

тенденция к снижению показателя лабильности бронхов за счёт уменьшения бронходилатации, а чувствительность бронхов к гистамину была выше, чем у больных без полиморфизма указанных генов системы биотрансформации ксенобиотиков.

Ключевые слова: бронхиальная астма, полиморфизм генов, нейтрофильный фенотип.

NON-SPECIFIC HYPERRESPONSIVENESS AND GENE POLYMORPHISM
OF XENOBIOTICS BIOTRANSFORMATION *GSTM1* AND *GSTT1*
UNDER NEUTROPHILIC BRONCHIAL ASTHMA IN CHILDREN

L. A. Ivanova, L. V. Mykaliuk, O. G. Grygola (Chernovtzi, Ukraina)

Bukovinian State Medical University, Chair of Pediatrics and Child Infectious Diseases

With a view to study the effect of genes *GSTT1* and *GSTM1* deletion on the non-specific bronchial hyperresponsiveness in children with neutrophilic bronchial asthma (BA) 46 school age children having neutrophilic BA (1st clinical group) and their 48 coevals with eosinophilic phenotype of the disease (2nd clinical group) were subjected to a complex examination at the pulmo-allergologic department of the regional child clinical hospital of Chernivtzi. The study proved that genotype *T1+M1del* was more frequently registered in patients with the neutrophilic phenotype of the disease, and genotype *T1delM1del* was equipresent in patients with different types of the inflammation of the respiratory ways. In patients with neutrophilic BA and deletion polymorphism of genes *GSTT1* and *GSTM1*, there was a tendency to decreasing of the bronchial lability index through the decrease of bronchodilation, and bronchial response to histamine occurred to be higher than in children with the absence of polymorphism of the referred genes of the xenobiotics biotransformation system.

Key words: bronchial asthma, genes polymorphism, neutrophilic phenotype.

УДК 616-006.446.2-053.2:611-018.1

Поступила 25.12.2012

С. В. АНДРЕЕВА, В. Д. ДРОЗДОВА (Киев)

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ АНОМАЛИИ ХРОМОСОМ
В ДИНАМИКЕ ЦЕЛЕВОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО
МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

ГУ «Институт гематологии и трансфузиологии НАМН Украины» <asvetla@rambler.ru>

Хромосомные аномалии в клетках костного мозга оценивали в динамике терапии хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) ингибитором bcr-abl-тирозинкиназы (400 мг/м²) у 34 детей и подростков. Появление дополнительных аномалий хромосом в клоне с транслокацией t(9;22) или за его пределами, в частности del(16)(q22), del(11)(q23), del(6)(q23), del(21)(q12), трисомия хромосомы 8, дополнительные околотетраплоидные клоны свидетельствуют о нечувствительности опухолевых клеток к данной терапии у детей и подростков.

Ключевые слова: хронический миелолейкоз, аномалии хромосом, терапия, дети и подростки.

Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) – первичное заболевание у лиц среднего возраста с пиком проявления в 40–50 лет. Причина возникновения заболевания неизвестна, но у некоторых больных в анамнезе отмечены химиотерапия и облучение [2, 5]. Цитогенетический признак ХМЛ – транслокация t(9;22)(q34;q11), или филадельфийская хромосома (Ph'-хромосома), была описана Р. С. Nowell и Д. А. Hungerford в 1960 г. [8].

Достижением нецитостатической терапии стало внедрение препаратов целевой терапии, направленных на выборочное уничтожение клеток, содержащих t(9;22).

Действие препарата «Гливек» (bcr-abl-ингибитор тирозинкиназы) основывается на блокировании АТФ-связывающего участка тирозинкиназы, ответственного за фосфорилирование многочисленных эффекторных белков, вовлечённых в регуляцию клеточного цикла и передачу сигналов в клетке, т. е. препарат обладает генотоксическим действием. В результате этого нарушается функционирование клеток, индуцируется апоптоз аномальных клеток и появляется возможность к размножению клеток костного мозга (КМ) с нормальным кариотипом. С применением ингибиторов bcr-abl-тирозинкиназы связано не только наступление клинко-гематологической ремиссии, но и достижение и длительное сохранение полной цитогенетической ремиссии. Такие результаты стали возможными и в случаях вариантных транслокаций или дополнительных аномалий в клетках КМ при установлении диагноза ХМЛ *de novo* [7, 14].

