



АНАЛИЗ КОМПЛЕКСНЫХ ХРОМОСОМНЫХ НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Эгамова С. К.

Бухарский государственный медицинский институт имени Абу Али ибн Сина.

✓ Резюме

Проведено исследование значимых генетических aberrаций в группе онкогематологических пациентов г. Ташкента методом стандартное цитогенетическое исследование и оценка их роли в прогнозе заболевания. Полученные данные сопоставлены с эффективностью полихимиотерапии и сформированы прогностические группы. В группе неблагоприятного прогноза чаще встречались множественные генетические aberrации, в отличие от группы пациентов с благоприятным прогнозом заболевания, у которых преимущественно отмечались одиночные генетические aberrации. Стандартное цитогенетическое исследование позволяет одномоментно выявлять широкий спектр генетических аномалий для определения прогноза пациентов с острыми лейкозами.

Ключевые слова: острый лейкоз, хромосомные транслокации, прогноз, цитогенетика

ЎТКИР ЛЕЙКОЗ БИЛАН ЎҒРИГАН БЕМОРЛАРДА МУРАККАБ ХРОМОСОМАЛАР БУЗИЛИШИНИНГ ТАҲЛИЛИ

Эгамова С.К.

Абу Али ибн Сино номидаги Бухоро давлат тиббиёт институти

✓ Резюме

Тошкент шаҳридаги онкогематологик беморларда стандарт цитогенетик таҳлил ёрдамида аниқланган генетик aberrацияларнинг аҳамияти ўрганилди. Олинган маълумотлар полихимиотерапия самарадорлиги билан таққосланди ва прогностик гуруҳлар тузилди. Ёмон прогнозли гуруҳда, асосан, битта генетик aberrацияга эга бўлган касалликнинг қулай прогнози бўлган беморлар гуруҳидан фарқли ўлароқ, бир нечта генетик aberrациялар кўпроқ учрайди. Стандарт цитогенетик тадқиқот ўткир лейкоз билан оғриган беморларнинг прогнозини аниқлаш учун кенг қўламли генетик аномалияларни бир босқичда аниқлаш имконини беради.

Калит сўзлар: ўткир лейкоз, хромосома транслокациялар, прогноз, цитогенетика

ANALYSIS OF COMPLEX CHROMOSOMAL DISORDERS IN PATIENTS WITH ACUTE LEUKEMIA

Egamova S. Q.

Bukhara State Medical Institute named after Abu Ali ibn Sina

✓ Resume

A study of significant genetic aberrations in a group of oncohematological patients in Tashkent was carried out using the standard cytogenetic study and an assessment of their role in the prognosis of the disease. The obtained data were compared with the effectiveness of polychemotherapy and prognostic groups were formed. In the group of poor prognosis, multiple genetic aberrations were more common, in contrast to the group of patients with a favorable prognosis of the disease, who predominantly had single genetic aberrations. A standard cytogenetic study allows one-stage detection of a wide range of genetic abnormalities to determine the prognosis of patients with acute leukemia.

Keywords: acute leukemia, chromosomal translocations, prognosis, cytogene



Актуальность

Заболеваемость гемобластозами составляет в среднем 10 на 100 тыс. населения в год и занимает 6–8-е место среди новообразований, составляя 6–7 % от них [5,6].

В последние годы средняя заболеваемость опухолями крови в Российской Федерации составила 12,9 на 100 тыс. (в некоторых регионах этот показатель превышает 20,0) [8]. По данным Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра гематологии Рес.Уз., в 2021 году в общей структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями в Узбекистане гемобластозы составляли 3,2 % [2,13]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), заболевания кроветворной и лимфоидной тканей составляют около 1 % от всех причин смертности населения. На их долю приходится от 6 до 10 % всех случаев смерти от злокачественных новообразований, а среди пациентов в возрасте до 30 лет — 50 % [8,10,14]. При этом по уровню экономического урона, наносимому обществу, опухоли крови в экономически развитых странах занимают 2-е место после рака легкого, являясь наиболее частой причиной смерти в детском и молодом возрасте [11,13,15]. Ежегодно регистрируется 2700 человек (14%), заболевших острыми лимфобластными лейкозами (ОЛЛ), острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) 1600 (9 %), другими острыми лейкозами (ОЛ) — 1000 (5,0 %) [1,3,16].

В основе развития острых лейкозов лежат генетические изменения в клетке — предшественнице гемопоэза. Эти изменения представляют собой хромосомные aberrации и генные мутации. Постановка диагноза острый лейкоз сегодня невозможна без проведения цитогенетического исследования и привлечения современных методов молекулярной биологии.

