамрагдсаны 25 (32.5%) нь эрэгтэй, 52 (67.5%) нь эмэгтэй байв. Нийт эрэгтэй оролцогчдын 12 (48%), эмэгтэй оролцогчдын 30 (57.7%) тохиолдолд *JAK2 V617F* генийн мутаци тодорхойлогдлоо. *JAK2 V617F* генийн мутаци илэрсэн 42 оролцогчын дундаж нас 60.6±12.3 (34-82) жил байлаа. **Дүгнэлт:** Миелопролифератив эмгэг сэжиглэгдсэн нийт оролцогчдын 54.5%-д *JAK2 V617F* генийн мутаци тодорхойлогдож, цаашид бай эмчилгээнд хамрагдах боломжтой боллоо.

Үндэслэл: *JAK2* ген нь 9 дүгээр хромосомын 9p24.1 локуст байрладаг 28 экзонтой бөгөөд эсийн хуваагдал, ялгаран хөгжилд чухал үүрэг гүйцэтгэдэг[1] *JAK2* генийн 14-р экзоны 1849 дахь гуанины нуклеотид тиминээр солигдож үүссэн минсенс мутацийн улмаас *JAK2* уургийн 617 дахь валин амин хүчил фенилаланинаар солигддог. Ингэснээр *JAK2* уургийн зохицуулгын үйл ажиллагаа алдагдаж, миелопролифератив эмгэг үүсэх шалтгаан болдог.[2]

Судлаач Moulard O (2014) нар Европын холбооны улсуудын хүн амд хийсэн судалгаагаар миелопролифератив эмгэг нь жилд 100000 хүн ам тутам 2-3 тохиолдол бүртгэгддэг бөгөөд энэ тоо нь цаашид өсөх хандлагатай байгааг дурьдсан байна.[3,4,5,6] Дэлхийн эрүүл мэндийн байгууллага (ДЭМБ)-аас миелопролифератив эмгэгийг архаг миелойд лейкеми, архаг нейтрофилийн лейкеми, архаг эозинофилийн лейкеми, анхдагч миелофиброз, жинхэнэ полицитеми, жинхэнэ тромбоцитеми гэж ангилдаг.[7,8] Жинхэнэ полицитемитэй өвчтнүүдийн 95-98%, анхдагч миелофиброзтой өвчтнүүдийн 50-60%, жинхэнэ тромбоцитемитэй өвчтнүүдийн 50%-д нь *JAK2 V617F* генийн мутаци илэрдэг болохыг судлаачид тогтоосон байна.[9]

Жинхэнэ тромбоцитеми оношлогдсон өвчтөн тохирох эмчилгээнд хамрагдсанаас хойшхи

5 жил эсэн мэнд амьдрах чадвар эрүүл хүнтэй адил, жинхэнэ полицитемигийн үед 85% байдаг бол анхдагч миелофиброзын үед 55%, 25 жил амьдрах чадвар 10% болж буурч нас баралтын түвшин өндөр байдгийг судлаачид дурьдсан байна.[10,11]

Олон улсын хавдрын үндэсний цогц сүлжээ (NCCN)-нээс гаргасан удирдамжид *JAK2 V617F* генийн мутаци илэрч анхдагч миелофиброз эмгэг оношлогдсон өвчтөнд руксолитиниб, пакриниб эмүүдийг эмчилгээний зорилгоор хэрэглэхийг зөвлөдөг бол жинхэнэ полицитеми болон жинхэнэ тромбоцитемийн үед гидроксиура, пегинтерферон альфа-2a, руксолитиниб эмүүдийг зөвлөдөг байна.[12,13] Тиймээс миелопролифератив эмгэгүүдийн оношийг тодруулах, эмийн тун болон эмчилгээний үр дүнг хянах зорилгоор *JAK2 V617F* генийн мутацийг илрүүлэх зайлшгүй шаардлагатай. Олон улсад энэ төрлийн генийн мутаци илрүүлэх шинжилгээг аллель өвөрмөц полимеразын гинжин урвал, бодит хугацааны полимеразын гинжин урвал болон нуклеотидын дараалал тодорхойлох аргуудаар хийж байна.[14] Манай оронд энэ төрлийн генийн мутацийн шинжилгээ тогтмол хийгддэггүй учир өвчний оношийг бататгах, эмчилгээний аргыг сонгох, эмчилгээний үр дүнг хянах боломж хомс байгаа нь бидний энэхүү судалгааг хийх үндэслэл боллоо.