Для подтверждения генетической ремиссии при использовании ингибитора bcr-abl-тирозинкиназы необходимо постоянное проведение цитогенетического и молекулярно-генетического контроля [15]. Разработан стандарт оценки цитогенетического ответа: отсутствие ответа – 96–100 % Ph-позитивных метафаз, минимальный – 66–95 %, малый – 36–65 %, частичный – 1–35 %, полный цитогенетический ответ – отсутствие Ph-позитивных метафаз [6]. Достижение цитогенетической ремиссии через 6–12 мес лечения и молекулярно-генетической ремиссии (одна аномальная клетка на 10^5 клеток КМ) в течение 12 мес рассматривают как золотой стандарт оценки эффективности терапии ХМЛ [13].

На протяжении терапии ХМЛ ингибитором bcr-abl-тирозинкиназы первичный клон с t(9;22) может замещаться клоном с другими хромосомными аномалиями. Появление таких аномалий имеет транзиторный [3] или стабильный характер [10]. Дополнительные аномалии хромосом на фоне такой терапии регистрируют в 15,5 % случаев. К дополнительным аномалиям относятся трисомии Xp 8, 13, 19, 21, вторая t(9;22) [1], сопровождающиеся рефрактерностью к терапии [9]. В фазе бластного криза ХМЛ (БК ХМЛ) дополнительные аномалии хромосом могут определять вариант вторичного лейкоза [4].

Цель исследования – определить спектр клональных аномалий хромосом клеток КМ в динамике терапии ингибитором bcr-abl-тирозинкиназы у детей и подростков.

Материалы и методы. Анализ кариотипов в клетках КМ для оценки эффективности терапии ингибитором bcr-abl-тирозинкиназы проводили у 34 (20 девочек и 14 мальчиков) больных ХМЛ в хронической фазе, которые получали ингибитор bcr-abl-тирозинкиназы (иматиниб мезилат) по 400 мг/м². Возраст больных – от 1 до 18 лет (средний возраст – 11,9 года). У больных ХМЛ среднее содержание лейкоцитов составило $175,7 \cdot 10^9$ в 1 л ($(8,7–8000) \cdot 10^9$ в 1 л), гемоглобина – 107,4 г/л (55–156 г/л), тромбоцитов – $317 \cdot 10^9$ в 1 л ($(72–1527) \cdot 10^9$ в 1 л), содержание бластных клеток в КМ – 4,9 % (0–14 %), бластных клеток в периферической крови (ПК) – 0,9 % (0–7 %). Цитогенетический мониторинг не имел систематического обеспечения, периодичность составила 1 раз в 3 и 6 мес, в 1 и 2 года. Количество контрольных исследований эффективности терапии составило от 2 до 8 исследований для каждого больного.

Для цитогенетического исследования препараты метафазных хромосом готовили по общепринятой методике [11] и окрашивали GTG-методом. Хромосомные аномалии описывали согласно ISCN 2009 [12]. Хромосомные аномалии в лейкозном клоне регистрировали по общепринятым правилам, когда две метафазные клетки или более имели идентичные аномалии или дополнительные хромосомы, а также при трёх метафазных клетках с идентичными моносомиями или более. Нормальным считали кариотип, при котором не менее чем в 20 проанализированных и в 10 кариотипированных метафазных пластинках не выявлено хромосомных аномалий.

