ПРОГРЕССИЯ КАРИОТИПА КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ ОСТРОГО МИЕЛОБЛАСТНОГО ЛЕЙКОЗА ЧЕЛОВЕКА

Т.К. Яковлева, Н.М. Ярцева, В.И. Турилова

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, tyak@mail.cytspb.rssi.ru

Клеточные линии опухолевого происхождения широко используются в разных областях биологии и медицины, в основном, в качестве моделей для изучения различных аспектов онкогенеза. В процессе культивирования клеточных линий происходят изменения кариотипа клеток. которые могут приводить К изменению ИΧ тканеспецифических И опухолеспецифических свойств. Роль тканеспецифических механизмов онкогенеза В кариотипической изменчивости опухолевых клеток в культуре остается малоизученной. Цель работы состояла в изучении характера кариотипической изменчивости клеточных линий острого миелобластного лейкоза (ОМЛ) с опухолеспецифической перестройкой в кариотипе делецией длинного плеча хромосомы 5, del(5q).

Анализ кариотипов клеточных линий GF-D8, UoC-M1, HL-60, KG-1, KG-1a и SAML-2 был выполнен по данным литературы. Показано, что в прогрессии кариотипа клеточных линий ОМЛ основную роль играет структурная кариотипическая изменчивость. В клеточных линиях выявлены характерные для ОМЛ in vivo структурные перестройки хромосом 5, 7, 8, 11 и 17. Вовлечение нормальных хромосом в новые реаранжировки при прогрессии кариотипа клеток в условиях in vitro также имеет опухолеспецифический характер. Отмечен особый характер приводящих к увеличению МҮС и MLL: структурных перестроек, дозы генов экстракопирование фрагментов хромосом, содержащих опухолеспецифические реаранжировки хромосомного материала. Преимущественное вовлечение определенных хромосом в структурные перестройки и специфический характер этих перестроек обеспечивают поддержание и углубление хромосомного дисбаланса в клеточных линиях ОМЛ c del(5q) в кариотипе при длительном культивировании.

В целом полученные данные свидетельствуют о сходном характере кариотипической изменчивости клеточных линий ОМЛ с del(5q) в процессе длительного культивирования. Показано, что использованный подход – анализ группы клеточных линий с определенной опухолеспецифической перестройкой в кариотипе – позволяет исследовать направленность и особенности кариотипической изменчивости опухолевых клеток в культуре.

Ключевые слова: острый миелобластный лейкоз, клеточные линии GF-D8, UoC-M1, HL-60, KG-1, KG-1a, SAML-2, делеция 5q, кариотипическая изменчивость.

Постоянные клеточные линии опухолевого происхождения повсеместно используются в самых разных областях биологии и медицины, в первую очередь, в качестве моделей для выявления и изучения генов, вовлеченных в онкогенез, их продуктов, механизмов злокачественной трансформации клеток, а также оценки эффективности противоопухолевых препаратов. Столь широкое применение постоянных клеточных линий обусловливает необходимость изучения закономерностей, определяющих динамику свойств культивируемых клеток как самостоятельных биологических систем.

Клеточные линии опухолевого происхождения характеризуются изменением структуры кариотипа (1), сохранением опухолеспецифических перестроек хромосом (2) и разной кариотипической структурой клеточной популяции (3). В условиях существования опухолевых клеток in vitro происходит дальнейшее изменение их кариотипа, что может приводить к изменению целого комплекса как тканеспецифических, так и опухолеспецифических свойств клеточных линий. Поэтому исследование направленности и особенностей кариотипической изменчивости клеточных линий, полученных из опухолей разных типов, становится чрезвычайно актуальным. В настоящее время хорошо исследована кариотипическая изменчивость клеточных линий в разных условиях культивирования клеток (4). Показано, что характер кариотипической изменчивости клеточной линии (5). Роль тканеспецифических механизмов онкогенеза в кариотипической изменчивости опухолевых клеток в культуре остается практически не изученной.

Наиболее детально связь механизмов дифференцировки и опухолевой трансформации клеток in vivo исследована для новообразований гемопоэтической системы человека и положена в основу классификации гемобластозов (Франко-американо-британская (FAB) классификация). Клетки миелоидного и лимфоидного ряда могут вовлекаться в злокачественную трансформацию на разных этапах дифференцировки и созревания. Обнаружены специфические численные и структурные изменения хромосом, в основном, делеции и онкогенные транслокации, которые маркируют отдельные типы лейкозов и лимфом человека (6).