Зорилго: *JAK2 V617F* генийн мутацийг бодит хугацааны полимеразын гинжин урвалын шинжилгээгээр илрүүлэх

Арга, аргачлал: Судалгааг агшингийн судалгааны загвараар, магадлалт бус түүврийн аргаар хийж гүйцэтгэлээ. Энэхүү судалгаанд “Бонавита” ХХК лабораторийн Молекул биологи, Генетикийн лабораторид хандсан, миелопролифератив эмгэг сэжиглэгдэж байгаа 77 үйлчлүүлэгчийг хамруулаа. Судалгааны ажлыг эхлүүлэх ёс зүйн зөвшөөрлийг АШУҮИС-ийн Судалгааны ёс зүйн хяналтын хорооны хурлаар (хурлын тэмдэглэл №/Д2024/3/06) хэлэлцүүлэн ёс зүйн зөвшөөрөл авч хийж гүйцэтгэлээ. Судалгаанд оролцогчдын захын цуснаас 5-10 мл бүхэл цусыг ЭДТА агуулсан 3 хуруу шилэнд авч, хурилдуурт 3500 rpm хурдаар эргэлдүүлэн цагаан эсийн бөөгнөрлийг (buffy coat) ялган авав. Герман улсын QIAGEN үйлдвэрлэгчийн QIAamp® ДНХ ялгах цомог ашиглан ДНХ ялган, гарц цэвэршилт үнэллээ. Ipsogen *JAK2* MutaScreen цомог (Герман, QIAGEN) ашиглан Light-Cycler 480 төхөөрөмжид *JAK2 V617F* генийн мутаци тодорхойлох бхПГУ-ын шинжилгээг хийж гүйцэтгэв. Шинжилгээнд *V617F* эерэг хяналт, *V617F* сөрөг хяналт, COS хяналтыг ашиглан тархалтын муруйг байгуулж, Microsoft excel, SPSS 26.0 программыг ашигласан. Бүлэг хоорондын хамаарлыг T тестийг ашиглан тооцооллоо.

Үр дүн: Судалгаанд 22-82 насны 77 оролцогч хамрагдсанаас 25 (32.5%) нь эрэгтэй, 52 (67.5%) нь эмэгтэй байв. Нийт эрэгтэй оролцогчдын 12 (48%), эмэгтэй оролцогчдын 30 (57.7%) тохиолдолд *JAK2 V617F* генийн мутаци илэрлээ. *JAK2 V617F* генийн мутаци илэрсэн 42 оролцогчын дундаж нас 60.6±12.3 (34-82) жил байлаа. *JAK2 V617F* генийн мутаци илэрсэн болон илрээгүй оролцогчдод нас, хүйсийн зэрэг үзүүлэлтүүдийн хооронд статистик ач холбогдол ажиглагдсангүй ялгаагүй байна (p=0.424). (Хүснэгт 1)

Хүснэгт 1. Судалгаанд оролцогчдын ерөнхий мэдээлэл

Үзүүлэлт		*JAK2 V617F* генийн мутаци илэрсэн байдал		p утга
		илэрсэн (n=42)	илрээгүй (n=35)	
Нас (жилээр)		60.6±12.3	50.8±15.4	
Хүйс	эрэгтэй	12	10	>0.05
	эмэгтэй	30	25	

Хэлцэмж: Миелопролифератив эмгэг нь ховор өвчинд тооцогддог хэдий ч сүүлийн жилүүдэд тархалтын тоо дэлхий даяар өсөх хандлага ажиглагдаж байна. Манай орны хувьд энэхүү эмгэгийн тархалтын тоо баримтын талаарх судалгаа, өгүүлэл хараахан нийтлэгдээгүй байна. ДЭМБ-ын зөвлөмжид миелопролифератив эмгэг сэжиглэгдсэн оролцогчдод лабораторийн шинжилгээгээр захын цусны шинжилгээ, мөн *JAK2 V617F, CALR, MPL* зэрэг генийн мутацийг илрүүлэх бхПГУ-ын шинжилгээг зөвлөдөг.[7]

