DOI: 10.32471/oncology.2663-7928.t-21-4-2019-g. 8226

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

ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України», Київ, Україна

Ключові слова: *додаткові хромосомні аномалії, хронічна мієлоїдна лейкемія, прогностичні фактори, резистентність, іматиніб.*

ХАРАКТЕРИСТИКА КЛОНІВ З ДОДАТКОВИМИ ХРОМОСОМНИМИ АНОМАЛІЯМИ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ХРОНІЧНОЮ МІЄЛОЇДНОЮ ЛЕЙКЕМІЄЮ ТА ЇХ ВПЛИВ НА ЕФЕКТИВНІСТЬ ТЕРАПІЇ ІМАТИНІБОМ

Мета: *оцінити ступінь впливу різних додаткових хромосомних аномалій (ДХА) на перебіг хронічної мієлоїдної лейкемії (ХМЛ) та ефективність терапії іматинібом.* ***Об'єкт і методи:*** *в дослідження було залучено 45 пацієнтів із ХМЛ у хронічній фазі, в яких виявлено ДХА в дебюті захворювання або під час терапії іматинібом. Пацієнтів було відібрано із загальної групи хворих на ХМЛ, яким проводилося цитогенетичне дослідження в Національному науковому центрі радіаційної медицини НАМН України у 2008–2019 рр. Усі пацієнти отримували іматиніб. Імовірність загальної виживаності (overall survival — OS), виживаності без прогресії (progression free survival — PFS) і безподійної виживаності (event free survival — EFS) аналізували від моменту появи ДХА до настання події, яка відповідала кожному показнику.* ***Результати:*** *всього виявлено 54 ДХА у 45 пацієнтів із ХМЛ. За типом утворення ДХА розподіляли на кількісні (16 аберацій), структурні (10 аберацій) та подвоєння Ph-хромосоми der(22)t(9;22)(q34;q11) (28 випадків). П'ять пацієнтів мали більше однієї ДХА (складний каріотип). Статистично значущий гірший прогноз щодо PFS та OS мали ДХА, які за класифікацією W. Wang та співавторів належали до групи несприятливого прогнозу (p = 0,002 та p = 0,048 відповідно), а також наявність ізохромосоми 17 по довгому плечу (p = 0,016 та p = 0,001 відповідно). Наявність більше однієї ДХА також значуще погіршувала вірогідність прогресії захворювання (p = 0,029). Пацієнти з додатковою Ph-хромосомою та додатковою 8-ю хромосомою як при встановленні діагнозу, так і при терапії іматинібом мали ризик прогресії захворювання не більший, ніж пацієнти з іншими ДХА.* ***Висновок:*** *визначення ДХА, які зумовлюють агресивний перебіг захворювання зі швидкою прогресією, дозволять виокремити пацієнтів із ХМЛ, які потребують зміни тактики лікування.*

Транслокація між 9-ю та 22-ю хромосомами на рівні сегментів 9q34.1 та 22q11.21, яка відбувається в мультипотентній стовбуровій клітині кісткового мозку, відіграє основну роль у патогенезі хронічної мієлоїдної лейкемії (ХМЛ) [1]. Це призводить до формування дериватної філадельфійської хромосоми (Ph-хромосоми), яка виявляється у 85–90% пацієнтів із ХМЛ при використанні диференційного фарбування хромосом. Проте відомо, що у деяких хворих з'являються додаткові до зазначеної транслокації порушення каріотипу. При встановленні діагнозу їх частота не перевищує 10% [2]. Серед них розрізняють варіантні транслокації (до утворення t(9;22)(q34;q11) залучаються більше двох хромосом) та безпосередньо додаткові хромосомні аномалії (ДХА). ДХА можуть з'являтися також в ході терапії ХМЛ. Накопичення ДХА в Ph^+-клітинах відомо як «клональна еволюція».