Результаты и их обсуждение. В процессе оценки эффективности терапии не зарегистрировано ни одного случая повышения дозы препарата. У всех больных после 6 мес лечения была достигнута клинко-гематологическая ремиссия и толь-

Дополнительные аномалии хромосом в клетках костного мозга при оценке эффективности терапии ингибитором bcr-abl-тирозинкиназы у детей и подростков

№ п/п	Диагноз	Дополнительные аномалии в динамике терапии	Через 6 мес	Через 12 мес	Через 18 мес
1	Ph[4]/H[30]	Ph[9]/4n±[4]/H[12]	Ph[3]/4n±, Ph×2[2]/H[2]	Ph[25]/4n±, Ph×2[4]/H[2]	Ph[17]/4n±[2]/H[11]
2	Ph[9]	Ph[28]/3n±, Ph×2[2]	Ph[11]/4n±[7]/H[5]	Ph[10]	-
3	Ph[19]	Ph[6]/4n±, Ph×2[2]/H[18]	Ph[17]/4n±[2]	Ph[3]/4n±[22]	-
4	Ph[29]/4n±[7]	Ph, del(14)(q23)[2]/4n±[4]/H[16]	Ph[2]/4n±[5]/H[23]	H[14]/4n±[3]	Ph[9]
5	Ph[12]/4n±, Ph×2[2]	Ph[5]/48[2]/4n±[5]/H[23]	-	-	Ph[21]/H[9]
6	Ph[26]/4n±[2]	Ph[6]/del(16)(q22), del(21)(q12)[2]/H[22]	-	-	-
7	Ph[27]/4n±[3]	Ph[21]/Ph, del(6)(q23)[2]/4n±, Ph×2[7]/H[19]	Ph[29]/Ph, del(6)(q23)[2]/4n±[5]/H[14]	Ph[17]/4n±, Ph×2[2]	-
8	Ph[8]/4n±[2]	Ph[17]/4n±, Ph×2[3]	-	-	-
9	Ph[2]/57[2]	del(11)(q23), del(16)(q22)[2]/4n±[4]/H[24]	H[25]/4n±[4]	Ph[7]/del(16)(q22)[2]/H[9]	-
10	Ph, t(15;17)(q22;q11), +der(17q)[cp8]/Ph, t(11;15;17)(p15;q22; q11)[2]/4n±[3]/H[15]	Ph, t(15;17)(q22;q11), +der(17q)[5]/H[15]	Ph, t(11;15;17)(p15;q22; q11)[2]/4n±[3]/H[15]	Ph[1]/H[29]	del(16)(q22)[2]/+8[cp2]/H[46]

ко у 2 отмечена цитогенетическая ремиссия (через 12 и 30 мес соответственно). У 2 больных наблюдали прогрессирование заболевания на фоне терапии с выходом в фазу акселерации и БК ХМЛ, при этом первичную аномалию t(9;22)(q34;q11) выявляли в более чем половине метафаз.

Оценка дополнительных аномалий в первичном клоне с t(9;22)(q34;q11) и/или за его пределами была возможна лишь у 10 (29,4 %) больных (таблица). Для этого сопоставляли полученные результаты со следующими показателями: первичным клоном, появлением дополнительных аномалий по отношению к первичному клону, динамике хромосомных аномалий после появления дополнительных.

Появление дополнительных аномалий в клоне с первичной аномалией t(9;22)(q34;q11) или за его пределами обнаружено у всех 10 больных (№ 1–10). В динамике терапии у 9 (№ 1–5, 7–10) регистрировали дополнительные околотетраплоидные клоны. У 1 (№ 5) больного при установлении диагноза и у 5 (№ 1–3, 7, 8) в динамике терапии были идентифицированы метафазные хромосомы в околотетраплоидных клонах. Данные метафазные пластинки имели удвоенную первичную аномалию – t(9;22). При этом у 3 (№ 1, 3, 7) больных одновременно имели место нормальные клоны, что подтверждает возникновение полиплоидизации только в аномальном клоне. Можно предположить, что в случаях цитогенетической ремиссии, при регистрации дополнительного околотетраплоидного клона (№ 4, 9), нельзя исключить нераспознанный аномальный клон с удвоенной аномалией.

При установлении диагноза (№ 9) и в динамике терапии (№ 5) один из клонов был гипердиплоидным (57 и 48 хромосом соответственно). Появление трисомий хромосом на фоне терапии и при установлении диагноза, возможно, является следствием единого механизма адаптации гемопоэтических клеток к химическому воздействию.