Lu N (2023) нар захын цус болон ясны чөмгөнд *JAK2 V617F* генийн мутацийг илрүүлсэн судалгаандаа *JAK2 V617F* генийн мутаци илэрсэн оролцогчдын дундаж нас эрэгтэйд 63.33 (37-82) жил, эмэгтэйд 62.58 (43-85) жил байсан бол бидний судалгааны оролцогчдын дундаж нас 60.6±12.3 жил байгаа нь миелопролифератив эмгэг ихэвчлэн 60-аас дээш насны хүмүүст тодорхойлогддогтой дүйж байна.[15]

Karantanos.T (2020) нар жинхэнэ полицитеми, жинхэнэ тромбоцитеми эмгэг нь эрэгтэйчүүдээс илүү эмэгтэйчүүдэд оношлогдох хандлагатайг тодорхойлсон байна.[16] Бидний судалгаанд оролцогчдын 67.5% буюу 52 тохиолдол нь эмэгтэй байсан боловч *JAK2 V617F* генийн мутаци илэрсэн болон илрээгүй бүлгүүдэд хүйсийн ялгаа ажиглагдаагүй (p>0.05). Энэ нь судалгаанд хамрагдаж буй оролцогчдын тооноос хамаарсан байх боломжтой юм.

JAK2V617F генийн мутаци нь жинхэнэ полицитемитэй хүмүүсийн 95-98%, жинхэнэ тромбоцитемитэй хүмүүсийн 50-60%, анхдагч миелофиброзтой хүмүүсийн 50%-д илэрдэг.[10] Тиймээс миелопролифератив эмгэгийн үед бай эмчилгээг эхлүүлэх, эмчилгээний үр дүнг тогтмол хянах боломжийг бүрдүүлэхийн тул *JAK2V617F*, *CALR, MPL* генийн мутацийг илрүүлэх, идэвхжилийг үнэлэх шинжилгээг эмнэлзүйн практикт нутагшуулах зайлшгүй хэрэгцээ байна.

Дүгнэлт: Миелопролифератив эмгэг сэжиглэгдсэн нийт оролцогчдын 54.5%-д *JAK2 V617F* генийн мутаци тодорхойлогдож, цаашид бай эмчилгээнд хамрагдах боломжтой боллоо.

Ном зүй:

1. *Senamela T, Kock M, Becker P, Potgieter JJC. Detection of the Janus kinase 2 V617F mutation using a locked nucleic-acid, real-time polymerase chain reaction assay. Afr J Lab Med. 2018;7(1):658. doi:10.4102/ajlm.v7i1.658*
2. *Nasseri M, Keyfi F, Rahbarian R, Rajabian M, Abbaszadegan MR. Examining the Frequency of the JAK2 (V617F) Mutation in Patients with Myeloproliferative Diseases in North Eastern Iran and the Effect of Treatment Intervention. Rep Biochem Mol Biol. Jul 2020;9(2):188-192. doi:10.29252/rbmb.9.2.188*
3. *McMullin MF, Anderson LA. Aetiology of Myeloproliferative Neoplasms. Cancers (Basel). Jul 6 2020;12(7)doi:10.3390/cancers12071810*
4. *Moulard O, Mehta J, Fryzek J, Olivares R, Iqbal U, Mesa RA. Epidemiology of myelofibrosis, essential thrombocythemia, and polycythemia vera in the European Union. Eur J Haematol. Apr 2014;92(4):289-97. doi:10.1111/ejh.12256*
5. *Brière JB. Essential thrombocythemia. Orphanet J Rare Dis. Jan 8 2007;2:3. doi:10.1186/1750-1172-2-3*
6. *Gou P, Zhang W, Giraudier S. Insights into the Potential Mechanisms of JAK2V617F Somatic Mutation Contributing Distinct Phenotypes in Myeloproliferative Neoplasms. Int J Mol Sci. Jan 18 2022;23(3)doi:10.3390/ijms23031013*
7. *Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, et al. The 2016 WHO classification and diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms: document summary and in-depth discussion. Blood Cancer J. Feb 9 2018;8(2):15. doi:10.1038/s41408-018-0054-y*
8. *Kim SY, Im K, Park SN, Kwon J, Kim JA, Lee DS. CALR, JAK2, and MPL mutation profiles in patients with four different subtypes of myeloproliferative neoplasms: primary myelofibrosis, essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myeloproliferative neoplasm, unclassifiable. Am J Clin Pathol. May 2015;143(5):635-44. doi:10.1309/ajcpuaac16liwzmm*
9. *Tutaeva V, Misurin AV, Michiels JJ, et al. Application of PRV-1 mRNA expression level and JAK2V617F mutation for the differentiating between polycytemia vera and secondary erythrocytosis and assessment of treatment by interferon or hydroxyurea. Hematology. Dec 2007;12(6):473-9. doi:10.1080/10245330701384005*
10. *Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. May 19 2016;127(20):2391-405. doi:10.1182/blood-2016-03-643544*
11. *Tefferi A, Gangat N, Pardanani A, Crispino JD. Myelofibrosis: Genetic Characteristics and the Emerging Therapeutic Landscape. Cancer Res. Mar 1 2022;82(5):749-763. doi:10.1158/0008-5472.Can-21-2930*
12. *Guidelines N. Myeloproliferative Neoplasm. wwwnccnorg/patients. 2024;*
13. *Harrison CN, Schaap N, Mesa RA. Management of myelofibrosis after ruxolitinib failure. Ann Hematol. Jun 2020;99(6):1177-1191. doi:10.1007/s00277-020-04002-9*
14. *Verstovsek S, Yu J, Scherber RM, et al. Changes in the incidence and overall survival of patients with myeloproliferative neoplasms between 2002 and 2016 in the United States. Leuk Lymphoma. Mar 2022;63(3):694-702. doi:10.1080/10428194.2021.1992756*
15. *Lu N, Ying L, Zhang X, et al. Comparability of JAK2 p.V617F allele burden in peripheral blood and that in bone marrow in patients with suspected myeloproliferative neoplasms: a single-center prospective study. Am J Transl Res. 2023;15(3):2084-2089.*
16. *Karantanos T, Chaturvedi S, Braunstein EM, et al. Sex determines the presentation and outcomes in MPN and is related to sex-specific differences in the mutational burden. Blood Adv. Jun 23 2020;4(12):2567-2576. doi:10.1182/bloodadvances.2019001407*