На сьогодні значення ДХА залишається предметом дискусій. NCCN та ELNet рекомендації по-різному визначають прогностичне значення ДХА, які виявляються в дебюті захворювання [3, 4]. Проте появу ДХА під час терапії більшість дослідників вважають ознакою прогресії та несприятливим фактором щодо прогнозу перебігу захворювання [5, 6]. Згідно з F. Mitelman та співавторами [2], за частотою виявлення ДХА розділяють на «значущі» (+8 і +19, додаткова Ph-хромосома, ізохромосома 17) і «незначущі» (–7, –17, +17, +21, -Y та транслокація t(3;21)(q26;q22)) [2]. W. Wang та співавтори запропонували розділити 6 найпоширеніших ДХА на дві групи: група сприятливого прогнозу (+8, -Y та додаткова Ph-хромосома) і група несприятливого прогнозу (ізохромосома 17, -7/del7q та перебудови, які відбуваються у сегменті 3q26.2) [7]. Проте, беручи до уваги низьку частоту

виявлення ДХА, на сьогодні вчені не мають остаточної думки щодо довгострокового прогнозу для хворих на ХМЛ з такими хромосомними аномаліями, особливо, коли йдеться не тільки про сам факт появи, а й про індивідуальні характеристики ДХА.

Мета роботи — оцінити ступінь впливу різних ДХА на перебіг ХМЛ та ефективність терапії іматинібом.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Групу дослідження становили 45 пацієнтів із ХМЛ у хронічній фазі, в яких виявлено ДХА в дебюті захворювання або під час терапії іматинібом. Пацієнтів було відібрано із загальної групи хворих на ХМЛ, яким проводили цитогенетичне дослідження в Національному науковому центрі радіаційної медицини НАМН України у 2008–2019 рр. Усі пацієнти отримували терапію іматинібом та надали інформовану згоду на використання їх біоматеріалу для проведення дослідження.

Цитогенетичне дослідження передбачало аналіз диференційно забарвлених хромосом у 20 метафазах, отриманих з 24-годинної нестимульованої культури клітин кісткового мозку, з подальшим фарбуванням за GTG-методом. Ідентифікацію кожної пари хромосом та їх змін проводили згідно з критеріями «Міжнародної системи для номенклатури в цитогенетиці людини-2013» (ISCN) [8, 9].

Імовірність загальної виживаності (overall survival — OS), виживаності без прогресії (progression free survival — PFS) і безподійної виживаності (event free survival — EFS) розраховували за методом Kaplan — Meier. Відмінності між групами оцінювали за допомогою log-rank-тесту та методу побудови однофакторних регресійних моделей Кокса [10, 11]. EFS, PFS та OS оцінювали з моменту реєстрації ДХА. Статистичний аналіз проводили з використанням пакета статистичних програм SPSS for Windows (версія 20.0). Відмінності між параметрами вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Всього у 45 пацієнтів із ХМЛ виявлено 54 ДХА. У 16 пацієнтів ДХА відзначали в усіх метафазних пластинках із транслокацією t(9;22). У 29 пацієнтів ДХА були частинами субклонів, які становили від 5,0 до 90,0% (медіана — 27,5%) від проаналізованих метафаз.

За типом утворення ДХА розділяли на кількісні (16 аберацій), структурні (10 аберацій) та подвоєння Ph-хромосоми der(22)t(9;22)(q34;q11) (28 випадків.). П'ять пацієнтів мали більше однієї ДХА (складний каріотип) (табл. 1).

Серед 45 пацієнтів із ДХА «значущі» порушення каріотипу (+Ph, i(17), +8 та +19) виявлено у 32 (71,1%); «незначущі» порушення — у 13 (28,9%) хворих на ХМЛ. Згідно з класифікацією ДХА за [7] до групи з несприятливим прогнозом належали 7 (15,6%) із 45 пацієнтів з ДХА.

Таблиця 1

Спектр додаткових хромосомних аберацій у Ph^+-клітинах пацієнтів із хронічною фазою ХМЛ (n=45)

Додаткові хромосомні аберації	Кількість ДХА, n (%)
+der(22)t(9;22)(q34;q11)	28 (51,9)
i(17)(q10)	3 (5,6)
+8	3 (5,6)
+22	3 (5,6)
del(2)(p1.2)	1 (1,9)
del(3)(p11p21)	1 (1,9)
dup(3)(p21;p27)	1 (1,9)
t(3;21)(q26;q22)	1 (1,9)
t(4;9)(q28;q23)	1 (1,9)
der(9)t(9:?)(q21;?)	1 (1,9)
del(10)(p11.2)	1 (1,9)
+3	1 (1,9)
+7	1 (1,9)
–9	2 (3,7)
+10	1 (1,9)
+11	1 (1,9)
+15	1 (1,9)
+19	1 (1,9)
-Y	2 (3,7)
Усього ДХА	**54* (100,0)**

*У деяких пацієнтів виявлено більше однієї ДХА.

