

Aim. To establish the prevalence of H1069Q mutations of the *ATP7B*, C282Y and H63D of the *HFE* gene and the contribution of hereditary hemochromatosis (HH) and Wilson's disease (WD) into the etiology of idiopathic hepatobiliary disorders.

Methods. DNA was isolated from blood samples using a modified salting out method. Detection of H63D and C282Y mutations of *HFE* gene was carried out using PCR and restriction fragment length polymorphism analysis, H1069Q by BI PASA analysis and detected by agarose electrophoresis.

Results. 28.57% of the subjects were carriers of H63D mutation of *HFE* gene, 13.44% – carriers of C282Y mutation of the *HFE* gene but only one case of HH was confirmed. H1069Q mutation of *ATP7B* gene was detected in 4.0% cases which were confirmed as WD diagnosis. Such results are due to a significant higher population frequency of mutations in the *HFE* gene compared to *ATP7B*.

Conclusions. The detection four times more cases of WD compared with the HH indicates a greater contribution of WD to the etiology of idiopathic hepatobiliary disorders, compared to HH.

Key words: *ATP7B* gene, *HFE* gene, Wilson's disease, hereditary hemochromatosis, idiopathic hepatitis.

Рецензент – проф. Старченко І. І.

Стаття надійшла 06.03.2019 року

DOI 10.29254/2077-4214-2019-1-2-149-229-234

УДК 575.116.4:616.155.392-002.2-037-085

Дмитренко І. В., Мінченко Ж. М., Федоренко В. Г., Дягіль І. С.

ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ДОДАТКОВИХ ХРОМОСОМНИХ АБЕРАЦІЙ У ПАЦІЄНТІВ З ХРОНІЧНОЮ МІЕЛОЇДНОЮ ЛЕЙКЕМІЄЮ, ЯКІ ОТРИМУЮТЬ ТЕРАПІЮ ІНГІБИТОРАМИ ТИРОЗИНКІНАЗ

Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України»
(м. Київ)

iryna.v.dmytrenko@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконувалася в рамках науково-дослідних робіт відділу гематології та трансплантології Державної установи «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України» за темами «Вивчення молекулярно-генетичних механізмів формування резистентності до терапії інгібіторами тирозинкіназ у хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію для обґрунтування шляхів її подолання», № державної реєстрації 0113U002315, та «Роль мутацій гену *BCR/ABL*, хромосомних, молекулярно-генетичних порушень та імунгенетичних показників у формуванні підходів до оптимізації таргетної терапії хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію у віддалений період після аварії на ЧАЕС», № державної реєстрації 0116U003574.

Вступ. Хронічна мієлоїдна лейкемія (ХМЛ) – одне з небагатьох онкогематологічних захворювань, яке характеризується наявністю специфічного діагностично значущого генетичного порушення, а саме присутністю в лейкемічних клітинах транслокації t(9;22). Така хромосомна перебудова призводить до формування химерного гена *BCR/ABL1* [1,2].

На сьогоднішній день у 10-15% пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ визначають наявність додаткових хромосомних аномалій (ДХА), відмінних від класичної транслокації t(9;22). Показано, що їх частота вище у пацієнтів у фазі акселерації і бластного кризу. Появу ДХА відносять до *BCR/ABL1*-незалежних шляхів розвитку резистентності до терапії інгібіторами тирозинкіназ (ІТК), яка спрямована на елімінацію *BCR/ABL1*-позитивних клітин [3].

Значення ДХА для прогнозу відповіді на терапію ІТК вивчено недостатньо. Діючі рекомендації ELNet 2013 вважають наявність додаткових хромосомних аберацій на етапі діагностики несприятливим прогностичним фактором [4]. Wang W. з співавторами [3] підкреслюють, що тільки деякі ДХА асоціюються

з поганим прогнозом перебігу ХМЛ. Проте Всесвітня організація охорони здоров'я розглядає ДХА як ознаку прогресії тільки у випадку, коли вони з'являються в процесі лікування, тоді вони визначаються як ознака клональної еволюції [5].

Багато в чому така невизначеність обумовлена низькою частотою додаткових хромосомних аберацій у пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ, а також варіабельністю виявлених ДХА. Тому дослідження значення ДХА у формуванні відповіді на терапію ІТК у хворих на ХМЛ є актуальним.

Мета дослідження. Вивчити частоту хромосомних аберацій в Ph+ клітинах кісткового мозку та їх вплив на розвиток резистентності до інгібіторів тирозинкіназ у пацієнтів з хронічною мієлоїдною лейкемією.