Detection of the *JAK2 V617F* gene mutation in myeloproliferative neoplasms

Chantsaldulam G[1,2], Purevbuyan B[2], Buyandelger 2[1], Solongo E[2], Odongoo J[2], Otgonbyamba D[2], Nurlan K[2], Nurbol S[2], Baasansuren E[2], Yavuukhulan G[2], Sarantuya J[1], Munkhdelger Ya[1]

[1]Department of Molecular biology and Genetics,School of Biomedicine, MNUMS
[2]Molecular biology-Genetics laboratory, Bonavita LLC
E-mail: fbm24e006@gt.mnums.edu.mn, Tel: +976-96258382

Background: Myeloproliferative disorders are commonly associated with mutations in genes such as *JAK2, CALR* and *MPL*. Although the global mortality rate of myeloproliferative disorders is relatively lower compared to other cancers, the potential for life-threatening complications remains high. In developed countries, improvements in early detection and diagnosis of myeloproliferative disorders have made it possible to initiate appropriate treatment and monitor treatment outcomes effectively. In our country, genetic testing for such mutations is not routinely performed, making it difficult to confirm the diagnosis and initiate appropriate treatment. This forms the basis of our research study.
Aim: To detect the presence of the *JAK2 V617F* gene mutation using real-time polymerase chain reaction (PCR) analysis.
Materials and Methods: We conducted this study using a cross-sectional study design with a non-probability sampling method. Blood samples of 5-10 ml were collected from 77 participants who consented to participate, and deoxyribonucleic acid (DNA) was isolated. The real-time polymerase chain reaction (PCR) test for detecting the *JAK2 V617F* gene mutation was performed using the Light Cycler480 device. The test results were evaluated by constructing a distribution curve and analyzed using Microsoft Excel and SPSS 26.0.
Results: A total of 77 participants aged 22-82 were included in the study, of whom 25 (32.5%) were male and 52 (67.5%) were female. The *JAK2 V617F* gene mutation was detected in 12 (48%) of the male participants and in 30 (57.7%) of the female participants. The average age of the 42 participants with the *JAK2 V617F* gene mutation was 60.6±12.3 years (ranging from 34 to 82 years).
Conclusion: The *JAK2 V617F* gene mutation was identified in 54.5% of all participants suspected of having a myeloproliferative disorder, making them eligible for targeted therapy moving forward.

Keywords: Polycythemia vera, Thrombocythemia vera, Primary myelofibrosis, PCR