Для визначення впливу різних клонів із додатковими хромосомними аберраціями на довгостроковий прогноз ефективності терапії іматинібом нами проаналізовано показники виживаності (EFS, PFS та OS) від моменту появи ДХА до настання події, яка відповідала кожному показнику (табл. 2).

Таблиця 2

Оцінка впливу клонів із додатковими хромосомними аберраціями в Ph^+-клітинах у пацієнтів із хронічною фазою ХМЛ (n=45) на довгострокові показники ефективності терапії іматинібом за результатами однофакторного регресійного аналізу Кокса

Показник	EFS		PFS		OS	
	Відношення ризиків (95% ДІ)	p	Відношення ризиків (95% ДІ)	p	Відношення ризиків (95% ДІ)	p
Час виникнення ДХА (ДХА при встановленні діагнозу *vs* ДХА при терапії)	0,65 (0,28–1,51)	0,650	0,74 (0,28–1,92)	0,534	0,61 (0,21–1,75)	0,355
«Значущі» ДХА *vs* «незначущі» ДХА за F. Mitelman та співавторами [2]	1,50 (0,59–3,79)	0,391	1,55 (0,55–4,38)	0,412	2,07 (0,64–6,65)	0,223
Сприятливий прогноз *vs* несприятливий прогноз за W. Wang та співавторами [7]	0,53 (0,21–1,33)	0,173	0,19 (0,07–0,54)	**0,002***	0,31 (0,10–1,00)	**0,048***
Кількість метафаз із ДХА, %	1,002 (0,99–1,01)	0,711	1,007 (0,10–1,02)	0,237	1,006 (0,99–1,02)	0,387
Кількість Ph^+ метафаз, %	0,996 (0,98–1,01)	0,618	1,009 (0,99–1,03)	0,292	1,006 (0,99–1,02)	0,502

*Статистично значуща відмінність.

Таблиця 3

Прогностичне значення окремих ДХА в Ph^+ клітинах пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ щодо довгострокових показників відповіді на терапію іматинібом за результатами однофакторного регресійного аналізу Кокса

Показник	EFS		PFS		OS	
	Відношення ризиків (95% ДІ)	p	Відношення ризиків (95% ДІ)	p	Відношення ризиків (95% ДІ)	p
Кількість ДХА (1 ДХА *vs* більше 1 ДХА)	0,70 (0,24–2,05)	0,518	0,28 (0,09–0,88)	**0,029***	0,41 (0,12–1,48)	0,175
+Ph	0,67 (0,30–1,53)	0,346	0,64 (0,25–1,64)	0,350	0,52 (0,18–1,54)	0,239
i(17)	0,34 (0,10–1,16)	0,085	0,21 (0,06–0,75)	**0,016***	0,10 (0,02–0,39)	**0,001***
+8	2,48 (0,33–18,36)	0,375	1,77 (0,24–13,3)	0,581	1,71 (0,22–13,1)	0,608

*Статистично значуща відмінність.

У пацієнтів із ДХА в Ph^+-клітинах виживаність без прогресії, безподійна та загальна виживаність не залежали від розділення на «значущі» та «незначущі» ДХА, розміру клону з ДХА (% метафаз, в яких виявлено ДХА) та Ph^+-клону (% Ph^+-метафаз). Статистично значущий гірший прогноз щодо PFS та OS мали ДХА, які за класифікацією W. Wang та співавторів [7] належали до групи несприятливого прогнозу ($p = 0,002$ та $p = 0,048$ відповідно).

Аналізували також прогностичне значення окремих ДХА (табл. 3).

Визначено, що пацієнти з додатковою Ph-хромосомою та додатковою 8-ю хромосомою як при встановленні діагнозу, так і під час терапії іматинібом мали ризик прогресії захворювання не більший, ніж пацієнти з іншими ДХА ($p = 0,350$ та $p = 0,881$ відповідно). Проте поява ізохромосоми 17 по довгому плечу як ізольовано, так і в складі складного каріотипу статистично значуще підвищувала вірогідність прогресії ($p = 0,016$) та зменшення загальної виживаності ($p = 0,001$). Наявність більше однієї ДХА також значуще погіршувала вірогідність прогресії захворювання ($p = 0,029$).