Об'єкт і методи дослідження. Цитогенетичне дослідження проводили у 547 пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ перед призначенням терапії ІТК. Всі пацієнти надали інформовану згоду на використання їх біоматеріалу для дослідження. Діагноз ХМЛ було встановлено або підтверджено співробітниками відділення радіаційної онкогематології і трансплантації стовбурових клітин Інституту клінічної радіології Національного наукового центру радіаційної медицини. Серед обстежених пацієнтів 514 отримували терапію иматинібом, а 33 – нилотинібом. Більшість пацієнтів отримували попереднє лікування різними препаратами (гідроксисечовина, бусульфан, інтерферон) до призначення інгібіторів тирозинкіназ. Тривалість передлікованості становила від 1 до 268 місяців (медіана 9,8 міс).

Стандартне цитогенетичне дослідження передбачало аналіз метафазних пластинок з 24-годинних нестимульованих культур клітин кісткового мозку. Культивування клітин протягом 24 годин здійснювали у поживному середовищі RPMI-1640 («Sigma», США) з додаванням 20 % телячої ембріональної

сироватки. Для отримання диференційного GTG-забарвлення препарати метафазних хромосом фарбували за стандартною методикою з використанням барвника Гімзи та 0,25 % розчину трипсину. Ідентифікацію кожної пари хромосом та їх змін проводили згідно з критеріями «Міжнародної системи для номенклатури в цитогенетиці людини – 2013» (ISCN) [6]. У кожного хворого аналізували 15-20 метафазних пластинок. В облік брали тільки клональні порушення. Клоном вважали порушення, яке повторювалося не менше ніж двічі на 20 проаналізованих пластинок, якщо мова йшла про структурні аномалії або появу додаткової хромосоми. Клон із втратою хромосоми враховували тільки при наявності мінімум трьох клітин з однаковою чисельною аномалією [6,7].

Моніторинг тирепії ІТК проводили шляхом визначення кількості Ph+ метааз в кістковому мозку (цитогенетичний моніторинг) та/або визначення рівня експресії химерного гена *BCR/ABL1* в клітинах периферичної крові (молекулярний моніторинг) методом ЗТ-ПЛР з детекцією в реальному часі. Терміни моніторингу відповідали зазначеним у рекомендаціях ELNet 2013 [4]. Рівень транскрипта гена *BCR/ABL1* нижче 1% вважали еквівалентом повної цитогенетичної відповіді (ПЦВ), що відповідало 0% Ph+ метафаз в кістковому мозку. Велика молекулярна відповідь (ВМВ) визначалась як рівень експресії *BCR/ABL1*-транскрипту $\leq 0,1$ %. Глибока молекулярна відповідь (МВ⁴) визначалась як рівень експресії *BCR/ABL1*-транскрипту $\leq 0,01$ % при кількості *ABL1* копій не менше 10 000 [4]. Первинною резистентністю вважали кількість Ph+ клітин в кістковому мозку більше 0% та/або рівень транскрипту *BCR/ABL1* більший 1% через 12 міс. терапії ІТК. Вторинною резистентністю вважали втрату досягнутої повної гематологічної,

цитогенетичної і/або великої молекулярної відповіді чи прогресію захворювання під час лікування ІТК. Прогресією вважали трансформацію до фази акселерації або бластної кризи [4]. Для визначення прогностичної значущості показника щодо відповіді на терапію ІТК оцінювали ступінь редукції пухлинного клону на 12 міс. за критеріями ELN 2013, та на 24 міс. терапії ІТК, динаміку досягнення повної цитогенетичної, великої молекулярної та глибокої молекулярної відповіді, а також довгострокові показники ефективності терапії: 5-ти річну загальну, безпідйну виживаність та виживаність без прогресії.

Різницю між показниками оцінювали за допомогою χ^2 -тесту та точного критерію Фішера для категоріальних змінних та U-тесту Манна-Уїтні для безперервних змінних [8]. Імовірність загальної виживаності (OS), виживаності без прогресії (PFS), і безпідйної виживаності (EFS) розраховували за методом Карлан-Меєр [9]. PFS визначали як виживаність без ознак прогресії (трансформації в фазу акселерації або бластної кризи). Подією при розрахунку ймовірності EFS вважали смерть від будь-яких причин,

прогресію і втрату досягнутої ПЦВ або ВМВ. Подією при розрахунку OS вважали смерть на терапії ІТК 1-ї лінії. Відмінності між групами оцінювали за допомогою log-rank тесту [9]. Кумулятивну ймовірність ПЦВ та ВМВ оцінювали методом Карлан-Меєр за період від початку терапії до часу досягнення відповіді. При цьому дані про пацієнтів, які не отримали адекватної відповіді, були переведені на інший ІТК, померли або спогресували, цензурували за останньою датою спостереження. Статистичний аналіз проводили з використанням пакету статистичних програм SPSS for Windows (версія 20.0). Розбіжності між параметрами, що порівнювалися, вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Загальна характеристика пацієнтів з груп спостереження наведена в таблиці 1.