Острый миелобластный лейкоз (ОМЛ) – гетерогенная группа заболеваний, при которых в процесс трансформации вовлекаются клетки миелоидного ряда. Отдельные субтипы ОМЛ выделяют согласно стадии дифференцировки, на которой клетки миелоидного ряда вовлекаются в процесс злокачественной трансформации. В соответствии с FAB классификацией (7) это субтипы M0 – M7.

Одной из самых распространенных перестроек хромосом при ОМЛ является делеция длинного плеча хромосомы 5 – del(5q) (6). Делеция 5q как единственная аномалия кариотипа клеток встречается как при миелодиспластических синдромах – заболеваниях, нередко предшествующих ОМЛ, так и на начальной стадии развития ОМЛ, что позволяет рассматривать del(5q) как раннее событие в патогенезе ОМЛ (6). Делециям могут подвергаться разные по протяженности участки длинного плеча хромосомы 5 от полной потери 5q до отдельных сегментов, что приводит к гемизиготному статусу генов, локализованных в утраченных районах хромосомы 5. Известно, что наиболее часто делеции затрагивают сегмент 5q31, где локализованы критические для гемопоэза гены CSF1R (colonystimulating factor 1 receptor), *GMCSF* (granulocyte macrophage colony stimulating factor) и *IL3* (interleukin 3). Предполагается, что патогенетически значимой для ОМЛ может быть и гемизиготность генов *EGR1* (transcription factor early growth response 1), *RPS14* (ribosomal protein S14), *CTNNA1* (cytoskeletal remodeling protein, catenin alpha 1) (6).

Показано, что ранние события онкогенеза ОМЛ определяют дальнейшие изменения генома клеток и прогрессию опухолей in vivo (6, 8). Однако, влияние онкогенетических механизмов ОМЛ на кариотипическую изменчивость лейкозных клеток in vitro остается неясным.

Целью настоящей работы являлось изучение характера кариотипической изменчивости клеточных линий ОМЛ с del(5q) в кариотипе.

Анализ кариотипов клеточных линий GF-D8, UoC-M1, HL-60, KG-1, KG-1a и SAML-2, изученных с помощью методов классической и молекулярной цитогенетики, был выполнен по данным литературы (табл.1). Авторы публикаций применяли методы дифференциального окрашивания хромосом (GTG), флуоресцентной in situ гибридизации (FISH) с использованием локус-специфических и хромосом-специфических проб на все хромосомы кариотипа (M-FISH), спектрального кариотипирования (SKY) и сравнительной геномной гибридизации на метафазных хромосомах (CGH).

