

УДК 577.21:616-006.44:575.113:616.155.191:616-001.28

Л. А. Полубень¹✉, Л. В. Неумержицька¹, С. В. Клименко¹, П. Френкель², С. Балк²,
О. О. Шумейко³

¹Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», вул. Юрія Ілленка, 53, м. Київ, 04050, Україна

²Бес Израел Диконесс Медичний Центр, відділ гематології/онкології, м. Бостон, Массачусетс, США

³Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, бульвар Тараса Шевченка, 13, м. Київ, 01601, Україна

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ АНОМАЛІЇ У ГЕНОМІ ХВОРИХ НА Rh-НЕГАТИВНІ МІЄЛОПРОЛІФЕРАТИВНІ НЕОПЛАЗІЇ, ЯКІ ЗАЗНАЛИ ДІЇ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ ВНАСЛІДОК АВАРІЇ НА ЧАЕС

Мета: визначити частоту основних соматичних мутацій генів *JAK2*, *MPL* та *CALR* у генومі хворих на Rh-негативні мієлопроліферативні неоплазії, що виникають в осіб, які зазнали дії іонізуючої радіації внаслідок аварії на ЧАЕС.

Матеріали і методи. Проведено молекулярно-генетичний аналіз зразків геномної ДНК, виділених з крові 90 хворих на Rh-негативні мієлопроліферативні неоплазії (МПН) з радіацією в анамнезі і 191 хворого на спонтанні МПН методом алель-специфічної полімеразної ланцюгової реакції.

Результати. Виявлено наявність основних мутацій в генах *JAK2*, *MPL* і *CALR* у хворих на МПН з радіаційним анамнезом з частотою 58,9 % (53 із 90), 12,2 % (11 з 90), та 0 % відповідно, та без такого – 75,4 % (144 зі 191), 3,1% (6 зі 191) та 1,6% (3 зі 191) відповідно. Мутації *JAK2 V617F* у хворих на спонтанні МПН спостерігалися в кожній нозологічній формі: справжній поліцитемії (СП), есенціальній тромбоцитемії (ЕТ) і первинному мієлофіброзі (ПМФ). Мутації *CALR* виявлялися виключно у хворих на ПМФ та ЕТ, достовірно частіше у групах з радіаційним анамнезом (18,9 %, та 33,3 %, проти 4,2 % та 6,5 %), ніж без такого. Водночас частота мутацій *MPL* визначена тільки у хворих на спонтанні МПН – у 1,6 %. Потрійно негативний мутаційний статус генів *JAK2*, *MPL* та *CALR* превалював у групі хворих на МПН з радіаційним анамнезом і складав 27,8 %, проти 16,2 %, без такого ($p = 0,05$).

Висновки. Дослідження геному хворих на Rh-негативні МПН виявили особливості молекулярно-генетичних пошкоджень у тих хворих, які зазнали впливу іонізуючої радіації внаслідок аварії на ЧАЕС і тих, хто захворів спонтанно. Отримані дані мутаційного статусу генів *JAK2*, *MPL* та *CALR* в геномі хворих на МПН є необхідними для розширення уявлень щодо механізму лейкогенезу, особливо спричиненого радіацією.

Ключові слова: мієлопроліферативні неоплазії, справжня поліцитемія, есенціальна тромбоцитемія, первинний мієлофіброз, *JAK2 V617F*, *MPL* та *CALR*, іонізуюча радіація.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2020. Вип. 25. С. 362–373. doi: 10.33145/2304-8336-2020-25-362-373

✉ Полубень Лариса Олександрівна, e-mail: larysa.poluben@gmail.com

L. O. Poluben¹✉, L. V. Neumerzhytska¹, S. V. Klymenko¹, P. Fraenkel², C. Balk²,
O. O. Shumeiko³

¹State Institution «National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 53 Yurii Illienka St., Kyiv, 04050, Ukraine

²Bes Israel Dikonesh Medical Center, Hematology/Oncology Department, Boston, Massachusetts, USA

³Bogomolets National Medical University, 13 Tarasa Shevchenka Blvd, Kyiv, 01601, Ukraine

MOLECULAR GENETIC ABNORMALITIES IN THE GENOME OF PATIENTS WITH Ph-NEGATIVE MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASIA AFFECTED BY IONIZING RADIATION AS A RESULT OF THE CHORNOBYL NUCLEAR ACCIDENT

Objective: to determine the frequency of major somatic mutations in the *JAK2*, *MPL* and *CALR* genes in the genome of patients with Ph-negative myeloproliferative neoplasms that occur in individuals who have been exposed to ionizing radiation as a result of the Chernobyl accident.

Materials and methods. Molecular genetic analysis of genomic DNA samples isolated from blood was performed in 90 patients with Ph-negative myeloproliferative neoplasia (MPN) with a history of radiation exposure and 191 patients with spontaneous MPN utilizing allele-specific polymerase chain reaction (PCR).

Results. The presence of major mutations in the genes *JAK2*, *CALR* and *MPL* was revealed in patients with MPN with a history of radiation exposure with a frequency 58.9 % (53 of 90), 12.2 % (11 of 90), and 0 % respectively, and without exposure with frequency 75.4 % (144 of 191), 3.1 % (6 out of 191) and 1.6 % (3 out of 191) respectively. Mutations *JAK2 V617F* in patients with spontaneous MPN were observed in each clinical form: polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET) and primary myelofibrosis (PMF). *CALR* mutations were detected exclusively in patients with PMF and ET, significantly more often in groups with a radiation exposure history (18.9 % and 33.3 %, vs. 4.2 % and 6.5 %) than without one. At the same time, the occurrence of *MPL* mutations was determined only in patients with spontaneous MPN in 1.6 % of cases. Triple negative mutation status of genes *JAK2*, *MPL* and *CALR* prevailed in the group of patients with MPN with a history of radiation exposure and was 27.8 %, against 16.2 % in patients without radiation exposure ($p = 0.05$).

Conclusions. Genomic research of patients with Ph-negative MPN revealed features of molecular genetic damage in those patients who were exposed to IR as a result of the Chernobyl accident and those with spontaneous MPN. The data obtained by determining of *JAK2*, *MPL* and *CALR* genes mutational status in the genome of patients with MPN is necessary to expand the understanding of the mechanism of leukogenesis, especially caused by radiation.

Key words: myeloproliferative neoplasia, polycythemia vera, essential thrombocythemia, primary myelofibrosis, *JAK2 V617F*, *MPL* and *CALR*, ionizing radiation.

Problems of Radiation Medicine and Radiobiology. 2020;25:362-373. doi: 10.33145/2304-8336-2020-25-362-373

ВСТУП

Мієлопроліферативні неоплазії (МПН) і надалі залишаються однією з найскладніших проблем сучасної медицини. На сьогодні частота захворюваності не знижується, а чисельність осіб, які зазнали дії ІР внаслідок аварії на ЧАЕС постійно зростає [1]. В учасників ліквідації аварії на Чорнобильській АЕС та у мешканців забруднених радіонуклідами територій спостерігається підвищений рівень онкогематологічних захворювань, в тому числі хронічних Ph-негативних МПН [2–5].