Цитогенетичне дослідження клітин кісткового мозку виявило у всіх обстежених пацієнтів класичну транслокацію t(9;22)(q34;q11), яка є специфічною для даного захворювання. Кількість Ph+ клітин коливалася від 25 до 100%, проте у переважній більшості пацієнтів (90 %) кількість Ph+ клітин до призначення ІТК перевищувало 75 %. Серед обстежених пацієнтів 502 (91,8%) мали тільки класичну транслокацію t(9;22)(q34;q11) без додаткових хромосомних аберацій (ДХА). У 45 (8,2 %) пацієнтів було виявлено інші цитогенетичні аномалії, а саме: у 29 пацієнтів (5,3%) спостерігалися варіантні транслокації, які формува-

Таблиця 1.

Загальна характеристика пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ в дебюті захворювання

Показник	Пацієнти без ДХА та варіантних транслокацій (n=502)	Пацієнти з варіантними транслокаціями (n=29)	Пацієнти з ДХА в Ph+ клітинах (n=16)	Рівень значущості, p
Вік, медіана (діапазон), роки	43 (18 – 82)	47 (23 – 64)	43 (18 – 65)	0,760
Стать чоловіки, n (%)	248 (49,4)	11 (37,9)	8 (50%)	0,478
Час до початку терапії ІТК, медіана (діапазон), міс.	4,0 (0 – 95,0)	6,0 (0,3 – 103,0)	5,0 (0,6 – 161,0)	0,506
Тривалість спостереження, медіана (діапазон), міс.	31,0 (4,0 – 120,0)	42,0 (8,0 – 120,0)	27 (2,0 – 77,0)	0,865

лися із залученням трьох хромосом t(9;V;22), а у 16 пацієнтів (2,9%) – додаткові хромосомні аберації в Ph+ клітинах (один пацієнт мав одночасно ДХА та варіантну транслокацію t(9;V;22) та був віднесений до групи пацієнтів з ДХА).

Варіантні транслокації, які було виявлено у пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ до призначення терапії ІТК, наведено в таблиці 2.

Найчастіше до утворення варіантної транслокації t(9;V;22) залучалась 1-ша хромосома (у 4 пацієнтів), 6-та хромосома (у 3 пацієнтів) та 12 хромосома (у 3 пацієнтів). В 7 випадках не вдалося точно ідентифікувати додаткову хромосому і каріотип було зафіксовано як der(9)t(9;?;22)(q34;?;q11). Майже у всіх пацієнтів варіантна транслокація була зареєстрована як єдиний патологічний клон. В одному випадку при каріотипуванні перебудова була ідентифікована як транслокація t(9;16)(q34;p11.1). І тільки застосування молекулярно-генетичного методу зі специфічними праймерами показало експресію химерного гену *BCR/ABL*, що було доказом залучення 22-ї хромосоми, а головне – що внаслідок складної транслокації

Таблиця 2. Каріотиби клітин кісткового мозку з варіантними транслокаціями у хворих на ХМЛ до призначення терапії ІТК

Реєстраційний № пацієнта	Стать	Кількість Ph+ метафаз, %	Каріотип
1	2	3	4
44	ч	100	46XY,t(9;12;22)(q34; q12;q11)[20]
113	ж	95	46,XX,der(9)t(9;?;22)(q34;?;q11) [19] 46,XX[1]
136	ж	100	46,XX,t(9;15;22)(q34; q22;q11)[16]
171	ж	100	46,XX,t(5;9; 22)(q31;q34; q11)[20]
241	ч	100	46,XY,t(6;9;22)(p22;q34;q11)[20]
330	ч	95	46,XY,t(2;9;22)(q21;q34;q11)[19]/46,XY[1]
331	ж	100	46,XX,t(9;12;22)(q34;q13;q11) [20]
362	ж	100	46,XX,der(9)t(9;?;22)(q34;?;q11)[20]
462	ч	100	46,XY,t(4;9;22)(q31.1;q34;q11)[20]
469	ж	100	46,XX,t(1;9;22)(p32;q34;q11)[20]
488	ч	100	46,XY,t(3;9;22)(p14;q34;q11)[20]
496	ж	100	46XX,t(4;9;22;)(p1.6;q34;q11)[20]
689	ж	100	46,XX,t(6;9;22;)(q23;q34;q11)[20]
697	ч	100	46,XY,t(6;9;22)(p22;q34;q11)[20]
702	ж	100	46,XX,t(9;14;22)(q34; q22;q11)[20]
761	ч	100	46,XY,t(9;21;22;)(q34; q22.2;q11)[20]
958	ч	85	46,XY,t(9;12;22)(q34;q12;q11)[17]/ 46,XY[3]
1036	ж	70	46,XX,t(1;9;22)(q32;q34;q11)[15]/46,XX[5]
1060	ч	87	46,XY,t(9;11;22;)(q34; p14.3;q11)[13]/46,XY[2]
1079	ч	100	46,XY,der(9)t(9;?;22)(q34;?;q11) [20]
1097	ж	100	46,XX,t(9;17;22)(q34;q2.1;q11)[20]
1116	ж	100	46,XX,t(5;9;22)(p12;q34;q11)[15]
1222	ж	100	46,XX,t(1;9;22)(q25;q34;q11)[15]
1263	ж	100	46,XX,t(1;9;22)(q21.2;q34;q11)[20]
1334	ч	100	46,XY, der(9)t(9;?;22)(q34;?;q11) [18]
1400	ж	100	46,XX,der(9)t(9;?;22)(q34;?;q11) [15]
1475	ж	100	46,XX,der(9)t(9;?;22)(q34;?;q11) [15]
1484	ж	100	46,XX,der(9)t(9;?;22)(q34;?;q11) [15]
1495	ж	100	46,XX,der(9)t(9;16;22)(q34; p11.1;q11) [15]