У 3 (№ 4, 6, 7) больных на различных этапах терапии в первичном клоне с $t(9;22)(q34;q11)$ появились дополнительные аномалии – потери генетического материала – $del(6)(q23)$, $del(11)(q23)$, $del(16)(q22)$. Все дополнительные клональные аномалии хромосом были зарегистрированы при клинико-гематологической ремиссии. У 2 (№ 4, 7) больных потери материала – $del(11)(q23)$ и $del(6)(q23)$ обнаружены в клонах с первичной аномалией $t(9;22)(q34;q11)$. Делецию $del(16)(q22)$ регистрировали в клоне без первичной аномалии, но в сочетании с $del(11)(q23)$ (№ 9) и $del(21)(q12)$ (№ 6). Несмотря на достижение цитогенетической ремиссии, у всех больных отмечено восстановление инициального аномального клона и у 1 (№ 4) – БК ХМЛ.

Кроме восстановления инициального клона, у 2 (№ 9, 10) больных (через 12 и 18 мес соответственно) выявлен дополнительный клон с $del(16)(q22)$, а у 1 (№ 10) – второй независимый клон с трисомией Хр 8.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что околотетраплоидные клоны в процессе оценки терапии можно рассматривать как неблагоприятный прогностический признак. Появление структурных и количественных аномалий в дополнение к первичной аномалии или за пределами первичного клона, даже при последующем уменьшении размера первичного клона или цитогенетической ремиссии, является неблагоприятным прогностическим признаком. Неоднородность хромосомных аномалий при ХМЛ позволяет понять генетические особенности аномальных клеток у детей и подростков с ХМЛ. Схожие данные будут иметь значение для оценки эффективности проводимого лечения этих больных.

Выводы. 1. Среди дополнительных структурных аномалий на фоне терапии ингибитором bcr-abl-тирозинкиназы «Гливек» преобладали делеции по дискам $del(16)(q22)$, $del(11)(q23)$, $del(6)(q23)$, $del(21)(q12)$, среди количественных аномалий – трисомия Хр 8 (по частоте встречаемости). 2. Дополнительные околотетраплоидные клоны при оценке эффективности терапии ингибитором bcr-abl-тирозинкиназы являются неблагоприятным прогностическим признаком. 3. Появление дополнительных структурных и количественных аномалий в клоне с первичной аномалией $t(9;22)(q34;q11)$ или за его пределами при оценке эффективности терапии ингибитором bcr-abl-тирозинкиназы, даже при последующем уменьшении размера первичного клона или цитогенетической ремиссии, указывает на нечувствительность аномальных клеток КМ к данной терапии.

С п и с о к л и т е р а т у р ы

1. Ali R., Ozkalemkas F., Ozkocaman V. et al. Sudden blastic crisis and additional chromosomal abnormalities during chronic myeloid leukemia in the imatinib era // *Int. J. Clin. Oncol.* – 2009. – Vol. 14, N 6. – P. 545–550.
2. D'Antonio J. Chronic myelogenous leukemia // *Clin. J. Oncol. Nurs.* – 2005. – Vol. 9, N 5. – P. 535–553.
3. De Oliveira F.M., Scrideli C.A., Tone L.G. A case of near-triploid with $t(2;14)(p12;q32)$ in patient with chronic myelogenous leukemia in complete molecular remission // *Cancer Genet. Cytogenet.* – 2008. – Vol. 186, N 2. – P. 125–126.
4. Fava C., Cortes J. Philadelphia-negative acute myeloid leukemia with new chromosomal abnormalities developing after first-line imatinib treatment for chronic phase chronic myeloid leukemia // *Am. J. Hematol.* – 2008. – Vol. 83, N 9. – P. 755–758.
5. Hag A.U. Transformation of Polycythemia vera to Ph⁺-positive myelogenous leukemia // *Am. J. Hematol.* – 1990. – Vol. 33, N 2. – P. 110–113.

