



New Day in Medicine
Новый День в Медицине

NDM



TIBBIOVIYOTDA YANGI KUN

Ilmiy referativ, marifiy-ma'naviy jurnal



AVICENNA-MED.UZ



ISSN 2181-712X.
EiSSN 2181-2187

2 (64) 2024

Сопредседатели редакционной коллегии:

**Ш. Ж. ТЕШАЕВ,
А. Ш. РЕВИШВИЛИ**

Ред. коллегия:

М.И. АБДУЛЛАЕВ
А.А. АБДУМАЖИДОВ
Р.Б. АБДУЛЛАЕВ
Л.М. АБДУЛЛАЕВА
А.Ш. АБДУМАЖИДОВ
М.А. АБДУЛЛАЕВА
Х.А. АБДУМАДЖИДОВ
М.М. АКБАРОВ
Х.А. АКИЛОВ
М.М. АЛИЕВ
С.Ж. АМИНОВ
Ш.Э. АМОНОВ
Ш.М. АХМЕДОВ
Ю.М. АХМЕДОВ
С.М. АХМЕДОВА
Т.А. АСКАРОВ
М.А. АРТИКОВА
Ж.Б. БЕКНАЗАРОВ (главный редактор)
Е.А. БЕРДИЕВ
Б.Т. БУЗРУКОВ
Р.К. ДАДАБАЕВА
М.Н. ДАМИНОВА
К.А. ДЕХКОНОВ
Э.С. ДЖУМАБАЕВ
А.А. ДЖАЛИЛОВ
Н.Н. ЗОЛотова
А.Ш. ИНОЯТОВ
С. ИНДАМИНОВ
А.И. ИСКАНДАРОВ
А.С. ИЛЬЯСОВ
Э.Э. КОБИЛОВ
А.М. МАННАНОВ
Д.М. МУСАЕВА
Т.С. МУСАЕВ
Ф.Г. НАЗИРОВ
Н.А. НУРАЛИЕВА
Ф.С. ОРИПОВ
Б.Т. РАХИМОВ
Х.А. РАСУЛОВ
Ш.И. РУЗИЕВ
С.А. РУЗИБОВЕВ
С.А. ГАФФОРОВ
С.Т. ШАТМАНОВ (Кыргызстан)
Ж.Б. САТТАРОВ
Б.Б. САФОВЕВ (отв. редактор)
И.А. САТИВАЛДИЕВА
Д.И. ТУКСАНОВА
М.М. ТАДЖИЕВ
А.Ж. ХАМРАЕВ
Д.А. ХАСАНОВА
А.М. ШАМСИЕВ
А.К. ШАДМАНОВ
Н.Ж. ЭРМАТОВ
Б.Б. ЕРГАШЕВ
Н.Ш. ЕРГАШЕВ
И.Р. ЮЛДАШЕВ
Д.Х. ЮЛДАШЕВА
А.С. ЮСУПОВ
Ш.Ш. ЯРИКУЛОВ
М.Ш. ХАКИМОВ
Д.О. ИВАНОВ (Россия)
К.А. ЕГЕЗАРЯН (Россия)
DONG JINCHENG (Китай)
КУЗАКОВ В.Е. (Россия)
Я. МЕЙЕРНИК (Словакия)
В.А. МИТИШ (Россия)
В.И. ПРИМАКОВ (Беларусь)
О.В. ПЕШИКОВ (Россия)
А.А. ПОТАПОВ (Россия)
А.А. ТЕПЛОВ (Россия)
Т.Ш. ШАРМАНОВ (Казахстан)
А.А. ЩЕГОЛОВ (Россия)
Prof. Dr. KURBANHAN MUSLUMOV (Azerbaijan)
Prof. Dr. DENIZ UYAK (Germany)

ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН НОВЫЙ ДЕНЬ В МЕДИЦИНЕ NEW DAY IN MEDICINE

*Илмий-рефератив, маънавий-маърифий журнал
Научно-реферативный,
духовно-просветительский журнал*

УЧРЕДИТЕЛИ:

**БУХАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
ООО «ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН»**