утворився дериват der(22)t(9;22), який є патогенетичною ознакою ХМЛ.

У 16-ти інших пацієнтів крім специфічної транслокації t(9;22) виявили додаткові клональні хромосомні аномалії, з них у 5 пацієнтів реєструвалася додаткова Ph-хромосома – der(22)t(9;22)(q34;q11) (табл. 3).

Аналіз відповіді на терапію ІТК згідно критеріїв ELNet 2013 через 12 міс. терапії виявив в групі пацієнтів з ДХА переважання випадків розвитку первинної резистентності (відсутність ПЦВ та/або BCR/ABL1>1%) порівняно з пацієнтами з класичною транслокацією t(9;22)(q34;q11) та варіантними транслокаціями (60,% vs 40,6% та 50,0% відповідно). Проте, зважаючи на великий розмір груп з некласичними транслокаціями, статистичну значущість розбіжностей не було підтверджено (табл. 4). Також не виявлено розбіжностей у ефективності терапії через 24 міс. (групи не відрізнялись за частотою досягнення глибокої молекулярної відповіді).

Аналіз динаміки редукції пухлинного клону методом Kaplan-Meier показав, що кумулятивна частота досягнення ПЦВ та ВМВ не залежала від наявності або відсутності варіантних транслокацій та ДХА. Не було виявлено статистично значущих розбіжностей у кумулятивній вірогідності досягнення ПЦВ та ВМВ (p = 0,712 та p = 0,111 відповідно) у пацієнтів з класичною транслокацією t(9;22)(q34;q11), пацієнтів з варіантними транслокаціями та пацієнтів з ДХА (табл. 5).

Тривалість спостереження складала 31,0 міс. (від 4,0 до 120,0 міс.) для па-

Таблиця 3. Каріотиби клітин кісткового мозку з додатковими хромосомними абераціями у хворих на ХМЛ до призначення терапії ІТК

Реєстраційний № пацієнта	Стать	Кількість Ph+ метафаз, %	Кількість метафаз з ДХА, %	Каріотип
119	ж	100	100	46,XX, t(9;22)(q34;q11), i(17)(q10)[15]
199	ж	100	100	46,XX, t(4;9)(q28;q23),t(9;22)(q34;q11) [20]
321	ж	80	80	46,XX,dup(3)(p21;p27),(9;22)(q34;q11)[16]/46,XX[4]
342	ж	100	100	47,XX,t(9;22)(q34;q11),+der(22)t(9;22)(q34;q11)[20]
343	ч	100	100	46XY,t(9;22)(q34;q11),+der(22)t(9;22)(q34;q11) [20]
428	ж	95	5	46,XX,t(9;22)(q34;q11)[18]/idem,+der(22)t(9;22)[1]/46,XX, [1]
494	ж	100	30	47,XX,t(9;22)(q34;q11),+3[6]/ 46,XX,t(9;22)(q34;q11)[14]
554	ч	42	100	46~48,XY,der(9)t(q21;?)[19],del(10)(p11.2)[19], t(9;22)(q34;q11)[8],+8[3],+15[9][cp19]
601	ч	100	100	46,XY,del(3)(p11p21),t(9;22)(q34;q11)[20]
628	ч	80	80	46,XY,t(9;22)(q34;q11),+10[20]
631	ч	100	30	45,X,t(9;22)(q34;q11),-Y[6]/ 46,XY,t(9;22)(q34;q11)[14]
647	ж	100	100	46,XX,t(3;21)(q26;q22),t(9;22)(q34;q11)[20]
1150	ч	90	90	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[17]/ idem,+der(22)t(9;22)[1]/46,XY[2]
1179	ж	100	60	47,XX,t(9;22)(q34;q11),+der(22)t(9;22)[2]/ 46,XX,t(9;22)(q34;q11)[8]
1182	ч	100	15	45,X,t(9;22)(q34;q11),-Y[3]/46,XY,t(9;22)(q34;q11)[17]
1455	ж	50	18,8	46,XX,t(9;22)(q34;q11)[5]/idem,-9[3]/46,XX[8]

Таблиця 4.