Название клеточной линии	Тип ОМЛ FAB	Линия полу- чена	Методы и авторы анализа	Кариотип *	Доза генов MYC и MLL	Наличие линии в клеточных коллекциях
GF-D8	M1	1990	GTG, M-FISH, FISH, CGH (9*)	$\begin{array}{l} \textbf{47}, X, der(Y)t(Y;12)(q12;p13)del(Y)(q12), der(5;15)t(5;7)(q11;q33)t(7;15)(q33;q13),\\ inv(7)(q31.2q36)\textbf{x2}, der(7)t(7;15)(q22;q22.3)del(7)(q22q33)del(15)(q13q22.3),\\ dup(8)(q22.3q24), +der(8)trp(8)(q22.3q24)ins(8;11)(q24;q23.1qter)\\ \underline{dup(11)(q23.1q23.3), der(11)t(8;11)(q22.3;q23.3)trp(8)(q22.3q24)}\\ \underline{dup(11)(q23.1q23.3), der(11)t(11;17)(p11.12;q11.12),}\\ der(12)t(7;12)(q33;p11.2)del(12)(p11.2p13), +\textbf{13}, -15, -17\\ \end{array}$	Амплификация МҮС Амплификация MLL	DSMZ
UoC-M1	M1	1993	GTG, FISH, SKY (10, 11*)	$\begin{array}{l} 42-44, X, -Y, der(9)t(Y;9)(q1?2;p22)t(9;19)(q1?2;p12 \ or \ q12), del(5)(q1?2q3?4), \\ der(5)t(5;9)(p1?5;q1?3), -7, -9, \underline{dic(11)t(9;11;19)(9qter \rightarrow 9q21::11?p11 \rightarrow 11?q11:} \\ \underline{:9::11?p11 \rightarrow 11?q11::9::19::11q?12 \rightarrow 11?q24::11q2?2 \rightarrow 11qter)}, \\ der(14;21)(q10;q10)del(14)(q1?3), -16, der(17)t(7;17)(p14;p12), -19, \\ del(19)(p1?1q1?2), +21, der(21)t(11;21)(q22;q22)dup(21)(q11q22), \\ +der(21)t(16;21)(p11;p11), der(22)t(19;22)(p12 \ or \ q12;p1?1) \end{array}$	4 копии MLL	DSMZ
HL-60	M2	1977	GTG, M-FISH, SKY, FISH, CGH (1, 12, 13*)	$\begin{array}{l} \textbf{46,X,-X,-5,dic(5;17)(q11~12;p11)ins(17;8)(q2?2;q23q24)amp(8)(q23q24),} \\ \textbf{der(7)t(5;7;16)(7q31~32::5q11 \rightarrow 5q12::16q24),der(8)t(8;17)(p2?3;p11),} \\ \textbf{der(9)del(9)(p11)t(9;14)(q3?1;q2?4),der(11)t(11;15)(p11~12;q21),} \\ \textbf{der(13)t(13;13)(p10;q14),der(14)t(9;14)(q3?1;q24),der(15)t(13;15)(q22;q?21),} \\ \textbf{der(16)t(5;16)(q31;q12~13),der(16)t(7;16)(q31~32;q2?2),-17,+18, +18} \end{array}$	Амплификация <i>М</i> ҮС	ATCC DSMZ PKKK
KG-1	M2	1978	GTG, FISH, SKY (14*)	46,XY,der(4)t(4;8)(q31;p21),-5,del(7)(q22q35),der(8)t(8;12)(p11;q13), +idic(8)(p11)x2,-12, der(17)(5pter→5p11::5q13→5q31::17p11.2→cen→17qter), der(20)t(12;20)(?;p13)	Амплификация <i>М</i> ҮС	ATCC DSMZ PKKK
КG-1а (дериват КG-1)		1979	GTG, FISH, SKY (14*)	$\begin{array}{c} 46, XY, der(4)t(4;8)(q31;p21), -5, del(7)(q22q35), \\ der(8; \textbf{22})(12qter \rightarrow 12q13::8p11 \rightarrow cen \rightarrow \textbf{8q24}::22q13 \rightarrow cen \rightarrow \textbf{22pter}), \\ +idic(8)(p11), +idic(11)(q10), -12, \\ der(17)(5pter \rightarrow 5p11::5q13 \rightarrow 5q31::17p11.2 \rightarrow cen \rightarrow 17qter), \\ +der(19)t(14;19)(q13;q13.4), der(20)t(12;20)(?;p13) \end{array}$	4 копии МҮС 4 копии MLL	ATCC DSMZ
SAML-2	The- rapy rela- ted	1996	GTG, SKY, FISH, CGH (15*)	$\begin{array}{l} 45,X,der(Y;\overline{15})(q10;q10),del(5)(q13q31),\underline{der(8)(8pter\longrightarrow8qter::11q21\longrightarrow11qter:}\\ \underline{:8q13\longrightarrow8qter::11q21\longrightarrow11qter::11q?23\longrightarrow11q?24},dup(10)(?p15p10),+11,\\ \underline{der(11)(11pter\longrightarrow11q21::8q22.1\longrightarrow8q24.1::11q22\longrightarrow11qter)x2},\\ der(12)t(12;13)(p13.3;q14)ins(12;5)(p13.3;q31q31),-13 \end{array}$	Амплификация МҮС Амплификация <i>MLL</i>	National Institute of Health, США

Примечание: * — кариотипы приведены в авторской интерпретации, отмечены авторы представленных кариотипов клеточных линий. Жирным шрифтом выделены численные и структурные изменения хромосом в процессе культивирования клеток. Подчеркиванием выделены структурно перестроенные хромосомы с экстракопированием фрагментов, содержащих опухолеспецифические реаранжировки хромосомного материала.