Таким чином, у проведеному дослідженні ми проаналізували тип, частоту та прогностичне значення окремих ДХА щодо ефективності терапії іматинібом у пацієнтів із ХМЛ у хронічній фазі. Виділено ДХА, які статистично значуще підвищували вірогідність прогресії та зменшення загальної виживаності порівняно з іншими ДХА: ДХА з групи «несприятливого прогнозу» за класифікацією W. Wang та співавторів [7], ізохромосома 17 по довгому плечу як ізольовано, так і в складі складного каріотипу, наявність декількох ДХА в одного пацієнта. Загалом виявлені хромосомні порушення при клональній еволюції були досить гетерогенні. Можливо, поява ДХА є ознакою загальної геномної нестабільності. Висловлено припущення, що у процесі розвитку пухлини її клітини набувають великої кількості різноманітних геномних аберацій, більшість з яких дають їм перевагу в рості та виживаності порівняно не тільки з клітинами з незміненим каріотипом, але і з іншими клітинами пухлини. Цілком імовірно, що в кожній пухлині може формуватися унікальний спектр активованих генів-супресорів і протоонкогенів, при цьому закріплюються (тобто дають початок новому клону) тільки ті порушення, які забезпечують явну проліферативну перевагу [12]. Тому молекулярні механізми резистентності, зумовлені клональною еволюцією, дуже різні. Висловлюється думка, що ДХА є маркерами прогресії лейкемічних клітин від менш злоякісного до більш злоякісного стану [5, 6]. Накопичення декількох ДХА при цьому можна розглядати як біологічний маркер більш агресивної стадії захворювання, що цілком узгоджується з нашими результатами щодо несприятливого прогнозу складних каріотипів.

Механізми, що спричиняють надто сильне зменшення виживаності при виявленні деяких ДХА, ймовірно, пов'язані з молекулярними змінами, які індукують певні хромосомні порушення. Так, несприятливий перебіг захворювання у пацієнтів з ізохромосомою i(17)(q10), ймовірно, пов'язаний із делецією гена *TP53*, який розміщений на короткому плечі 17-ї хромосоми. Його продукт, білок p53, є супресором і відіграє вирішальну роль у регулюванні зупинки клітинного циклу та апоптозу. Інактивація p53 призводить до геномної нестабільності та прогресування хвороби. Показано, що хромосомні порушення, які призводять до делеції *TP53*, також призводять до прогресії мієлопроліферативних захворювань [13]. У пацієнтів з гострою мієлоїдною лейкемією з порушеннями хромосоми 17 в тестах *in vitro* виявили значно вищу резистентність до цитостатичних препаратів порівняно з пацієнтами з незміненим каріотипом та з ДХА [14].

Отже, цитогенетичні дослідження як при встановленні діагнозу, так і у разі незадовільної відповіді на терапію дозволяють визначити ДХА, які зумовлюють швидку прогресію захворювання. Розуміння природи резистентності пухлинного клону в кожному конкретному випадку дасть можливість персоніфіковано вибирати та змінювати в разі необхідності терапію хворих на ХМЛ.

ВИСНОВКИ

Визначено ДХА, які асоціюються з несприятливим прогнозом щодо прогресування захворюван-

ня та зменшення загальної виживаності пацієнтів із ХМЛ: ДХА з групи «несприятливого прогнозу» за класифікацією W. Wang та співавторів [7], ізохромосома 17 по довгому плечу та наявність декількох ДХА в одного пацієнта. Додаткові Ph-хромосома та 8-ма хромосома при встановленні діагнозу та під час терапії іматинібом не відрізнялися більш суттєвим впливом на безподійну виживаність, виживаність без прогресії та загальну виживаність пацієнтів із ХМЛ порівняно з іншими ДХА. Визначення ДХА, які зумовлюють агресивний перебіг захворювання зі швидкою прогресією, дозволять виокремити пацієнтів із ХМЛ, які потребують зміни тактики лікування.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ren R. Mechanisms of BCR-ABL in the pathogenesis of chronic myelogenous leukaemia. Nat Rev Cancer 2005; **5**: 172–83.

2. Mitelman F. The cytogenetics scenario of chronic myeloid leukemia. Leuk Lymphoma 1993; **11** (1): 11–5.

3. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, *et al.* European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia. Blood 2013; **122** (6): 872–84.

4. Radich JP, Deininger M, Abboud CN, *et al.* Chronic myeloid leukemia, version 1.2019, NCCN clinical practice guidelines in oncology. J Natl Compr Canc Netw 2018; **16** (9): 1108–35.