Порівняння відповіді на терапію ІТК у пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ залежно від наявності ДХА та варіантних транслокацій

Показник	Пацієнти без ДХА та варіантних транслокацій (n=502)	Пацієнти з варіантними транслокаціями (n=29)	Пацієнти з ДХА в Ph+ клітинах (n=16)	Рівень значущості, р
Відповідь через 12 міс. терапії ІТК, %: Первинна резистентність (BCR/ABL1>1%)	40,6	50,0	60,0	0,212
Велика молекулярна відповідь (BCR/ABL1≤0,1%)	33,6	32,1	26,7	0,846
Відповідь через 24 міс. терапії ІТК, %: Глибока молекулярна відповідь (BCR/ABL1≤0,01%)	24,8	40,0	30,0	0,305

Таблиця 5.

Динаміка досягнення ПЦВ та ВМВ у пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ залежно від наявності ДХА та варіантних транслокацій

Показник	Пацієнти без ДХА та варіантних транслокацій (n=502)	Пацієнти з варіантними транслокаціями (n=29)	Пацієнти з ДХА в Ph+ клітинах n=16)	Рівень значущості, р
Медіана часу досягнення ПЦВ, міс. (95% ДІ)	13,13 (11,42 – 14,84)	18,13 (0 – 45,18)	Не досягнута	0,712
Медіана часу досягнення ВМВ, міс. (95% ДІ)	36,03 (26,90 – 45,17)	49,0 -	Не досягнута	0,111

Таблиця 6.

Довгострокові показники відповіді на терапію ІТК у пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ залежно від наявності ДХА та варіантних транслокацій

Показник	Пацієнти без ДХА та варіантних транслокацій (n=502)	Пацієнти з варіантними транслокаціями (n=29)	Пацієнти з ДХА в Ph+ клітинах (n=16)	Рівень значущості, р
Розрахункова вірогідність 3-річної безподійної виживаності (EFS), % (95% ДІ)	84,9 (81,2 – 88,6)	93,8 (81,8 – 100,0)	43,9 (17,4 – 70,4)	<0,001*
Розрахункова вірогідність 3-річної виживаності без прогресії (PFS), % (95% ДІ)	92,0 (89,3 – 94,7)	93,3 (80,8 – 100,0)	60,6 (35,9 – 85,3)	<0,001*
Розрахункова вірогідність 3-річної загальної виживаності (OS), % (95% ДІ)	93,8 (91,3 – 96,4)	93,8 (82,1 – 100,0)	76,2 (65,2 – 87,2)	0,001*

Примітка: * – статистично значуща відмінність.

цієнтів з класичною транслокацією t(9;22)(q34;q11), 42,0 міс. (від 8,0 до 120,0 міс.) для пацієнтів з варіантними транслокаціями та 27 міс. (від 2,0 до 77,0 міс.) для пацієнтів з ДХА. За весь період спостереження прогресія у фазу акселерації та/або бластного кризу була зафіксована у 45 пацієнтів (9%) без варіантних транслокацій і ДХА, 1 пацієнт з варіантною транслокацією (3,4%) та 6 пацієнтів з ДХА (31,6%). Вірогідність 3-річної EFS, PFS та OS була статистично значущою гіршою у пацієнтів з ДХА (табл. 6). Для пацієнтів з класичною транслокацією t(9;22)(q34;q11), варіантними транслокаціями та пацієнтів з ДХА вірогідність 3-річної EFS складала 84,9 (95% довірчий інтервал (ДІ), 81,2% – 88,6%), 93,8% (95% ДІ, 81,8% – 100,0%) та 43,9% (95% ДІ, 17,4% – 70,4%) відповідно, вірогідність 3-річної PFS – 92,0% (95% ДІ, 89,3% – 94,7%), 93,3% (95% ДІ, 80,8% – 100,0%) та 60,6% (95% ДІ, 35,9% – 85,3%). Вірогідність 3-річної OS була 93,8% (95% ДІ, 91,3% – 96,4%), 93,8% (95% ДІ, 82,1% – 100,0%) та 76,2% (95% ДІ, 65,2% – 87,2%) відповідно. Проте, при порівнянні показників виживаності у пацієнтів з класичною з Ph-хромосою та пацієнтів з варіантними транслокаціями не було виявлено статистично значущих відмінностей.