6. Hochhsus A., Lahaye T., Kreil S. et al. Imatinib (ST1571) for the treatment of chronic myeloid leukemia (CML) // Acute leukemia IX. Basic Research, Experimental Approches and Novel Therapies. – 2003. – Vol. 42. – P. 109–116.
7. Kubota Y., Waki M. Chronic myeloid leukemia with a novel four-way t(6;13;9;22) (p21;q32;q34;q11.2) successfully treated with imatinib mesylate // Cancer Genet. Cytogenet. – 2010. – Vol. 201, N 2. – P. 135–136.
8. Nowell P. C., Hungerford D. A. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia // Science. – 1960. – Vol. 132. – P. 1197.
9. Palandri F., Testoni N., Luatti S. et al. Influence of additional cytogenetic abnormalities on the response and survival in late chronic phase chronic myeloid leukemia patients treated with imatinib: long-term results // Leuk. Lymphoma. – 2009. – Vol. 50, N 1. – P. 114–118.
10. Patchenko P., Klepfish A., Trakhtenbrot L. et al. Reciprocal relationship between a Ph-negative clone with trisomy 8 associated with severe myelodysplasia and a Ph-positive clone following imatinib treatment in a patient with accelerated-phase chronic myelogenous leukemia (CML) // Am. J. Hematol. – 2004. – Vol. 77, N 4. – P. 420.
11. Rooney D. E., Czepulkovsky B. H. Human Cytogenetics. A practical approach. malignancy and acquired abnormalities. Second edition. IRL Press at Oxford University Press. – Oxford: New York, Tokyo, 1995. – 293 p.
12. Shaffer L. G., McGowan-Jordan J., Schmid M. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Recommendations of the International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature. – Karger, 2013. – 140 p.
13. Talpaz M. O., O'Brein S., Jones D. et al. Molecular responses in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase treated with imatinib mesylate // Clin. Cancer Res. – 2005. – Vol. 11, N 9. – P. 3425–3432.
14. Zaccaria C., Nestoni N., Valenti A. M. et al. GIMEMA Working Party on CML. Chromosome abnormalities additional to the Philadelphia chromosome at the diagnosis of chronic myelogenous leukemia: pathogenetic and prognostic implication // Cancer Genet. Cytogenet. – 2010. – Vol. 199, N 2. – P. 76–80.
15. Zymecnkova A., Al Bahar S., Ramesh P. Trisomy 6 in a CML patient receiving imatinib mesylate therapy // Leuk. Res. – 2008. – Vol. 32, N 9. – P. 1454–1457.

ДОДАТКОВІ АНОМАЛІЇ ХРОМОСОМ
У ДИНАМІЦІ ЦІЛЬОВОЇ ТЕРАПІЇ
ХРОНІЧНОЇ МІЕЛОЇДНОЇ ЛЕЙКЕМІЇ У ДІТЕЙ ТА ПІДЛІТКІВ

С. В. Андреева, В. Д. Дроздова (Київ)

Хромосомні аномалії клітин кісткового мозку оцінювали в динаміці терапії хронічної мієлоїдної лейкемії інгібітором bcr-abl-тирозинкінази (400 мг/м²) у 34 дітей та підлітків. Поява додаткових аномалій хромосом у клоні з транслокацією t(9;22) або за його межами, зокрема del(16)(q22), del(11)(q23), del(6)(q23), del(21)(q12), трисомія хромосоми 8, додаткові навколотетраплоїдні клони свідчать про нечутливість пухлинних клітин до терапії у дітей та підлітків.

Ключові слова: хронічна мієлоїдна лейкемія, аномалії хромосом, терапія, діти та підлітки.

ADDITIONAL CHROMOSOMAL ABNORMALITIES
IN DYNAMIC OF TARGET THERAPY CHRONIC MYELOID
LEUKEMIA IN CHILDREN AND ADOLESCENT

S. V. Andreieva, V. D. Drozdova (Kiev)

State Institution «Institute of haematology and transfusiology NAMS Ukraine»

Chromosomal abnormalities of bone marrow cells in dynamic chronic myeloid leukemia (CML) with bcr-abl-tyrosinkinase inhibitor (400 mg/m²) in 34 children and adolescent were estimated. Appearance of additional chromosomal abnormalities such as del(16)(q22), del(11)(q23), del(6)(q23), del(21)(q12), trisomy chromosome 8, additional neartetraploid clones were evidence about tumor cells resistance to therapy in children and adolescent.

Key words: chronic myeloid leukemia, chromosomal abnormalities, children.