Тардина 2 Вовлечение хромосом в	СТРУКТУРНЫЕ ПЕРЕСТРОИКИ В КЛЕТОЧНЫ	

Клеточная	Хромосомы																							
линия	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	Х	Υ
GF-D8					+		++	++			++	++	+13		++		+							+
							+i nv(7)																	
UoC-M1					++		++		++		+			+		+	+		++		+	+		+
HL-60 (DSMZ)					+		+	+	+		+		++	+	+	++	+							
					*		*	*			-				-	*	*	+18						
KG-1				+	+		+	+				+					+			+				
																								
KG-1a				+	+		+	+			+	+		+			+		+	+		+		
								*																
								-idic(8)			+idic(11)								+der(19)					
SAML-2					+			+		+	+	+	+		+									+

Примечание: + – один гомолог хромосомы вовлечен в структурные перестройки; ++ – оба гомолога хромосомы вовлечены в структурные перестройки; *- структурно перестроенная хромосома вовлекается в дальнейшие преобразования in vitro. Жирным шрифтом выделены численные и структурные изменения хромосом в процессе культивирования клеток; на сером фоне – численные изменения хромосом в процессе культивирования клеток; на сером фоне – численные изменения хромосом в процессе культивирования клеток; на сером фоне – численные изменения хромосом в процессе культивирования клеток; на сером фоне – численные изменения хромосом в процессе культивирования клеток; на сером фоне – численные изменения хромосом в процессе культивирования клеток.

Сведения о клеточных линиях и их кариотипах приведены в таблице. 1. Клеточные линии GF-D8 (16) и UoC-M1 (11) получены от больных ОМЛ M1 (ОМЛ без признаков созревания). Клеточные линии HL-60 (17) и KG-1 (18) получены от больных ОМЛ M2 (ОМЛ с признаками созревания). Клеточную линию KG-1a (дериват клеточной линии KG-1), полученную в результате клонирования клеток родительской линии KG-1 в 0.3% агаре (19), можно рассматривать как пример кариотипической изменчивости клеток KG-1 при жестком изменении условий культивирования.

Клетки HL-60 отличаются длительным существованием в условиях in vitro (17) и наиболее широко используются в экспериментальных исследованиях. Клеточная линия SAML-2 (15) получена из клеток ОМЛ, индуцированного радио- и химиотерапией у пациента с лимфомой Ходжкина (therapy related, t-OMЛ).

Характерной чертой количественной кариотипической изменчивости клеточных линий ОМЛ с del(5q) является сохранение околодиплоидного статуса клеток в течение многих лет культивирования (табл.1). Так, в клеточных линиях KG-1 и KG-1а число хромосом в кариотипе оставалось диплоидным, несмотря на появление новых структурных перестроек в клетках КG-1а. При этом в кариотипе клеточной линии KG-1a, в отличие от родительской линии KG-1, отмечено, с одной стороны, утрата одной из двух копий изохромосомы 8 по длинному плечу, idic(8q), с другой — появление структурно перестроенной хромосомы 11 — изохромосомы 11 по длинному плечу, idic(11q). Кроме того, в кариотипе клеток KG-1a помимо двух гомологов хромосомы 19 появилась дополнительная аномальная хромосома der(19), а один из гомологов хромосомы 22 вовлекался в структурную перестройку с образованием дицентрической хромосомы der(8;22). В кариотипе клеточных линий HL-60 и GF-D8 наблюдали увеличение числа хромосом до 46-ти и 47-ми, соответственно; на ранних этапах культивирования число хромосом в этих клетках было ниже диплоидного и составляло 45. В процессе культивирования в клетках HL-60 обнаружено появление дополнительной копии хромосомы 18, а в клетках GF-D8 - экстракопирование хромосомы 13 и структурно перестроенной хромосомы 7. Клетки UoC-M1 и SAML-2 сохраняли гиподиплоидный кариотип.

Анализ структурной кариотипической изменчивости клеточных линий ОМЛ с del(5q) позволил выявить ряд особенностей прогрессии кариотипа клеток в процессе культивирования, а именно, вовлечение в структурные перестройки определенных хромосом кариотипа и специфический характер этих перестроек, что обеспечивает поддержание и углубление хромосомного дисбаланса в клетках (табл. 1, 2, рис.).