Таким чином, в дебюті захворювання у пацієнтів з ХМЛ крім класичної транслокації 9;22 реєстрували-

ся клони пухлинних клітин з варіантними транслокаціями t(9;V;22), що формувалися за участю трьох хромосом, та додаткові хромосомні аберації в Ph+ клітинах. Проведене дослідження показало, що наявність варіантних транслокацій на час встановлення діагнозу не впливала на ефективність терапії ІТК. Проте присутність ДХА в Ph+ клітинах статистично значуще підвищувала вірогідність втрати досягнутої цитогенетичної та/або молекулярної відповіді (розвитку вторинної резистентності) та прогресії захворювання, що призводило до скорочення загальної виживаності. Тобто наявність клонів з ДХА на етапі діагностичного дослідження знижує ефективність терапії ІТК. Деякі автори висловлюють припущення, що появу ДХА у Ph+ клітинах можна розглядати як генетичний маркер прогресії захворювання [10]. Результатом появи додаткових генетичних аномалій є формування більш злоякісного пухлинного фенотипу. Проліферація та виживаність такого клітинного клону вже буде обумовлюватися не тільки активністю BCR/ABL-тирозинкінази, а й залученням інших сигнальних шляхів. Цей факт пояснює зниження ефективності терапії ІТК у таких пацієнтів, а поява ДХА може розглядатися як BCR/ABL-незалежний механізм розвитку резистентності до терапії інгібіторами тирозинкіназ у хворих на ХМЛ.

Висновки. Хромосомні аномалії, які виявляються у пацієнтів з ХМЛ до початку терапії ІТК та не є класичною ХМЛ-специфічною транслокацією t(9;22)(q34;q11), можуть погіршувати прогноз перебігу захворювання. Наявність варіантних транслокацій при встановленні діагнозу не впливає на ефективність

терапії інгібіторами тирозинкіназ. Проте, додаткові хромосомні аномалії в Ph+ клітинах призводять до втрати досягнутої цитогенетичної та/або молекулярної відповіді, прогресії захворювання та скорочення загальної виживаності пацієнтів з ХМЛ.

Література

1. de Klein A, van Kessel AG, Grosveld G, Bartram CR, Hagemeijer A, Bootsma D, et al. A cellular oncogene is translocated to the Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukaemia. *Nature*. 1982;300(5894):765-7.
2. Groffen J, Stephenson JR, Heisterkamp N, de Klein A, Bartram CR, Grosveld G. Philadelphia chromosomal breakpoints are clustered within a limited region, bcr, on chromosome 22. *Cell*. 1984;36(1):93-9.
3. Wang W, Cortes JE, Tang G, Khoury JD, Wang S, Bueso-Ramos CE, et al. Risk stratification of chromosomal abnormalities in chronic myelogenous leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitor therapy. *Blood*. 2016;127:2742-50.
4. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2013;122(6):872-84.
5. Cortes JE, Talpaz M, O'Brien S, Faderl S, Garcia-Manero G, Ferrajoli A, et al. Staging of chronic myeloid leukemia in the imatinib era: an evaluation of the World Health Organization proposal. *Cancer*. 2006;106(6):1306-15.
6. Shaffer LG, McGowan-Jordan J, Schmid M. *ISCN 2013: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2013)*. Basel: Karger; 2013. 140 p.
7. Hasting R, Howell R, Bricarelli FD, Kristofferson U, Cavani S. General Guidelines and Quality Assurance for Cytogenetics. *E.C.A. News Letter*. 2012;29:7-27.
8. Atramentova LA. Dizayn i statistika biologicheskogo issledovaniya. Kharkov: NTMT; 2015. 269 s. [in Russian].
9. Sharashova YeYe, Kholmatova KK, Gorbatova MA, Grzhibovskiy AM. Primeneniye analiza vyzhivayemosti v zdravookhraneniі s ispol'zovaniyem paketa statisticheskikh programm SPSS. *Nauka i zdravookhraneniye*. 2017;5:5-28. [in Russian].
10. Milojkovic D, Apperley J. Mechanisms of Resistance to Imatinib and Second-Generation Tyrosine Inhibitors in Chronic Myeloid Leukemia. *Clin Cancer Res*. 2009;15(24):7519-27.

ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ДОДАТКОВИХ ХРОМОСОМНИХ АБЕРАЦІЙ У ПАЦІЄНТІВ З ХРОНІЧНОЮ МІЕЛОЇДНОЮ ЛЕЙКЕМІЄЮ, ЯКІ ОТРИМУЮТЬ ТЕРАПІЮ ІНГІБІТОРАМИ ТИРОЗИНКІНАЗ

Дмитренко І. В., Мінченко Ж. М., Федоренко В. Г., Дягіль І. С.