Ph-негативні МПН виділені в особливу групу класичних неоплазій, що зумовлюють надмірну пролі-

INTRODUCTION

Myeloproliferative neoplasia (MPN) continues to be one of the most difficult problems in modern medicine. Today, the incidence is not decreasing, but the number of persons affected by IR as a result of the Chernobyl accident is constantly growing [1]. Clean-up workers of the Chernobyl nuclear plant and residents of areas contaminated with radionuclides have an increased level of oncohematological diseases, including chronic Ph-negative MPNs [2–5].

Ph-negative MPNs are allocated to a special group of classical neoplasms that cause excessive

✉ Larysa O. Poluben, e-mail: larysa.poluben@gmail.com

ферацію одного або декількох паростків мієлопоезу, призводячи до таких захворювань, як справжня поліцитемія (СП), есенціальна тромбоцитемія (ЕТ) і первинний мієлофіброз (ПМФ). В основі патогенезу МПН лежать набуті соматичні мутації, що на сьогодні, є одним з ключових діагностичних і прогностичних критеріїв [6–8]. Особливе місце належить високоспецифічним соматичним мутаціям в генах *Janus Kinase 2 (JAK2)*, рецептора *Thrombopoietin Receptor (MPL)* і *Calreticulin (CALR)*, що обумовлюють клональну природу МПН. Зазначені мутації є регуляторами клітинного циклу. Згідно з рекомендаціями ВООЗ, у 90 % хворих на МПН виявляються ці мутації.

JAK2 V617F – найпоширеніша соматична місенс мутація гена *JAK2* в 14-му екзоні 9q24 хромосоми. Вона спричиняє заміну амінокислоти валіну на фенілаланін у 617 кодоні псевдокіназного JH2 домену і визначається у більш, ніж 95 % хворих на СП, 50–60 % – на ЕТ та ПМФ [6]. *JAK2 V617F* мутація виникає в мультипотентній стовбуровій гематопоетичній клітині-попередниці, тому присутня серед усіх клітин мієлоїдної гілки. У 2 % спостережень виявляється мутація в екзоні 12 гена *JAK2*, що спонукає до трансформації СП у мієлофіброз. Зазвичай ці мутації не асоціюються із ЕТ та ПМФ.

Ген *MPL* міститься в локусі 1p34, містить 12 екзонів та кодує рецептор до тромбопоєтину (ТПО-Р), складається із 635 амінокислот, є ключовим регулюючим чинником розвитку мегакаріоцитів та формування тромбоцитів. Канонічні мутації *MPL* гена локалізуються в 10-му екзоні та загалом спричинюють заміну двох амінокислот: триптофану та серину в положенні 515. Мутації *MPL W515* визначають у 3–10 % хворих на ЕТ та ПМФ, з негативним статусом за *JAK2* мутаціями [9–11].

Соматичні мутації гена кальретікуліна *CALR*, містяться у локусі 19p13 в ділянці 9-го екзону. Понад 50 типів мутацій *CALR* було визначено у хворих на ЕТ та ПМФ, негативних за мутаціями *JAK2* та *MPL*. Однак, приблизно 80 % усіх мутацій складають *CALR* 1-го (делеція 52 пар основ) та *CALR* 2-го (інсерція 5 пар основ) типів. Мутація гена *CALR*, так само, як і гена *JAK2*, веде до надмірної активації JAK-STAT шляху, спричинюючи патологічну проліферацію клітин.

Патогенез МПН на молекулярно-генетичному рівні розглядається як причинно-наслідкові порушення в геномі як одного, трьох основних, так і декількох неспецифічних генів. У разі виникнення

proliferation of one or more myelopoiesis lines, leading to diseases such as polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET) and primary myelofibrosis (PMF). The pathogenesis of MPN is based on acquired somatic mutations, which today are included as the key diagnostic and prognostic criteria [6–8]. A special place belongs to highly specific somatic mutations in the genes of *Janus Kinase 2 (JAK2)*, *Thrombopoietin Receptor (MPL)* and *Calreticulin (CALR)*, which determine the clonal nature of MPN. These mutations are regulators of the cell cycle. According to WHO recommendations, 90 % of patients with MPN have these mutations.

JAK2 V617F – the most common somatic missense mutation of the *JAK2* gene in the 14th exon of chromosome 9q24. It causes the replacement of the amino acid valine by phenylalanine in the 617 codon of the pseudokinase JH2 domain and is detected in more than 95 % of patients with PV, 50–60 % in ET and PMF [6]. *JAK2 V617F* mutation occurs in a multipotent hematopoietic progenitor stem cell and is therefore present among all cells of the myeloid branch. In 2 % of cases, *JAK2* mutation is detected in exon 12 and promote transformation of PV to myelofibrosis. Usually these mutations are not associated with ET and PMF.

MPL gene is located at locus 1p34, contains 12 exons and encodes a receptor for thrombopoietin (TPO-P), consists of 635 amino acids, and is a key regulatory factor in the development of megakaryocytes and platelet formation. Canonical mutations in the *MPL* gene are localized in exon 10 and generally cause the replacement of two amino acids: tryptophan and serine in position 515. *MPL W515* mutations are detected in 3–10 % of patients with ET and PMF, with a negative status for *JAK2* mutations [9–11].

Somatic gene mutations in calreticulin *CALR* contained in the locus 19p13 in the area of exon 9. More than 50 types of *CALR* mutations have been identified in patients with ET and PMF negative for *JAK2* and *MPL* mutations. However, approximately 80 % of all mutations are *CALR* 1 (deletion of 52 base pairs) and *CALR* 2 (insertion of 5 base pairs) types. Mutation of the *CALR* gene, as well as the *JAK2* gene, leads to excessive activation of the JAK-STAT pathway, causing pathological cell proliferation.

The pathogenesis of MPN at the molecular genetic level is considered as a causal disorder in the genome of one among three major, or several nonspecific minor genes. In the case of PV and ET, mutation of

СП та ЕТ здебільшого визначається мутація лише одного гена, що призводить до МПН. [9]. У хворих на ПМФ таких змін, значно більше. Водночас, майже 15 % МПН виникають за умови потрібно негативного статусу основних соматичних мутацій. В такому разі розглядаються інші потенційно нові патогенетичні механізми, що залучені в клітинну ініціацію лейкогенезу [10–12]. Не всі мутації, які визначаються в цих генах, є основними причинами онкогенезу. Мало відомо про порушення в некодуючих ділянках геному та значення епігенетичних механізмів.

Отже, вивчення порушень геному за участю генів, мутації яких відіграють важливу роль у патогенезі МПН, надасть можливість розширити уявлення про механізми трансформації в злоякісну клітину для своєчасного виявлення, покращення діагностики і визначення групи ризику пацієнтів для адекватної тактики лікування.