Рисунок. Хромосомный дисбаланс в клеточных линиях ОМЛ человека с del(5q) в кариотипе. Экстракопирование (справа) и потеря (слева от идиограмм хромосом) материала отдельных хромосом по сравнению с диплоидным уровнем.

1 – HL-60, данные CGH (13). 2 – KG-1, реконструкция по описанию кариотипа клеточной линии (14). 3 – KG-1а, реконструкция по описанию кариотипа клеточной линии (14). 4 – GF-D8, данные CGH (9). 5 – UoC-M1, реконструкция по описанию кариотипа клеточной линии (11). 6 – SAML-2, данные CGH (15).

Амплификация отдельных сегментов хромосом 8 и 11 обозначена жирными блоками.

В клеточных линиях ОМЛ делеции длинного плеча хромосомы 5 охватывали разные и большие по протяженности районы 5q – от полной потери 5q (GF-D8) до потери района 5q12-13 – 5q31 (HL-60 и SAML-2). Общим для всех клеточных линий районом делеции являлся район 5q31 (рис.). Делеция 5q в неизмененном виде сохранялась только в клеточных линиях UoC-M1 и SAML-2, в остальных клеточных линиях делетированная хромосома 5 вовлекалась в транслокации с хромосомами 7 (GF-D8, HL-60), 16 (HL-60) и 17 (HL-60, KG-1, KG-1a).

Известно, что изменения кариотипа клеток с делецией 5q при прогрессии ОМЛ in vivo часто сопровождаются перестройками других хромосом, в частности, появлением в кариотипе дополнительной копии хромосомы 8, утратой хромосомы 7 или делециями ее длинного плеча, а также делецией короткого плеча хромосомы 17 (20). Подобная избирательность вовлечения хромосом в структурные перестройки обнаруживается и в клеточных линиях ОМЛ с del(5q) в кариотипе.

На основании цитогенетического анализа клеточной линии HL-60, выполненного разными исследователями (1, 12, 13, 21, 22), можно обозначить определенные тенденции в изменении кариотипа клеток HL-60 при длительном культивировании: вовлечение в структурные перестройки уже измененных хромосом и тех хромосом кариотипа, аномалии которых отмечены в клетках других линий ОМЛ с del(5q). Неслучайный характер вовлечения хромосом в перестройки был ранее обнаружен при изучении динамики структуры кариотипа клеточных линий множественной миеломы в процессе культивирования: вовлечение в перестройки уже измененных хромосом, один из гомологов которых участвовал в перестройках в клетках in vivo или на ранних этапах культивирования клеток (23).

В клеточной линии HL-60 дальнейшим преобразованиям подвергались структурно перестроенные хромосомы dic(5;17), der(7) и der(8), а в новые перестройки вовлекались хромосомы 11, 13 и 15 (табл. 2). Структурная перестройка хромосомы 11 сопровождалась потерей материала короткого плеча и возникновением дисбаланса по 11р, характерного для клеточных линий GF-D8 и UoC-M1. Реаранжировки хромосомы 13 в клетках HL-60 привели к увеличению количества хромосомы 13 также отмечено в клетках GF-D8 в процессе культивирования.

Особенностью прогрессии генома опухолевых клеток ОМЛ in vivo является амплификация генов *MYC и MLL* (mixed lineage leukemia). Экстрахромосомная амплификация гена *MYC* в виде двойных мини-хромосом (dmin) была обнаружена в опухолевых клетках больной ОМЛ и

в клетках линии HL-60, полученной из периферической крови этой больной (21). При анализе кариотипа клеток HL-60 (табл.1) из DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures) двойные мини-хромосомы не были выявлены, а амплифицированный фрагмент хромосомы 8, содержащий ген *MYC*, был обнаружен в длинном плече хромосомы 17 в составе структурно перестроенной хромосомы dic(5;17) (табл. 1). В клетках HL-60 из ATCC (American Type Culture Collection) амплификация гена *MYC* была выявлена в сайте его локализации на хромосомы 8 (8q24.1) и в виде инсерции амплифицированного *MYC*-содержащего фрагмента хромосомы 8 в длинное плечо хромосомы 11 (12). По-видимому, фрагмент хромосомы 8, содержащий ген *MYC*, ведет себя подобно «прыгающим» сегментам, которые перемещаются на различные хромосомы с последующей дупликацией как самого сегмента, так и материала хромосомы-реципиента (24). Следствием таких перестроек является увеличение дозы генов и дестабилизация как структурно перестроенных, так и интактных хромосом кариотипа.