Резюме. З метою вивчення частоти хромосомних аберацій та їх впливу на розвиток резистентності до інгібіторів тирозинкіназ (ІТК) у пацієнтів з хронічною міелоїдною лейкемією (ХМЛ) проводили цитогенетичне дослідження клітин кісткового мозку у 547 пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ в дебюті захворювання. У 502 пацієнтів (91,8%) виявлено тільки класичну транслокацію t(9;22) без додаткових хромосомних аберацій (ДХА), у 29 пацієнтів (5,3%) – варіантні транслокації, які формувалися із залученням трьох хромосом t(9;V;22), а у 16 пацієнтів (2,9%) – додаткові хромосомні аберації в Ph+ клітинах. Динаміка досягнення повної цитогенетичної та великої молекулярної відповіді не залежала від наявності або відсутності варіантних транслокацій та ДХА. Вірогідність 3-річної безпідійної виживаності, виживаності без прогресії та загальної виживаності була статистично значуще гіршою у пацієнтів з ДХА. Проте, у пацієнтів з варіантними транслокаціями не було виявлено статистично значущих відмінностей у показниках виживаності порівняно з пацієнтами з класичною транслокацією t(9;22).

Ключові слова: хромосомні аберації, хронічна міелоїдна лейкемія, прогностичні фактори, резистентність, інгібітори тирозинкіназ.

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРАЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ МИЕЛОИДНОЙ ЛЕЙКЕМИЕЙ, ПОЛУЧАЮЩИХ ТЕРАПИЮ ИНГИБИТОРАМИ ТИРОЗИНКИНАЗ

Дмитренко И. В., Минченко Ж. Н., Федоренко В. Г., Дягиль И. С.

Резюме. С целью изучения частоты хромосомных aberrаций и их влияния на развитие резистентности к ингибиторам тирозинкиназ (ИТК) у пациентов с хронической миелоидной лейкемией (ХМЛ) проводили цитогенетическое исследование клеток костного мозга у 547 пациентов с хронической фазой ХМЛ в дебюте заболевания. У 502 пациентов (91,8%) выявлена только классическая транслокация t(9;22) без дополнительных хромосомных aberrаций (ДХА), у 29 пациентов (5,3%) – варианты транслокации, которые формировались с привлечением трех хромосом t(9;V;22), а у 16 пациентов (2,9%) – дополнительные хромосомные aberrации в Ph+ клетках. Динамика достижения полного цитогенетического и большого молекулярного ответа не зависела от наличия или отсутствия вариантных транслокаций и ДХА. Вероятность 3-летней бессобытийной выживаемости, выживаемости без прогрессии и общей выживаемости была статистически значимо хуже у пациентов с ДХА. Однако, у пациентов с вариантными транслокациями не было выявлено статистически значимых различий в показателях выживаемости по сравнению с пациентами с классической транслокацией t(9;22).

Ключевые слова: хромосомные aberrации, хроническая миелоидная лейкемия, прогностические факторы, резистентность, ингибиторы тирозинкиназ.

PROGNOSTIC VALUE OF ADDITIONAL CHROMOSOMAL ABERRATIONS IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA ON TYROSINEKINASE INHIBITORS THERAPY

Dmytrenko I. V., Minchenko Zh. M., Fedorenko V. G., Dyagil I. S.

Abstract. Prognostic significance of additional chromosomal abnormalities (ACAs) for tyrosinekinase inhibitors therapy (TKI) response in chronic myeloid leukemia (CML) patients is discussed. In many ways, this uncertainty is due

to the low frequency as well as the high variability of ACAs in patients with chronic phase CML. In this study, rate of this phenomenon and its impact on the resistance to TKI therapy in CML patients was evaluated.

Overall, 502 (91.8%) patients had only the classic translocation t(9;22)(q34;q11) without ACAs at diagnosis. 45 (8.2%) patients presented with additional cytogenetic findings at diagnosis: 29 (5.3%) patients had variant translocations t(9;V;22), which were formed by three chromosomes, and in 16 patients (2.9%) had ACAs. One patient had both and was included in the group of patients with ACAs.

The analysis of the tumor clone reduction dynamics by the Kaplan-Meier method did not reveal statistically significant differences in the cumulative complete cytogenetic and major molecular response rates ($p = 0.712$ and $p = 0.111$ respectively) between the patients with classical translocation t(9;22), patients with variant translocations and patients with ACAs. Analysis of long-term outcomes demonstrated inferior event-free (EFS), progression-free (PFS) and overall survival (OS) in CML patients with ACA at diagnosis. At 3 years, for patients with a classic translocation, patients with ACAs, and patients with a variant translocation t(9;V;22), the probability of EFS was 84,9% (95% CI, 81,2% – 88,6%), 93,8% (95% CI, 81,8% – 100,0%) and 43,9% (95% CI, 17,4% – 70,4%), respectively. The probability of PFS was 92,0% (95% CI, 89,3% – 94,7%), 93,3% (95% CI, 80,8% – 100,0%) and 60,6% (95% CI, 35,9% – 85,3%), respectively. The probability of OS was 93,8% (95% CI, 91,3% – 96,4%), 93,8% (95% CI, 82,1% – 100,0%) and 76,2% (95% CI, 65,2% – 87,2%), respectively. No statistical difference was observed between the patients with classic translocation t(9;22) and those with variant translocations in terms of EFS, PFS and OS.