МЕТА

Встановити частоту драйверних мутацій генів *JAK2*, *MPL* та *CALR* у геномі хворих на Ph-негативні мієлопроліферативні неоплазії, для визначення молекулярних особливостей, що розвиваються в осіб, які зазнали дії іонізуючої радіації (ІР) внаслідок аварії на ЧАЕС

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

В дослідження включено 281 хворого, яким було встановлено діагноз МПН у різних медичних закладах України впродовж 2009–2016 років. З них – 90 пацієнтів, які зазнали дії ІР (65 учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС, 17 постійних жителів забруднених радіонуклідами територій, 8 евакуйованих із зони відчуження), і 191 – без радіаційного впливу в анамнезі. На момент встановлення діагнозу середній вік хворих з радіаційним анамнезом становив ($58,4 \pm 1,4$) років, серед хворих на спонтанні МПН – ($51,1 \pm 1,1$) років. Дослідження було схвалене Етичним Комітетом ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України» (ННЦРМ).

Зразки ДНК були отримані з лейкоцитів периферичної крові хворих за допомогою набору для виділення ДНК Quiamp DNA (Qiagen, Німеччина). Визначення мутацій проводили методом полімеразноланцюгової реакції (ПЛР). Для ампліфікації фрагмента 14-го екзону гена *JAK2*, що складається із 185 пар нуклеотидів, готували реакційну суміш в об'ємі 25 мкл. До складу реакційної суміші ПЛР

only one gene is usually determined, which leads to MPN [9]. In patients with PMF spectrum of changes are much wider. At the same time, almost 15 % of MPNs occur under the condition of triple-negative status of the main somatic mutations. In this case, other mutations are considered to play potentially new roles in pathogenetic mechanisms, involved in cellular initiation of leukogenesis [10–12]. Unfortunately, not all mutations identified in these genes are major causes of oncogenesis. Little is known about disorders in non-coding regions of the genome and the importance of epigenetic mechanisms.

Thus, the study of genome disorders involving genes whose mutations play an important role in the pathogenesis of MPN will provide an opportunity to expand the understanding of the mechanisms of transformation into a malignant cell for timely detection, improvement of diagnosis and determining the risk group of patients for adequate treatment tactics.

OBJECTIVE

To establish the frequency of driver mutations of *JAK2*, *MPL* and *CALR* genes in the genome of patients with Ph-negative myeloproliferative neoplasia (MPN), to determine the molecular features that develop in individuals exposed to ionizing radiation (IR) as a result of the Chernobyl accident.

MATERIALS AND METHODS

The study included 281 patients who were diagnosed with MPN in various medical institutions of Ukraine during 2009 – 2016. Among them – 90 who were exposed to IP (65 participants in the liquidation of the Chernobyl accident, 17 permanent residents of radionuclide-contaminated areas, 8 evacuated from the exclusion zone) and 191 – without radiation exposure in their history. At the time of diagnosis, the average age of patients with a history of radiation exposure was 58.4 ± 1.4 years, among patients with spontaneous MPN – 51.1 ± 1.1 years. The study was approved by the Ethics Committee of the National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (NRCRM).

Samples of DNA were obtained from peripheral blood leukocytes of patients using a kit for DNA isolation Quiamp DNA (Qiagen, Germany). Determination of mutations was performed by PCR. To amplify a fragment of the 14th exon of the gene *JAK2*, consisting of 185 nucleotide pairs, reaction mixture in a volume of 25 μ l was prepared. The PCR reaction mixture consisted of: 20 ng of

входили: 20 нг геномної ДНК, 2X TaqMan універсальний ПЛР майстер мікс (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Вулстон Варрінгтон, Великобританія), по 1 мкл прямого та зворотного праймерів у концентрації 10 мкМ та по 0,5 мкл специфічних олігонуклеотидних проб до дикого типу і мутованого (1849 G>T) *JAK2* гена (табл. 1) [13].

Для ампліфікації фрагмента 10-го екзона гена *MPL*, що складається із 212 пар нуклеотидів, готували реакційну суміш в об'ємі 50 мкл, до складу, якої входили: 50 нг геномної ДНК, 1,25 Од/мкл PrimeSTAR GXL ДНК полімерази, 5X PrimeSTAR GLX буферний розчин, 2,5 мМ суміш деоксинуклеотидів (Clontech Laboratories, Inc., Takara Bio Company, США), по 1 мкл прямого і зворотного праймерів у концентрації 10 мкМ та автоклавована вода до досягнення об'єму 50 мкл (табл. 2). Виконували ПЛР за допомогою інструменту Bio-Rad MyCycler Thermal Cycler. Набір MiniElute PCR Purification (Qiagen, Німеччина) [9].

Виявлення мутацій *CALR1/2* ехон 9 довжиною 134 пар нуклеотидів проводили завдяки аналізу плавлення високої роздільної здатності готували реакційну суміш в об'ємі 20 мкл, до складу якої входили: 20 нг геномної ДНК, 2X SYBR Green ПЛР Майстер Мікс (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Вул-

genomic DNA, 2X TaqMan universal PCR master mix (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Woolston Warrington, UK), 1 µl of forward and reverse primers at a concentration of 10 µm and 0.5 µl of specific oligonucleotide samples to wild-type and mutated (1849G>T) *JAK2* gene (Table 1) [13].

To amplify a fragment of the 10th exon of the gene *MPL* consisting of 212 nucleotide pairs, a reaction mixture in a volume of 50 µl was prepared, which included: 50 ng of genomic DNA, 1.25 U/µl PrimeSTAR GXL DNA polymerase, 5X PrimeSTAR GLX buffer solution, 2.5 mm a mixture of deoxynucleotides (Clontech Laboratories, Inc., Takara Bio Company, USA), 1 µl of forward and reverse primers at a concentration of 10 µm and autoclaved water to a volume of 50 µl (Table 2). PCR was performed using a Bio-Rad MyCycler Thermal Cycler tool. MiniElute PCR Purification Kit (Qiagen, Germany) [9].