Стандартное цитогенетическое исследование (СЦИ) находят сегодня все большее применение в различных областях практической медицины. Так, в онкогематологии данный метод позволяет одновременно выявлять широкий спектр клинически значимых генетических аномалий для определения прогноза и тактики лечения пациентов с гемобластозами [7,8,17]. В соответствии с классификацией ВОЗ опухолей кроветворной и лимфоидной тканей, для определения варианта острого лейкоза необходимо учитывать не только результаты цитологического и цитохимического исследований, но и результаты иммуноцитохимического цитогенетического или молекулярно-генетического методов исследования, важность проведения которых обусловлена как более точной диагностикой конкретной нозологической формы, так и влиянием выявляемых цитогенетических аномалий на прогноз заболевания [13,14]. Самым известным и повсеместно распространенным методом цитогенетического исследования является G-дифференциальная окраска хромосом, позволяющая полностью описать кариотип и обнаружить маркерные и вариантные перестройки генома.

Флюоресцентная гибридизация *in situ* (FISH-метод) — это молекулярно-генетический метод, позволяющий выявить присутствие, количество и точную локализацию определенной, заранее известной последовательности ДНК в ограниченном количестве клеточного субстрата [15,18]. К сожалению, применение FISH имеет ряд ограничений, связанных с достаточно высокой стоимостью зондов и возможностью определения только одной заранее известной мутации [4]. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) обладает высокой чувствительностью (одна клетка на 10 000 клеток) и специфичностью, что позволяет использовать его в диагностике минимальной остаточной болезни при оценке эффективности противоопухолевой терапии, но он неудобен для одновременного определения большого числа мутаций различных генов у одного пациента. К общим недостаткам данных методов можно отнести трудоемкость, высокую себе стоимость и длительность проводимого исследования, а значит и постановки диагноза (от 3-х до 5-ти дней).

В Узбекистане на сегодняшний день, в диагностике острых лейкозов стандартная цитогенетика, молекулярно-генетические исследования в целом и микрочиповые технологии, в частности, не являются обязательным методом исследования. Внедрение в широкую медицинскую практику технологий, СЦИ основанных на использовании, позволит улучшить точность первичной диагностики и определения как варианта заболевания, так и группы прогноза, а значит, и адекватной терапевтической тактики [8–10,19].

Цель исследования: с помощью СЦИ определить хромосомные нарушения у больных с острым лейкозом и оценить их роль в прогнозе заболевания.

Материал и методы

В исследование были включены 88 больных острым лейкозом, которые проходили диагностическое обследование и получали лечение в Республиканском специализированном научно-практическом медицинском центре гематологии МЗ РУз. Верификация диагноза основана на: предъявляемых жалобах больных, данных анамнеза, физикального и инструментального обследований, а также клинко-лабораторных анализов.

Из них: 50 мужчин и 38 женщин. У 46 больных верифицирован острый миелобластный лейкоз (ОМЛ), у 42 – острый лимфобластный лейкоз. Возраст пациентов варьировал от 18 до 68 лет (медиана $42,2 \pm 2,1$ лет), медиана возраста при ОМЛ- 42,3, при ОЛЛ- 32,1 лет.

В данном исследовании мы формировали группы прогноза, руководствуясь независимыми прогностическими факторами [10].

Объектом исследования явились заключения с результатом стандартного цитогенетического исследования (GTG-бэндинг), выполненного больным с гемобластозами.

В качестве биологического материала для проведения СЦИ использовался аспират костного мозга (стерильная пункция) больных, забранный в стерильные пробирки с гепарином.

Анализ хромосом осуществлялся по сохраненным цифровым изображениям. Проводился подсчет количества хромосом в каждой метафазной пластинке, анализировалась структура метафазных хромосом путем сравнения гомологов, оценки относительных размеров хромосом в пределах каждой метафазной пластинки, размеров короткого (p) и длинного (q) плечей каждой хромосомы, расположения центромеры и соответствия G-положительных бэндов в гомологичных хромосомах. Хромосомы идентифицировались в соответствии с классификационной системой ISCN, а при отсутствии GTG-бэндинга – по Денверской классификации. Для каждого больного анализировалось от 20 метафаз.

Результат и обсуждения

При проведении исследования у 62 (70,5%) из 88 больных выявлен нормальный кариотип (из них ОМЛ-35, ОЛЛ-27) и у 26 (29,5 %) пациента выявлены цитогенетические aberrации (у 15 больных ОЛЛ, у 11 – ОМЛ).