Chromosomal abnormalities that appeared in CML patients at diagnosis and are not classic CML-specific translocation t(9;22)(q34;q11) may impair the prognosis of disease outcome. The presence of variant transactions in diagnosis does not impact the TKI therapy effectiveness. Additional chromosomal abnormalities in Ph⁺ cells lead to loss of the achieved cytogenetic and/or molecular response, disease progression, and the overall survival reduction in CML patients, treated with TKI.

Key words: chromosomal aberrations, chronic myeloid leukemia, prognostic factors, resistance, tyrosine kinase inhibitors.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 23.03.2019 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2019-1-2-149-234-237

УДК 618.111-008:612.621.31:575.113

Феськов О. М., Жилкова Є. С., Феськов В. О., Сотник Н. М., Руденко В. А.

ОСОБЛИВОСТІ ПРОВЕДЕННЯ ПЕРЕДІМПЛАНТАЦІЙНОЇ ГЕНЕТИЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ЕМБРІОНІВ, ОТРИМАНИХ ВІД ЧОЛОВІКІВ З ВИРАЖЕНИМ ПОРУШЕННЯМ СПЕРМАТОГЕНЕЗУ

Центр Репродукції людини «Клініка професора Феськова О.М.» (м. Харків)

zhilkova@feskov.com.ua

Вступ. Згідно літературним даним, практично у 60% випадків причиною непліддя у подружжі є зниження репродуктивної функції чоловіків [1]. Досягнення сучасної медицини, зокрема застосування методів допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) з використанням процедури інтрацитоплазматичної ін'єкції сперматозоїда у ооцит (ІКСІ), дають можливість отримати запліднення навіть від пацієнтів з такими порушеннями сперматогенезу, як зниження рухливості, концентрації та частки морфологічно нормальних сперматозоїдів [2]. Наразі дані досліджень щодо впливу порушення репродуктивної функції у чоловіків на розвиток ембріонів та виникнення у них анеуплоїдії є неоднозначними. Одним з головних критеріїв нормального розвитку ембріона є формування бластоцисти на п'яту добу культивування. Індекс частоти формування бластоцист (ЧФБ) прийнято розглядати як один з основних критеріїв для вибору ембріона, здатного до імплантації [3,4]. Згідно результатам досліджень Charuis A. (2017), зниження кількості сперматозоїдів в еякуляті (олігозооспермія) негативно впливає на ранній розвиток ембріонів [5]. З іншого боку, French D.B. з колегами (2010) показали, що зниження таких параметрів репродуктивної функції чоловіків, як концентрація та частка морфологічно нормальних форм сперматозоїдів в еякуляті, не впливають на процес формування бластоцист у програмах екстракорпорального запліднення (ЕКЗ) [6].

Окрім того, залишається відкритим питання щодо зв'язку появи анеуплоїдій у бластоцистах з вираженим зниженням параметрів чоловічої фертильності. Наприклад, у своєму дослідженні Gat I. (2017) показав відсутність асоціації між порушенням сперматогенезу і виникненням анеуплоїдії у бластоцистах [7]. З іншого боку, Ganza A.L. з колегами (2016) довели у своїй роботі, що виражена олігозооспермія впливає на наявність хромосомних порушень у ембріонах та веде до зниження результативності лікування непліддя при використанні ДРТ [8].

Мета дослідження. У зв'язку з вищевикладеним, метою даної роботи стало дослідження залежності процесу формування і плідності бластоцист, при отриманні ембріонів від чоловіків зі зниженою репродуктивною функцією методами допоміжних репродуктивних технологій, від таких параметрів, як концентрація, рухливість та морфологія сперматозоїдів в еякуляті.

Об'єкт і методи дослідження. Збір первинної інформації та лабораторні дослідження проводили в «Клініці професора Феськова О.М.» (м. Харків). За період 2017–2018 рр. була проведена передімплантатійна генетична діагностика (ПГД) 229 ембріонів на стадії бластоцисти, отриманих у програмах екстракорпорального запліднення від 67 чоловіків віком від 32 до 46 років зі значним зниженням репродуктивної функції. Результати щодо частки анеуплоїдних ембрі-