Detection of mutations *CALR1/2* exon 9 with a length of 134 nucleotide pairs was performed by high-resolution melting analysis. Reaction mixture in a volume of 20 µl was prepared, which included: 20 ng genomic DNA, 2X SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Thermo Fisher

Таблиця 1

Праймери та олігонуклеотидні проби для визначення мутації *JAK2 V617F*

Table 1

Primers and oligonucleotide assays for mutation *JAK2 V617F*

Призначення / Goal	Послідовність (5' → 3') / Sequence (5' → 3')
Прямий праймер / Direct primer	ACA ACA GTC AAA CAA CAA TTC
Зворотний праймер / Reverse primer	ACA CCT AGC TGT GAT CCT G
Олігонуклеотидна специфічна проба до дикого типу гена <i>JAK2</i> Oligonucleotide specific assay for wild-type <i>JAK2</i> gene	FAM-CGT CTC CAC AGA CAC ATA CTC C-BHQ1
Олігонуклеотидна специфічна проба до мутації <i>JAK2 V617F</i> Oligonucleotide specific assay for the <i>JAK2 V617F</i> mutation	JOE-CGT CTC CAC AGA AAC ATA CTC C-BHQ1

Таблиця 2

Праймери для визначення мутацій гена *MPL*

Table 2

Primers for gene mutations *MPL*

Призначення / Goal	Послідовність (5' → 3') / Sequence (5' → 3')
Прямий праймер / Direct primer	TGG GCC GAA GTC TGA CCC TTT
Зворотний праймер / Reverse primer	ACA GAG CGA ACC AAG AAT GCC TGT
Прямий праймер для секвенування Direct primer for sequencing	TGT CTC CTA GCC TGG ATC TCC
Зворотний праймер для секвенування Reverse primer for sequencing	TTC GGC TCC ACC TGG TCC

тон, Варрінгтон, Великобританія), по 1 мкл прямого та зворотного праймерів (табл. 3, 4) у концентрації 10 мкМ та автоклавована вода до досягнення об'єму 20 мкл. Ампліфікацію та плавлення фрагмента завдовжки 134 пар нуклеотидів проводили за допомогою інструменту Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System при таких умовах: 50 °C 20 с, 95 °C 10 хв із послідовними 40 циклами 95 °C 15 с та 60 °C 1 хв [14].

Таблиця 3

Праймери для визначення мутацій гена *CALR* 1 типу

Table 3

Primers for gene mutations *CALR* 1 type

Призначення / Goal	Послідовність (5' → 3') / Sequence (5' → 3')
Прямий праймер / Direct primer	GAA ACA AAT GAA GGA CAA ACA GG
Зворотний праймер / Reverse primer	CCT CAT CCT CCT CAT CCT CA

Таблиця 4

Праймери для визначення мутацій гена *CALR* 2 типу

Table 4

Primers for gene mutations *CALR* 2 type

Призначення / Goal	Послідовність (5' → 3') / Sequence (5' → 3')
Олігонуклеотидна специфічна проба до інсерції TTGTC Oligonucleotide specific assay for TTGTC insertion	JOE-ATC CTC CGA CAA TTG TCC TC-BHQ1
Олігонуклеотидна специфічна проба до дикого типу гена Oligonucleotide specific test for wild-type gene	FAM-TCA TCC TCC TTG TCC TCT GC-BHQ1

Результати аналізували, використовуючи програмне забезпечення Applied Biosystems 7500, Thermo Fisher Scientific, версія 2.0.4. Статистичний аналіз отриманих даних проводили із застосуванням точного тесту Фішера, *t*-критерію Стьюдента, дисперсійного аналізу (ANOVA). Відмінності вважали статистично вірогідними при $p < 0,05$. Для автоматизації розрахунків використовували програмне забезпечення Microsoft Excel 2016 та Social Science Statistics calculator.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Розподіл хворих на МПН за нозологією проводили після верифікації діагнозу, використовуючи діагностичні критерії ВООЗ 2016 року перегляду. Кількість хворих на СП з радіаційним анамнезом та без такого складала 36 і 70 відповідно, хворих на ЕТ – 12 і 46, на ПМФ – 36 і 71 відповідно. Причому, у групах хворих на МПН з радіаційним анамнезом чоловіків було більше, ніж в групах без радіаційного анамнезу і складала 81,1 % проти 41,9 % ($p < 0,001$). Така ж специфічність за статтю спостерігалася й у групах пацієнтів з СП, ЕТ та ПМФ, $p = 0,002$, $p = 0,018$ та

Scientific, Woolston, Warrington, Great Britain), 1 μ l of forward and reverse primers (Table 3,4) at a concentration of 10 μ M and autoclaved water to a volume of 20 μ l. Amplification and melting of a fragment of 134 nucleotide pairs was performed using the tool Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System under the following conditions: 50 °C for 20 sec, 95 °C 10 min followed by 40 cycles of 95 °C for 15 sec and 60 °C 1 min [14].

The results were analyzed using Applied Biosystems 7500 software, Thermo Fisher Scientific, version 2.0.4. Statistical processing of the obtained data was performed using Fisher's exact test, Student's *t*-test, analysis of variance (ANOVA). Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$. Microsoft Excel 2016 software and Social Science Statistics calculator were used to automate the calculations.

RESULTS AND DISCUSSIONS

The distribution of patients with MPN to clinical types was performed after verification of the diagnosis, using the diagnostic criteria of the WHO 2016 revision. The number of patients with PV with a radiation exposure history and without one was 36 and 70, patients with ET – 12 and 46, and with PMF – 36 and 71, respectively. Moreover, in the groups of patients with MPN with a history of radiation exposure there were more men than in the groups without a history of radiation exposure and it was 81.1 % vs. 41.9 % ($p < 0.001$). The same gender specificity

$p < 0,001$, відповідно (табл. 5). На момент встановлення діагнозу середній вік хворих на радіаційно-асоційовані МПН становив ($58,4 \pm 1,4$) року (медіана: 60 років; вікові межі: 11–79 років), на спонтанні МПН – ($51,1 \pm 1,1$) року (медіана: 53 роки; вікові межі: 19–87 років). Отже, хворі на радіаційно-асоційовані МПН були переважно чоловіками та старшими за віком, ніж хворі на спонтанні МПН, $p < 0,001$.

Визначення наявності мутації *JAK2 V617F* було проведено у всіх хворих на радіаційно-асоційовані та спонтанні МПН.

Загалом у хворих на спонтанні МПН було більше *JAK2 V617F*-позитивних випадків (75,4 %, 144 із 191 хворого), ніж у хворих на радіаційно-асоційовані МПН (58,9 %, 53 із 90 хворих), $p < 0,05$ (табл. 5, рис. 1), причому збільшення цих мутацій виявлено в кожній нозологічній формі – СП, ЕТ та ПМФ, хоча воно й не досягало рівня значущості. Переважання таких мутацій у досліджуваній групі зі спонтанними МПН узгоджуються з даними літератури, в яких використовувалась велика когорта пацієнтів [15]. Проте існують дані про поширеність мутації *V617F* гена *JAK2* серед осіб, які не мають онкогематологічних захворювань, що складають від 0,15 до 1,2 % [16–18].

Хворі з негативним за *JAK2 V617F* мутаційним статусом, були протестовані на наявність інших

was observed in the groups for PV, ET and PMF, $p = 0.002$, $p = 0.018$ and $p < 0.001$, respectively (Table 5). At the time of diagnosis, the mean age of patients with radiation-associated MPN was (58.4 ± 1.4) years (median: 60 years; age limits: 11–79 years), on spontaneous MPN – (51.1 ± 1.1) years (median : 53 years; age limits: 19–87 years). Therefore, patients with radiation-associated MPN were predominantly male and older than patients with spontaneous MPN, $p < 0.001$.

Determination of the presence of the *JAK2 V617F* mutation was performed in all patients with radiation-associated and spontaneous MPN.