5. Chandran KR, Geetha N, Sakthivel KM, *et al.* Impact of additional chromosomal aberrations on the disease progression of chronic myelogenous leukemia. Internet Front Oncol [Online] 2019, **9**, Article 88. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6411713/ (accessed August 22, 2019).

6. Vinogradova OJ, Aseeva EA, Voroncova AV, *et al.* The effect of various chromosomal abnormalities in Ph-positive bone marrow cells on the course of chronic myelogenous leukemia during treatment with tyrosine kinase inhibitors. Oncohematology 2012; **4**: 24–34 (in Russian).

7. Wang W, Cortes JE, Tang G, *et al.* Risk stratification of chromosomal abnormalities in chronic myelogenous leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitor therapy. Blood 2016; **127** (22): 2742–50.

8. Shaffer LG, McGowan-Jordan J, Schmid M. ISCN 2013: An International system for human cytogenetic nomenclature (2013). Basel: Karger; 2013. 140 p.

9. Hasting R, Howell R, Bricarelli FD, *et al.* General guidelines and quality assurance for cytogenetics. E.C.A. Newsletter 2012; **29**: 7–27.

10. Sharashova EE, Holmatova KK, Gorbatova MA, *et al.* Survival analysis in health sciences using SPSS software. Science & Healthcare 2017; **5**: 5–28 (in Russian).

11. Sharashova EE, Holmatova KK, Gorbatova MA, *et al.* Cox regression in health sciences using SPSS software. Science Healthcare 2017; **6**: 5–27 (in Russian).

12. Domninskiy DA. Molecular mechanisms of leukemogenesis. Oncohematology 2010; **7** (1): 9–15 (in Russian).

13. Marcellino BK, Hoffman R, Tripodi J, *et al.* Advanced forms of MPNs are accompanied by chromosomal abnormalities that lead to dysregulation of TP53. Blood Adv 2018; **2** (24): 3581–9.

14. Nahi H, Lehmann S, Bengtzen S, *et al.* Chromosomal aberations in 17p predict in vitro drug resistance and short overall survival in acute myeloid leukemia. Leuk Lymphoma 2008; **49** (3): 508–16.

CHARACTERISTICS OF CLONES WITH ADDITIONAL CHROMOSOMAL ABNORMALITIES IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA AND THEIR IMPACT ON THE IMATINIB THERAPY EFFICACY

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

SI «National Research Center for Radiation Medicine of NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Summary. ***Objective:*** *to evaluate the impact of various additional chromosomal abnormalities (ACA) on the chronic myeloid leukemia (CML) course and the imatinib therapy effficacy.* ***Object and Methods:*** *the study involved 45 CML patients in chronic phase with ACA at the time of diagnosis or during imatinib therapy. Patients were selected from a general group of CML patients enrolled in cytogenetic analysis at the National Radiation Medicine Center of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine for the period 2008 to 2019. All patients received imatinib. The probability of overall survival (OS), progression-free survival (PFS), and event free survival (EFS) were analyzed from the moment of the ACA appearance to the occurrence of each event.* ***Results:*** *a total of 54 ACA were detected in 45 CML patients. By type of formation ACA was divided into quantitative (16 aberrations), structural (10 aberrations) and doubling of the Ph-chromosome der(22)t(9;22)(q34;q11) (28 cases). Five patients had more than one ACA (complex karyotype). ACA from the adverse prognosis group according to Wang et al. and the presence of isochromosome 17 over the long arm demonstrated significant worse prognosis PFS ($p = 0.002$ and $p = 0.016$, respectively) and OS ($p = 0.048$ and $p = 0.001$, respectively). The presence of more than one additional chromosomal abnormality also significantly impaired the likelihood of disease progression ($p = 0.029$). Patients with an additional Ph-chromosome and an additional chromosome 8 both at diagnosis and during imatinib therapy had a risk of disease progression no greater than patients with other ACA.* ***Conclusion:*** *finding ACAs that cause aggressive disease course and rapid progression will allow to identify CML patients for which changes in therapy are required.*

Key Words: additional chromosomal abnormalities, chronic myeloid leukemia, prognostic factors, resistance, imatinib.

Адреса для листування:
Дмитренко І.В.
03115, Київ, просп. Перемоги, 119/121
Національний науковий центр
радіаційної медицини НАМН України
E-mail: iryna.v.dmytrenko@gmail.com

Одержано: 16.09.2019