В клеточных линиях KG-1 и KG-1а также можно выделить структурные перестройки хромосом 5, 7, 8 и 17. Кроме того, в клетках KG-1 и KG-1а обнаружены реаранжировки хромосом 4, 12 и 20. Интересно, что в клеточной линии KG-1a, которая является результатом эволюции кариотипа клеток KG-1 под влиянием жестких условий культивирования, наблюдалась та же тенденция в характере вовлечения хромосом в структурные перестройки in vitro, что и при длительном культивировании клеток в оптимальных условиях (клетки HL-60). В клетках KG-1a изменениям подвергались структурно перестроенная хромосома der(8) и хромосомы 11, 14, 19 и 22, участвующие в перестройках в других клеточных линиях ОМЛ с del(5q). Такое неслучайное вовлечение хромосом в структурные перестройки может свидетельствовать о влиянии ранних онкогенетических событий, определивших структуру кариотипа опухолевых клеток in vivo, на характер кариотипической изменчивости этих же клеток in vitro.

Изменение соотношения материала хромосом 8 и 11 в клетках KG-1a по сравнению с клетками KG-1 демонстрирует связь между численными и структурными перестройками хромосом определенных пар. Если в клетках линии KG-1 было 6 копий длинного плеча хромосомы 8 (8q) и две хромосомы 11, то в клетках линии KG-1a число копий 8q уменьшилось до 4-х в результате утраты одной из двух хромосом idic(8q), а число копий длинного плеча хромосомы 11 (11q) увеличилось до 4-х в результате структурной перестройки хромосомы 11 (табл.1, 2, рис.). Экстракопирование района 11q22-23–qter показано в низкодифференцированных клеточных линиях, полученных из опухолевого материала

больных ОМЛ М1 (GF-D8 и UoC-M1), а также в линии SAML-2 (t-OMЛ). Следует отметить, что изменение кариотипа клеток линии KG-1 при культивировании в 0.3% агаре сопровождалось снижением уровня дифференцировки клеток и изменением других характеристик, выявленном при сравнении клеток KG-1a с родительской линией KG-1 (19).

В клеточных линиях GF-D8, UoC-M1 и SAML-2, помимо хромосомы 5, наблюдали преимущественное вовлечение в структурные перестройки хромосом: 7 (GF-D8, UoC-M1), 8 (GF-D8, SAML-2), 11(GF-D8, UoC-M1 и SAML-2) и 17 (GF-D8, UoC-M1). В клетках SAML-2 не выявлена структурная перестройка хромосомы 17, однако известно, что в этих клетках один из аллей гена *TP53*, локализованный в 17р13, делетирован, а во втором обнаружена инактивирующая мутация (15). Кроме того, в клеточных линиях GF-D8 и SAML-2 отмечены структурные перестройки хромосомы 12 (как и в клетках KG-1 и KG-1a) и хромосомы 15 (как и в клетках HL-60).

Характерной особенностью структурных перестроек хромосом 8 и 11 в клеточных линиях GF-D8, UoC-M1 и SAML-2 является экстракопирование фрагментов, содержащих опухолеспецифические реаранжировки хромосомного материала (табл. 1). Вовлечение в такие перестройки хромосомы 11 приводит к увеличению дозы гена MLL (UoC-M1), а в случае транслокации между хромосомами 8 и 11 – к увеличению числа копий двух генов, MYC и MLL (GF-D8, SAML-2). Скорее всего, экстракопирование перестроенных хромосомных фрагментов в составе хромосом der(8) и der(11) происходит in vitro и способствует усилению хромосомного дисбаланса по дистальным районам длинных плеч хромосом 8 и 11. Подобный характер хромосомных преобразований описан в клетках линии хронического миелоидного лейкоза человека К562 при длительном культивировании. Опухолеспецифическая перестройка в виде Филадельфийской хромосомы Ph¹ – der(22)t(9;22)(q34;q11) была обнаружена в клетках больного и в кариотипе клеточной линии К562 на ранних этапах культивирования. В процессе культивирования клеток К562 наблюдали экстракопирование реаранжированного фрагмента хромосом 9 и 22, содержащего гибридный ген BCR/ABL1, в составе хромосомы der(22)t(9;13;22)(q34;q31;q11) (25).