In general, patients with spontaneous MPN had more *JAK2 V617F*-positive cases (75.4 %, 144 of 191 patients) than patients with radiation-associated MPN (58.9 %, 53 of 90 patients), $p < 0.05$ (Table 5, Fig. 1), and the increase in these mutations was detected in each clinical form – PV, ET and PMF, although not reaches the level of statistical significance. The predominance of such mutations in the study group with spontaneous MPN is consistent with data from the literature, which used a large cohort of patients [15]. However, there are data on the prevalence of *V617F* mutations in the *JAK2* gene among individuals without hematologic diseases, ranging from 0.15 to 1.2 % [16–18].

Patients with negative *JAK2 V617F* mutation status were tested for the presence of two other driver muta-

Таблиця 5

Частота мутацій генів *JAK2 V617F*, *MPL W515* та *CALR* 1-го та 2-го типів у хворих на радіаційно-асоційовані та спонтанні хронічні Ph-негативні мієлопроліферативні неоплазії

Table 5

Frequency of mutations of *JAK2 V617F*, *MPL W515* and *CALR* genes of the 1st and 2nd types in patients with radiation-associated and spontaneous chronic Ph-negative myeloproliferative neoplasia

Показник Indicator	СП / SP		ЕТ		ПМФ / PMF		МПН, неklasифіковані MPN, unclassified	
	IP в анамнезі IR in history (n = 36)	спонтанні spontaneous (n = 70)	IP в анамнезі IR in history (n = 12)	спонтанні spontaneous (n = 46)	IP в анамнезі IR in history (n = 37)	спонтанні spontaneous (n = 71)	IP в анамнезі IR in history (n = 5)	спонтанні spontaneous (n = 4)
Вік, роки Age, years	57 (30–79)	53 (19–83)	52 (11–74)	45 (23–87)	60 (40–78)	52 (23–76)	71 (65–79)	59 (51–65)
Чоловіки, n (%) Men, n (%)	28 (77,8)	32 (44,3)	9 (75,0)	15 (32,6)	31 (83,8)	30 (40,8)	5 (100)	3 (75,0)
Жінки, n (%) Women, n (%)	8 (22,2)	38 (54,3)	3 (25,0)	31 (67,4)	6 (16,2)	41 (57,7)	0	1 (25,0)
JAK, n (%)	29 (80,6)	65 (92,9)	6 (50)	29 (63)	16 (43,2)	45 (63,4)	0	0
MPL, n (%)	0	0	0	0	0	3 (4,2)	0	0
CALR 1, n (%)	0	0	4 (33,3)	3 (6,5)	7 (18,9)	3 (4,2)	0	0
CALR 2, n (%)	0	0	0	4 (8,7)	1 (2,7)	4 (5,6)	0	0
Без мутацій, n (%) Without mutations n (%)	7 (19,4)	5 (7,1)	2 (16,7)	10 (21,7)	13 (35,1)	16 (22,5)	0	0

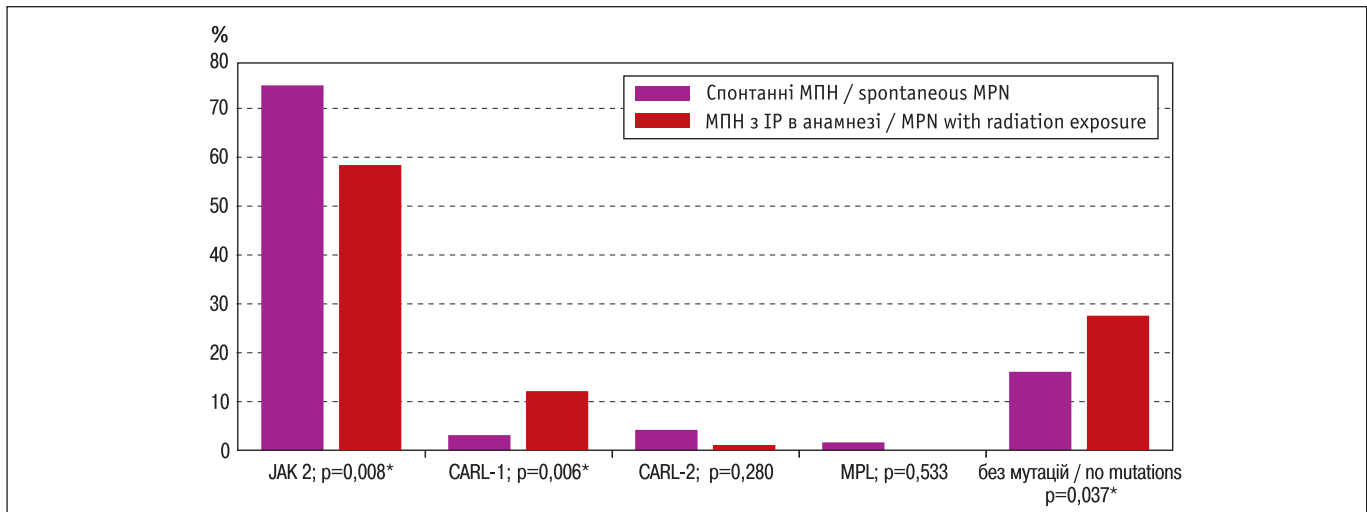


Рисунок 1. Частота драйверних мутацій генів *JAK2*, *MPL* та *CALR* в геномі хворих на Ph-негативні МПН
Figure 1. Frequency of driver mutations of *JAK2*, *MPL* and *CALR* genes in the genome of patients with Ph-negative MPN

двох драйверних мутацій в генах — *MPL* та *CALR* (рис. 1, табл. 5). Мутацію гена *CALR* 1-го типу (делеція 52 пар основ) виявляли з частотою вірогідно вищою у хворих з радіаційно-асоційованими ЕТ та ПМФ, ніж у хворих на спонтанні (33,3 % проти 6,5 % і 18,9 % проти 4,2 %, $p < 0,05$). Мутації *CALR* 2-типу також були виявлені лише у хворих з ЕТ та ПМФ, однак різниця між групами з радіаційним анамнезом і без такого, не досягала статистичної вірогідності. Загалом частота мутацій *CALR* обох типів без жодних мутацій *JAK2* і *MPL* превалювала у групі з радіаційним анамнезом і становила 33,3 % для ЕТ і 21,6 % для ПМФ, без радіаційного анамнезу — 15,2 % і 9,8 % відповідно, ($p < 0,05$).

Зі 191 досліджуваного хворого на спонтанні МПН мутації *MPL* W515 були виявлені лише у 3 осіб (1,6 %). Мутаційна частота *MPL* W515 у кожному з підтипів становила 0 % для СП, 0 % для ЕТ та 4,2 % для ПМФ (3 із 71). Вірогідної різниці щодо частоти мутацій *MPL* W515 та *CALR* 2-го типу (інсерція 5 пар основ) серед хворих на радіаційно-асоційовані та спонтанні МПН визначено не було.