Таблица №1. Доля и спектр структурных изменений кариотипа у больных ОЛ

Хромосомные нарушение	ОЛ			
	ОМЛ n =46		ОЛЛ n =42	
	n	%	n	%
Всего	6	13.0	11	26.1
t(15,17)(q22;q21)	3	6.5	-	-
t(9,22)(q34;q11.2)	-	-	3	7,1
t(8,21)(q22;q22)	1	2.1	-	-
der	2	4.3	2	4.7
del 8	-	-	1	2.3
t(1,7)(q41;p22)	-	-	1	2.3
t(10,19)(q22;q13.3)	-	-	1	2.3

Критериями оценки прогноза являлись быстрота наступления клинко- гематологической ремиссии, наличие или отсутствие цитогенетической ремиссии, наличие рецидива, длительность общего выживания больных. Благоприятным считался прогноз в случае быстрого наступления клинко- гематологической ремиссии в ходе первых курсов химиотерапии, наличия цитогенетической ремиссии и выживаемости пациентов более 3 лет, отсутствия рецидива. Прогноз расценивался как неблагоприятный в случае летального исхода в течение года или быстрого наступления рецидива, крайне неблагоприятный - в случае летального исхода до начала лечения или в ходе первого курса терапии. Промежуточный прогноз соответствует выживаемости в пределах 1-3 лет, наличию клинко-гематологической ремиссии при отсутствии выраженного цитогенетического ответа.

Таблица №2. Доля и спектр количественных изменений кариотипа у больных ОЛ

Хромосомные нарушение	ОМЛ n =46		ОЛЛ n =42	
	n	%	n	%
ЦГНК	31	67.3	22	52.3
Гиподиплоидия (2n>46)	3	6.5	2	4.7
Гипердиплоидия (2n<46)	1	2.7	3	7.1
Всего	4		5	

Группа больных ОМЛ благоприятного прогноза включает 3 сбалансированных хромосомных аномалии: транслокацию t(15;17) (q22;q21), характерную для острого промиелоцитарного лейкоза (ОПЛ) (химерный онкоген PML-RARA), а также транслокацию t(8;21)(q22;q22)/RUNX1-RUNX1T1 и инверсию inv(16) (p13.1;q22)/CBFB-MYH11, характерные для так называемых CBF-лейкозов (core binding factor leukemias) [6]. В наших транслокация по типу t(15;17) (q22;q21) наблюдался у 3 и t(8;21) (q22;q22) у одного пациента с ОМЛ. В данной группе наиболее благоприятными оказались транслокации t(8;21), t(15;17), а также инверсия inv(16), что соответствует данным литературы [12,20].

Таблица №3. Выявляемые хромосомные транслокации и их прогностическая значимость

Хромосомные транслокации	Генетические aberrации	Прогноз при ОЛ	Существующие подходы в лечении
t(9;22), филадельфийская хромосома	p190 и p210 BCR/ABL	Неблагоприятный	Специфическая терапия ингибиторами тирозинкиназ
t(8;21)	AML/ETO	Благоприятный	Программная полихимиотерапия
t(15;17)	PML/RARa	Благоприятный	Лечение полностью трансретиноевой кислотой (ATRA)
t(1;7)	E2A/PBX	Промежуточный	Возможны интенсификация курсов полихимиотерапии или аллогенная трансплантация костного мозга.
t(10,19)	CBFB/MYH11	Неблагоприятный	Возможны интенсификация курсов полихимиотерапии или аллогенная трансплантация костного мозга.

В большинстве случаев наличия моносомии (за исключением моносомии Y) отмечался неблагоприятный прогноз, также, как и при нарушениях плоидности кариотипа, в то время как трисомии (+13, +21) характеризовались промежуточным прогнозом. Количественных изменений кариотипа в наших наблюдениях, как выше сказали, обнаружен в 9 (10,2%) случаях. При этом 4 (4,5%) из них относился больным с ОМЛ и 5 (5,7%) - с ОЛЛ. По данным литературы при ОМЛ из этой группы риска частота полных ремиссий составляет также 90 %, а 5-летняя общая выживаемость — 55–85 % [7, 8].

В группе острых лимфобластных лейкозов благоприятный прогноз был характерен для случаев гипердиплоидного набора хромосом. Крайне неблагоприятным образом развивались острые лимфобластные лейкозы с наличием транслокации по типу t(9,22) (q34; q11.2), t(1,7) (q41; p22) и t(10,19) (q22; q13.3) выявлен только у больных с ОЛЛ. В этой группе наблюдалась наибольшая частота рецидивов.

Большое значение при ОМЛ в качестве фактора неблагоприятного прогноза придают моносомному кариотипу, который определяют, как одновременное наличие 2 аутосомных моносомий либо сочетание аутосомной моносомии с какой-либо транслокацией или инверсией, за исключением t(8;21) и inv(16).