Таким образом, анализ группы клеточных линий GF-D8, UoC-M1, HL-60, KG-1, KG-1a и SAML-2, полученных из разных типов ОМЛ, с разной продолжительностью существования клеток в культуре, и имеющих опухолеспецифическую перестройку – del(5q) в кариотипе, выявил сходный характер кариотипической изменчивости клеток в процессе длительного культивирования.

Показано, что в прогрессии кариотипа клеточных линий основную роль играет структурная кариотипическая изменчивость. Преимущественное вовлечение в структурные перестройки характерных для ОМЛ аномальных и интактных хромосом кариотипа, а также специфический характер этих перестроек обеспечивают поддержание и углубление хромосомного дисбаланса в клеточных линиях ОМЛ с del(5q) в кариотипе при длительном культивировании. Углубление хромосомного дисбаланса обусловлено увеличением копийности материала длинных плеч хромосом 8 и 11 и, соответственно, дозы генов *МYC* и *MLL*, что, по-видимому, способствует наращиванию пролиферативного потенциала опухолевых клеток in vitro.

Можно предположить, что, несмотря на опухолеспецифическую направленность прогрессии кариотипа клеток in vitro, комплексные реаранжировки хромосомного материала могут приводить к изменению паттерна экспрессии генов и функционального статуса клеток.

Список литературы

1. Roschke A.V., Tonon G., Gehlhaus K.S., McTyre N., Bussey K.J., Lababidi S., Scudiero D.A., Weinstein J.N., Kirsch I.R. Karyotypic complexity of the NCI-60 drug-screening panel. Cancer Res., 2003, 63, 24: 8634-8647.

2. Мамаева С.Е. Закономерности кариотипической эволюции клеток в культуре. Цитология, 1996, 38, 8: 787-814.

3. Полянская Г.Г., Вахтин Ю.Б. The karyotypic structure of cell populations in vitro as integral system. Цитология, 2003, 45: 115-131.

4. Полянская Г.Г. Закономерности кариотипической изменчивости в клеточных культурах при длительном культивировании в разных условиях. Успехи совр. биол., 2000, 120: 529-539.

5. Полянская Г.Г. Кариотипическая изменчивость в клеточных линиях и структура кариотипа. Клеточные культуры (инф. бюлл.), СПб, 2009, вып. 24: 15-24.

6. Cancer Cytogenetics. Third Edition. Ed.: Heim S., Mitelman F. Wiley-Blackwell, 2009, 756 p.

7. Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T., Flandrin G., Galton D.A., Gralnick H.R., Sultan C. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. Ann. Intern. Med., 1985, 103: 620-625.

8. Bullinger L., Döhner K., Bair E., Fröhling S., Schlenk R.F., Tibshirani R., Döhner H., Pollack J.R. Use of gene-expression profiling to identify prognostic subclasses in adult acute myeloid leukemia. N. Engl. J. Med., 2004, 350, 16: 1605-1616.

9. Tosi S., Giudici G., Rambaldi A., Scherer S.W., Bray-Ward P., Dirscherl L., Biondi A., Kearney L. Characterization of the human myeloid leukemia-derived cell line GF-D8 by multiplex fluorescence in situ hybridization, subtelomeric probes, and comparative genomic hybridization. Genes Chromosomes Cancer, 1999, 24, 3: 213-221.

10. Veldman T., Vignon C., Schröck E., Rowley J.D., Ried T. Hidden chromosome abnormalities in haematological malignancies detected by multicolour spectral karyotyping. Nat. Genet., 1997, 15, 4: 406-410.

11. Allen R.J., Smith S.D., Moldwin R.L., Lu M.-M., Giordano L., Vignon C., Suto Y., Harden A., Tomek R., Veldman T., Ried T., Larson R.A., Le Beau M.M., Rowley J.D., Zeleznik-Le N.