Результати аналізу щодо пацієнтів на МПН з наявністю потрійно негативного статусу за основними драйверними мутаціями генів *JAK2*, *MPL* та *CALR* показав, що частота випадків без мутацій була вірогідно більшою в групі з радіаційним анамнезом ніж у групі без такого, і складала 27,8 % (25 із 90 хворих) проти 16,2 % (31 зі 191 хворого), $p < 0,05$ (рис. 2, табл. 5). Частота захворювань з потрійним негативним статусом становила 19,4 % серед пацієнтів з діагнозом СП, 16,7 % — з ЕТ і 35,1 % — з ПМФ у хворих з

tions in the genes — *MPL* and *CALR* (Fig. 1, Table 5). Type 1 *CALR* mutation (deletion of 52 base pairs) was found with a frequency significantly higher in patients with radiation-associated ET and PMF than in patients with spontaneous diseases (33.3 % vs. 6.5 % and 18.9 % vs. 4.2 %, $p < 0.05$). Mutations of *CALR* type 2 were also detected only in patients with ET and PMF, but the difference between the groups with a radiation history and without such, did not reach statistical probability. In general, the frequency of type 1 and 2 *CALR* mutation without any *JAK2* and *MPL* mutations prevailed in the group with radiation history and was 33.3 % for ET and 21.6 % for PMF, without radiation history — 15.2 % and 9.8 %, respectively, ($p < 0.05$).

Among the 191 patients studied for spontaneous MPN, *MPL* W515 mutations were detected in only 3 individuals (1.6 %). Mutational frequency *MPL* W515 in each of the clinical subtypes were 0 % for PV, 0 % for ET and 4.2 % for PMF (3 of 71). There was no significant difference in the frequency of mutations in *MPL* W515 and *CALR* type 2 (insertion of 5 base pairs) among patients with radiation-associated and spontaneous MPN.

The results of the analysis of patients with MPN with the presence of triple negative status according to the main driver mutations of *JAK2*, *MPL* and *CALR* genes showed that the frequency of cases without mutations was probably higher in the group with radiation exposure history than in the group without such, and was 27.8 % (25 of 90 patients) versus 16.2 % (31 of 191 patients), $p < 0.05$ (Fig. 2, Table 5). The incidence of diseases with triple negative status was 19.4 % with a diagnosis of PV, 16.7 % — with ET and

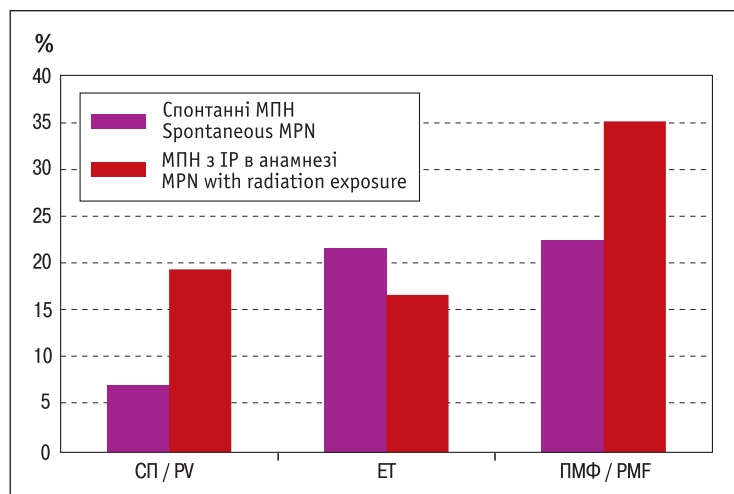


Рисунок 2. Частота випадків, потрійно-негативного мутаційного статусу генів *JAK2*, *MPL* та *CALR* у хворих на Rh-негативні МПН із радіаційним анамнезом та без такого в групах за фенотиповою ознакою

Figure 2. Frequency of cases of triple-negative mutation status of *JAK2*, *MPL* and *CALR* genes in patients with Ph-negative MPN with radiation history and without it in groups by phenotypic trait

радіаційним анамнезом, без радіаційного анамнезу – 7,1 % з СП, 21,7 % з ЕТ і 22,5% – з ПМФ. Виявлений підвищений рівень потрійно- негативного статусу в групах хворих на МПН з радіаційним анамнезом не знаходить підтвердження в даних літератури, де частота виявлялася помітно нижчою [15]. Ці розбіжності в діапазоні частот можна віднести до різних методів вибору пацієнтів, розміру вибірки та чутливості методів, або констатувати це, як вплив несприятливого екзогенного фактора і розглядати хворих, як у групі ризику. Таким фактором, у нашому випадку, може бути ІР. До того ж, необхідно відзначити, що пацієнти з потрійними негативними показниками гірше переносять перебіг захворювання і мають коротшу середню загальну виживаність (медіана: 2,3 року), порівняно з позитивним мутаційним статусом генів *CALR* (медіана: 15,9 року), *JAK2* (медіана: 5,9 року) або *MPL* (медіана: 9,9 року) [15], що дає підставу віднести їх до групи ризику.

У групах хворих на радіаційно-асоційовані та спонтанні некласифіковані МПН виявлено мутації *JAK2* V617F лише у двох і чотирьох випадках відповідно. Мутацій генів *MPL* та *CALR* не було виявлено. Щодо частоти мутацій гена *JAK2* та потрійно-негативного мутаційного статусу за основними генами *JAK2*, *MPL* та *CALR* у хворих на радіаційно-асоційовані та спонтанні некласифіковані МПН, не було виявлено, $p = 0,167$.

ВИСНОВКИ

1. Показана відмінність за частотою основних соматичних мутацій в генах *JAK2*, *MPL* та *CALR* у геномі хворих на Rh-негативні МПН, які зазнали впливу ІР внаслідок аварії на ЧАЕС, і пацієнтів без радіаційного анамнезу.
2. Показано достовірно вищий рівень потрійно-негативного мутаційного статусу за драйверними му-

35.1 % – with PMF in patients with radiation exposure history, without radiation exposure history – 7.1 % with PV, 21.7 % with ET and 22.5 % with PMF. The increased level of triple-negative status in groups of patients with MPN with a radiation exposure history is not confirmed in the literature, where the frequency was markedly low [15]. These differences in the frequency range can be attributed to different methods of patient selection, sample size and sensitivity of methods, or be a sign of adverse exogenous factors and consider such patients as a high-risk. Such factor, in our case, may be ionizing radiation. In addition, it should be noted that patients with triple negative indicators are less tolerant of the disease and have a shorter overall survival (median: 2.3 years), compared with the positive mutational status of the genes *CALR* (median: 15.9 years), *JAK2* (median: 5.9 years) or *MPL* (median: 9.9 years) [15], which gives grounds to classify them as high-risk.