Выводы

У больных острыми лейкозами с неблагоприятным течением заболевания и рефрактерностью к проводимой терапии встречаются множественные (2 и более) генетические aberrации с наиболее частым профилем аномальных генов: MLL, AML/ETO, BCR/ABL и MLL, AML/ETO и TEL/AML, в отличие от пациентов группы с благоприятным прогнозом заболевания, у которых были отмечены только одиночные генетические aberrации. В международной практике группы риска пациентов с острым лейкозом в настоящее время формируются на основе выявляемых цитогенетических и молекулярно-генетических нарушений (рекомендации Американского общества клинических онкологов и Европейской кооперативной группы Leukemia Net, IEP (International Expert Panel)). Использование стандартное цитогенетическое исследование позволяет одновременно выявлять широкий спектр клинически значимых генетических аномалий, в том числе и комплексные нарушения кариотипа для определения прогноза и тактики лечения пациентов с острыми лейкозами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Алланазарова Б.Р., Ассесорова Ю.Ю., Болтаева Ю.Ю. Модифицирование стандартного цитогенетического исследования для выявления хромосомных нарушений //Нововведения в лечении и профилактике заболеваний системы крови и проблемы трансфузиологии. – Ташкент-2013. – 18-19.
2. Блау О.В. Мутации генов при острых миелоидных лейкозах. //Клиническая онкогематология. 2016;9(3):245-56.
3. Воробьев А.И. Руководство по гематологии. // Ньюдиамед. 2007. – Т1. – С. 159-171.
4. Ковынев И.Б., со авторы. Клинико – эпидемиологическая и молекулярно – генетическая характеристика острых лейкозов во взрослой клинике Новосибирского городского гематологического центра // Сибирский медицинский журнал. – 2017. - №2. – С.62-65.
5. Мисюрин А.В. Цитогенетические и молекулярно – генетические факторы прогноза острых миелоидных лейкозов // Клиническая онкогематология. – 2017;10(2). – С.226- 234.
6. Окорочков А.Н. Диагностика болезней внутренних органов. Диагностика болезней системы крови // М.: Мед. лит., 2001. – Т4. – С.205-270
7. Рукавицин О.А. Гематология : национальное руководство // М.:ГЭОТАР-Медиа, 2015.
8. С.180–199.
9. Ходулева С. А., Кравченко Д. В. Современные аспекты лабораторной диагностики острых лейкозов // Проблемы здоровья и экологии. 2010. - С. 96-101.
10. Arber DA, Borowitz MJ, Cessna M, et al. Initial diagnostic workup of acute leukemia: guideline from the College of American Pathologists and the American Society of Hematology // Arch Pathol Lab Med. 2017. 141:1342–1393.
11. Döhner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel // Blood. 2017. 129:424–447
12. Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, et al. Genomic classification and prognosis in acute myeloid leukemia // N Engl J Med. 2016. 374:2209–2221.
13. Walter RB, Othus M, Burnett AK, et al. Resistance prediction in AML: analysis of 4601 patients from MRC/ NCRI, HOVON/SAKK, SWOG and MD Anderson Cancer Center //Leukemia.2015. 29:312–320.
14. Naimova S. A. Principles of early diagnosis of kidney damage in patients of rheumatoid arthritis and ankylosing spondylarthritis //British Medical Journal. – 2021. – Т. 1. – №. 1.
15. Anvarovna N. S. Features Of Kidney Damage at Patients with Ankylosing Spondylarthritis //Texas Journal of Medical Science. – 2021. – Т. 3. – С. 18-22.
16. Shadjanova N. S. Features of hemostasis in rheumatoid arthritis patients with ischemic hearth disease // International Engineering Journal for Research & Development. - 2022. - Vol. 7. - No. 1-P. - P. 1-5.
17. Tulkjanovna S. G., Anvarovich R. A. The influence of deficiency of microelements in children with bronchial hyperreactivity //ACADEMICIA: An International Multidisciplinary Research Journal (ISSN: 2249-7137)–2020. April. - 2020. - Т. 10. - No. 4. - S. 846-853.
18. Boltayev K. J., Naimova S. A. Risk factors of kidney damage at patients with rheumatoid arthritis //WJPR (World Journal of Pharmaceutical Research). – 2019. – Т. 8. – №. 13.
19. Naimova Sh.A., Khamidova N.K., Azamov B.Z. Features of coagulation and cellular hemostasis in rheumatoid arthritis in patients with cardiovascular pathology//New Day in Medicine 2(26)2019 219-222 <https://cutt.ly/8bO0GO3>
20. Odiljonovna N. G. ASPECTS OF KIDNEY DAMAGE IN COVID-19 IN PATIENTS WITH COMORBID DISEASES //Asian journal of pharmaceutical and biological research. – 2021. – Т. 10. – №. 3.
21. Нанимова Ш. А., Рузиева Ф. А. ОСОБЕННОСТИ ПОЧЕЧНОЙ КОМОРБИДНОСТИ ПРИ РЕВМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ //Вестник науки и образования. – 2020. – №. 24-2 (102).

Поступила 09.05.2022