Establishment and characterization of a megakaryoblast cell line with amplification of MLL. Leukemia, 1998, 12, 7: 1119-1127.

12. Liang J.C., Ning Y., Wang R.Y., Padilla-Nash H.M., Schröck E., Soenksen D., Nagarajan L. Ried T. Spectral karyotypic study of the HL-60 cell line: detection of complex rearrangements involving chromosomes 5, 7, and 16 and delineation of critical region of deletion on 5q31.1. Cancer Genet. Cytogenet., 1999, 113, 2: 105-109.

13. Cottier M., Tchirkov A., Perissel B., Giollant M., Campos L., Vago P. Cytogenetic characterization of seven human cancer cell lines by combining G- and R-banding, M-FISH, CGH and chromosome- and locus-specific FISH. Int. J. Mol. Med., 2004, 14, 4: 483-495.

14. **Mrózek K., Tanner S.M., Heinonen K., Bloomfield C.D.** Molecular cytogenetic characterization of the KG-1 and KG-1a acute myeloid leukemia cell lines by use of spectral karyotyping and fluorescence in situ hybridization. Genes Chromosomes Cancer, 2003, 38, 3: 249-252.

15. Knutsen T., Pack S., Petropavlovskaja M., Padilla-Nash H., Knight C., Mickley L.A., Ried T., Elwood P.C., Roberts S.J. Cytogenetic, spectral karyotyping, fluorescence in situ hybridization, and comparative genomic hybridization characterization of two new secondary leukemia cell lines with 5q deletions, and MYC and MLL amplification. Genes Chromosomes Cancer, 2003, 37, 3: 270-281.

16. Rambaldi A., Bettoni S., Tosi S., Giudici G., Schirò R., Borleri G.M., Abbate M., ChiaffarinoF., Colotta F., Barbui T., Biondi A. Establishment and characterization of a new granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-dependent and interleukin-3-dependent human acute myeloid leukemia cell line (GF-D8). Blood, 1993, 81, 5: 1376-1383.

17. Collins S.J., Gallo R.C., Gallagher R.E. Continuous growth and differentiation of human myeloid leukaemic cells in suspension culture. Nature, 1977, 270: 347-349.

18. **Koeffler H.P., Golde D.W.** Acute myelogenous leukemia: a human cell line responsive to colony-stimulating activity. Science, 1978, 200: 1153-1154.

19. Koeffler H.P., Billing R., Lusis A.J., Sparkes R., Golde D.W. An undifferentiated variant derived from the human acute myelogenous leukemia cell line (KG-1). Blood, 1980, 56, 2: 265-73.

20. **Mrózek K.** Cytogenetic, molecular genetic, and clinical characteristics of acute myeloid leukemia with a complex karyotype. Semin. Oncol., 2008, 35, 4: 365-377.

21. Gallagher R., Collins S., Trujillo J., McCredie K., Ahearn M., Tsai S., Metzgar R., Aulakh G., Ting R., Ruscetti F., Gallo R. Characterization of the continuous, differentiating myeloid cell line (HL-60) from a patient with acute promyelocytic leukemia. Blood, 1979, 54, 3: 713-733.

22. Мамаева С.Е. Атлас хромосом постоянных клеточных линий человека и животных. М., Научный мир, 2002, 236 с.

23. Турилова В. И. Динамика структуры кариотипа клеточных линий множественной миеломы человека в условиях их длительного существования in vitro. Вестник Казахского Национального Университета имени аль-Фараби, Серия биологическая, 2010, 1(43): 70-74.

24. Sawyer J.R., Tricot G., Lukacs J.L., Binz R.L., Tian E., Barlogie B., Shaughnessy J. Jr. Genomic instability in multiple myeloma: evidence for jumping segmental duplications of chromosome arm 1q. Genes Chromosomes Cancer, 2005, 42, 1: 95-106.

25. **Gribble S.M., Roberts I., Grace C., Andrews K.M., Green A.R., Nacheva E.P.** Cytogenetics of the chronic myeloid leukemia-derived cell line K562: karyotype clarification by multicolor fluorescence in situ hybridization, comparative genomic hybridization, and locus-specific fluorescence in situ hybridization. Cancer Genet. Cytogenet., 2000,118, 1: 1-8.