In groups of patients with radiation-associated and spontaneous unclassified MPN, mutation *JAK2* V617F were detected in only two and four cases, respectively. No mutations in the *MPL* and *CALR* genes were detected. Regarding the frequency of mutations in the *JAK2* gene and the triple-negative mutation status of the main genes *JAK2*, *MPL* and *CALR* in patients with radiation-associated and spontaneous unclassified MPN, difference was not detected, $p = 0.167$.

CONCLUSIONS

1. The difference in the frequency of the main somatic mutations is shown in *JAK2*, *MPL* and *CALR* genes in the genome of patients with Ph-negative MPN affected by IR as a result of the Chernobyl accident and patients without a history of radiation exposure.
2. Significantly higher level of triple-negative mutation status was shown by driver mutations of

таціями генів *JAK2*, *MPL* та *CALR* у групі хворих на МПН з радіаційним анамнезом, ніж без такого (27,8 % проти 16,2 %; $p = 0,037$).

3. Частота *JAK2* V617F мутацій була вірогідно вищою у групі хворих на спонтанні Ph-негативні МПН, ніж у групі з радіаційним анамнезом (75,4 % проти 58,4 %; $p = 0,008$). Знижений рівень частоти *JAK2* V617F мутації в групі хворих з радіаційним анамнезом свідчить, ймовірно, про те, що ця мутація не відіграє ключової ролі в розвитку захворювання після дії іонізуючої радіації.

4. Частота мутації 1-го типу гена *CALR* у хворих на радіаційно-асоційовані МПН достовірно вища, ніж у хворих на спонтанні МПН (12,2 % проти 3,1 %; $p = 0,006$).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Чехун В. Ф., Глузман Д. Ф. Ионизирующая радиация и онкогематологические заболевания. Киев: ДИА, 2016. 284 с.
2. Allelic imbalances in radiation-associated acute myeloid leukemia / S. V. Klymenko, J. Smida, M. J. Atkinson, V. G. Bebeshko, M. Nathrath, M. Rosemann. *Genes (Basel)*. 2011. Vol. 2, no. 2. P. 384–393. doi: 10.3390/genes2020384.
3. Molecular characterization of ph-negative myeloproliferative neoplasms in Ukraine / O. Y. Mishcheniuk, O. M. Kostukevich, I. V. Dmytrenko, et al. *Exp. Oncol.* 2013. Vol. 35. 202–206.
4. Incidence of multiple myeloma among cleanup workers of the Chernobyl accident and their survival / D. Bazyka, N. Gudzenko, I. Dyagil et al. *Exp. Oncol.* 2016. Vol. 38, no. 4. P. 267–271.
5. Role of radiosensitivity and radioresistance genetic markers in hematological and cardiovascular disease in persons exposed after the Chernobyl accident / J. M. Minchenko, I. S. Dyagil, O. O. Dmytrenko et al. *Probl. Radiac. Med. Radiobiol.* 2013. Vol. 18. P. 220–231.
6. Milosevic Feenstra J. D., Nivarthi H. Whole-exome sequencing identifies novel *MPL* and *JAK2* mutations in triple-negative myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2016. Vol. 127. P. 325–332. doi: 10.1182/blood-2015-07-661835.
7. Presentation and outcome of patients with 2016 WHO diagnosis of pre-fibrotic and overt primary myelofibrosis / P. Guglielmelli, A. Pacilli, G. Rotunno et al. *Blood*. 2017. Vol. 129, no. 24. P. 3227–3236. doi: 10.1182/blood-2017-01-761999.
8. The 2016 WHO classification and diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms: document summary and in-depth discussion / T. Barbui, J. Thiele, H. Gisslinger et al. *Blood Cancer J.* 2018. Vol. 8, no. 2. P. 15. doi: 10.1038/s41408-018-0054-y.
9. Furtado L. V., Weigelin H. C., Elenitoba-Johnson K. S. J. Detection of *MPL* mutations by a novel allele-specific PCR-based strategy. *J. Mol. Diagn.* 2013. Vol. 15, no. 6. P. 810–818. doi: 10.1016/j.jmoldx.2013.07.006.

JAK2, *MPL* and *CALR* genes in the group of patients with MPN with radiation history (27.8 % vs. 16.2 %, $p = 0.037$).

3. The frequency of *JAK2* V617F mutations was probably higher in the group of patients with spontaneous Ph-negative MPN than in the group with a radiation exposure history (75.4 % vs. 58.4 %), $p = 0.008$. The reduced frequency of *JAK2* V617F mutations in the group of patients with a history of radiation exposure probably indicates that this mutation does not play a key role in the development of the disease after exposure to ionizing radiation.

4. The frequency of mutations in type 1 *CALR* gene in patients with radiation-associated MPN is significantly higher than in patients with spontaneous MPN (12.2 % vs. 3.1 %, $p = 0.006$).

REFERENCES

1. Chekhun VF, Gluzman DF. Ionizing radiation and oncohematological diseases. Kiev. DIA, 2016. 284 c
2. Klymenko SV, Smida J, Atkinson MJ, Bebeshko VG, Nathrath M, Rosemann M. Allelic imbalances in radiation-associated acute myeloid leukemia. *Genes (Basel)*. 2011;2(2):384-393. doi: 10.3390/genes2020384
3. Mishcheniuk OY, Kostukevich OM, Dmytrenko IV, Sholoyko W, Prokopenko IM, Martina ZV, et al. Molecular characterization of ph-negative myeloproliferative neoplasms in Ukraine. *Exp Oncol.* 2013;35(3):202-206.
4. Bazyka D, Gudzenko N, Dyagil I, Trotsiuk N, Gorokh E, Fedorenko Z, et al. Incidence of multiple myeloma among cleanup workers of the Chernobyl accident and their survival. *Exp Oncol.* 2016; 38(4):267-271.
5. Minchenko JM, Dyagil IS, Dmytrenko OO, Dmytrenko IV, Shlaykhtychenko TY, Gavrylenko TI, et al. Role of radiosensitivity and radioresistance genetic markers in hematological and cardiovascular disease in persons exposed after the Chernobyl accident. *Probl Radiac Med Radiobiol.* 2013;18:220-231.
6. Milosevic Feenstra JD, Nivarthi H, Gisslinger H, Leroy E, Rumi E, Chachoua I, et al. Whole-exome sequencing identifies novel *MPL* and *JAK2* mutations in triple-negative myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2016;127(3):325-332. doi: 10.1182/blood-2015-07-661835.
7. Guglielmelli P, Pacilli A, Rotunno G, Rumi E, Rosti V, Delaini F, et al. Presentation and outcome of patients with 2016 WHO diagnosis of pre-fibrotic and overt primary myelofibrosis. *Blood*. 2017; 129(24):3227-3236. doi: 10.1182/blood-2017-01-761999.
8. Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, Kvasnicka HM, Vannucchi AM, Guglielmelli P, et al. The 2016 WHO classification and diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms: document summary and in-depth discussion. *Blood Cancer J.* 2018;8(2):15.

10. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia / Y. Pikman, B. H. Lee, T. Mercher et al. *PLoS Med.* 2006. Vol. 3, no. 7. P. e270. doi: 10.1371/journal.pmed.0030270.
11. New mutations of MPL in primitive myelofibrosis: only the MPL W515 mutations promote a G1/S-phase transition / R. Chaligne, C. Tonetti, R. Besancenot et al. *Leukemia.* 2008. Vol. 22, no. 8. P. 1557–1566. doi: 10.1038/leu.2008.137.
12. Vainchenker W., Kralovics R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. *Blood.* 2017. Vol. 129, no. 6. P. 667–679. doi: 10.1182/blood-2016-10-695940.
13. Detection of the JAK2 V617F mutation by lightcycler PCR and prove dissociation analysis / M. Lay, R. Mariappan, J. Gotlib et al. *J. Mol. Diagn.* 2006. Vol. 8, no. 3. P. 330–334. doi: 10.2353/jmoldx.2006.050130.
14. Rapid and sensitive detection of CALR exon 9 mutations using high-resolution melting analysis / K.-H. Lim, H.-C. Lin, C. G.-S. Chen et al. *Clin. Chim. Acta.* 2015. Vol. 440. P. 133–39. doi: 10.1016/j.cca.2014.11.011.
15. Long-term survival and blast transformation in molecularly annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis / A. Tefferi, P. Guglielmelli, D. R. Larson et al. *Blood.* 2014. Vol. 124, no. 16. P. 2507–2513. doi: 10.1182/blood-2014-05-579136.
16. Kenneth O., Bruce T. Community health screening for JAK2 (V617F) mutation. 2010. Available at: <http://www.atsdr.cdc.gov/HAC/pha/CommunityHealthScreeninginPA2010/CommunityHealthScreeningReport.pdf>. Accessed December 29, 2015.
17. JAK2V617F somatic mutation in the general population: myeloproliferative neoplasm development and progression rate / C. Nielsen, S. E. Bojesen, B. G. Nordestgaard et al. *Haematologica.* 2014. Vol. 99, no. 9. P. 1448–1455. doi:10.3324/haematol.2014.107631.
18. JAK2V617F: prevalence in a large Chinese hospital population / X. Xu, Q. Zhang, J. Luo et al. *Blood.* 2007. Vol. 109, no. 1. P. 339–342. doi:10.1182/blood-2006-03-00947
9. Furtado L V., Weigelin HC, Elenitoba-Johnson KSJ, Betz BL. Detection of MPL mutations by a novel allele-specific PCR-based strategy. *J Mol Diagn.* 2013;15(6):810-818. doi: 10.1016/j.jmoldx.2013.07.006.
10. Pikman Y, Lee BH, Mercher T, McDowell E, Ebert BL, Gozo M, et al. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med.* 2006;3(7):e270. doi: 10.1371/journal.pmed.0030270.
11. Chaligne R, Tonetti C, Besancenot R, Roy L, Marty C, Mossuz P, et al. New mutations of MPL in primitive myelofibrosis: Only the MPL W515 mutations promote a G1/S-phase transition. *Leukemia.* 2008;22(8):1557-1566. doi: 10.1038/leu.2008.137.
12. Vainchenker W, Kralovics R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. *Blood.* 2017;129(6):667-679. doi: 10.1182/blood-2016-10-695940.
13. Lay M, Mariappan R, Gotlib J, Dietz L, Sebastian S, Schrijver I, et al. Detection of the JAK2 V617F mutation by lightcycler PCR and prove dissociation analysis. *J Mol Diagn.* 2006;8(3):330-334. doi: 10.2353/jmoldx.2006.050130.
14. Lim K-H, Lin H-C, Chen CG-S, Wang W-T, Chang Y-C, Chiang Y-H, et al. Rapid and sensitive detection of CALR exon 9 mutations using high-resolution melting analysis. *Clin Chim Acta.* 2015;440:133-139.
15. Tefferi P, Guglielmelli DR, Larson DR, Finke C, Wassie EA, Pieri L, et al. Long-term survival and blast transformation in molecularly annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis. *Blood.* 2014;124(16):2507-2513. doi: 10.1182/blood-2014-05-579136.
16. Kenneth O, Bruce T. Community health screening for JAK2 (V617F) mutation, 2010. Available at: <http://www.atsdr.cdc.gov/HAC/pha/CommunityHealthScreeninginPA2010/CommunityHealthScreeningReport.pdf>. Accessed December 29, 2015.
17. Nielsen C, Bojesen SE, Nordestgaard BG, Kofoed KF, Birgens HS. JAK2V617F somatic mutation in the general population: myeloproliferative neoplasm development and progression rate. *Haematologica.* 2014;99(9):1448-1455. doi:10.3324/haematol.2014.107631
18. Xu X, Zhang Q, Luo J, Xing S, Li Q, Krantz SB, Fu X, Zhao ZJ. JAK2V617F: prevalence in a large Chinese hospital population. *Blood.* 2007;109(1):339-342. doi:10.1182/blood-2006-03-00947

ІНФОРМАЦІЯ ПРО АВТОРІВ

Полубень Лариса Олександрівна, кандидат медичних наук, молодший науковий співробітник лабораторії медико-генетичного консультування, Інститут експериментальної радіології, ННЦРМ, м. Київ

Неумержицька Любов Володимирівна, кандидат біологічних наук, провідний науковий співробітник лабораторії мутагенезу і антимутагенезу. Інститут експериментальної радіології, ННЦРМ, м. Київ

Клименко Сергій Вікторович, доктор медичних наук, професор, завідувач відділу медичної генетики, Інститут експериментальної радіології ННЦРМ, м. Київ

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Larysa O. Poluben, Candidate of Medical Sciences, Junior Researcher of the Laboratory of Medical Genetic Counseling, Institute of Experimental Radio & logy, NRCRM, Kyiv, Ukraine

Lyubov V. Neumerzhytska, Candidate of Medical Sciences, Leading Researcher of the Laboratory of Mutagenesis and Antimutagenesis, Institute of Experimental Radiology, NRCRM, Kyiv, Ukraine

Serhii V. Klymenko, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Medical Genetics, Experimental Radiology Institute, NRCRM, Kyiv, Ukraine

Стівен Балк, професор медицини, M.D., PhD, Гарвардська медична школа, Бет Ізраел Діконес Медичний Центр, м. Бостон, США

Пола Френкель, науковець Гарвардської медичної школи, м. Бостон, США

Шумейко Олександр Олександрович, асистент кафедри внутрішньої медицини №1 Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, м. Київ

Steven P. Balk, M.D., Ph.D., Professor of Medicine, Harvard Medical School, Beth Israel Deaconess Medical Center, Boston, USA

Paula G. Fraenkel, M.D., Scientist, Harvard Medical School, Boston, USA

Oleksandr O. Shumeiko, teaching assistants of the Department of Internal Medicine №1, Bogomolets National Medical University, Kyiv Ukraine

Стаття надійшла до редакції 14.07.2020

Received: 14.07.2020