Национальный медицинский
исследовательский центр хирургии имени
А.В. Вишневского является генеральным
научно-практическим
консультантом редакции

Журнал был включен в список журнальных
изданий, рецензируемых Высшей
Аттестационной Комиссией
Республики Узбекистан
(Протокол № 201/03 от 30.12.2013 г.)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

М.М. АБДУРАХМАНОВ (Бухара)
Г.Ж. ЖАРЫЛКАСЫНОВА (Бухара)
А.Ш. ИНОЯТОВ (Ташкент)
Г.А. ИХТИЁРОВА (Бухара)
Ш.И. КАРИМОВ (Ташкент)
У.К. КАЮМОВ (Тошкент)
Ш.И. НАВРУЗОВА (Бухара)
А.А. НОСИРОВ (Ташкент)
А.Р. ОБЛОКУЛОВ (Бухара)
Б.Т. ОДИЛОВА (Ташкент)
Ш.Т. УРАКОВ (Бухара)

2 (64)

2024

февраль

www.bsmi.uz

<https://newdaymedicine.com> E:

ndmuz@mail.ru

Тел: +99890 8061882

Received: 20.01.2024, Accepted: 10.2.2024, Published: 20.02.2024

УДК 616.155.392.8-036.12:616-018.74-008]-036

АНАЛИЗ МУТАЦИИ CYP1A1 У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ В РЕСПУБЛИКЕ УЗБЕКИСТАН

Саидаманова С.С. <https://orcid.org/0009-0005-2636-128X>

Каюмов А.А. <https://orcid.org/0009-0001-8058-2738>

Абдурахманова Н.Р. <https://orcid.org/0009-0009-7716-6344>

Республиканский специализированный научно практический медицинский гематологический центр, Узбекистан г. Ташкент, Чиланзарский район, дом 17 tel: +998 (78) 113 66 62
Email: rigiatm@exat.uz

✓ Резюме

Исследование выполнено в РСНПМЦГ. Выполнен ретроспективный проспективный анализ клинических данных 118 больных ХМЛ, в период с октября 2020 г. по октябрь 2023 г. Медиана возраста составила — 49,3 года (18-74), Ме времени от начала терапии до выявления мутации 3,6 года (0,4- 10,6 года).

*Исследовали на наличие полиморфных вариантов гена *Pe462Val* гена *CYP 1A1*. При этом у 63 (53,4%) пациентов отмечалось резистентность к *ИТК1*, однако у 49 (77,8%) больных отмечалось наличие *Pe/Pe* генотипа, у 19% больных было выявлено гетерозиготная форма полиморфизма *Pe/Val* гена *CYP 1A1* и у 3,2% больных определена гомозиготная форма мутации *Val/Val* гена *CYP 1A1*.*

*В представленном нами исследовании продемонстрировано, что методы лечения, применяющиеся в настоящее время у пациентов с мутацией *T315I* и гомозиготной формой мутации *Val/Val* гена *CYP 1A1*, не эффективны. Данная проблема служит основанием для совершенствования молекулярных методов диагностики, а также для разработки принципиально новых молекул, эффективных у *BCR-ABL T315I* и *Val/Val* гена *CYP 1A1*-положительных больных.*

*Ключевые слова: анализ мутации *CYP1A1* у больных с хроническим миелолейкозом, республика Узбекистан, разработки принципиально новых молекул, эффективных у *BCR-ABL T315I* и *Val/Val* гена *CYP 1A1*-положительных больных.*

О‘ЗБЕКISTON RESPUBLIKASIDA SURUNLI MYELOLUTSIYA BO‘LGAN BEMORLARDA CYP1A1 MUTASIYASINI TAHLILI

Saidamanova S.S., Qayumov A.A., Abduraxmanova N.R.

Respublika ixtisoslashtirilgan ilmiy-amaliy tibbiy gematologiya markazi, O‘zbekiston, Toshkent sh., Chilonzor tumani, 17-uy tel: +998 (78) 113 66 62 Elektron pochta: rigiatm@exat.uz

✓ Rezyume

Tadqiqot Respublika ixtisoslashtirilgan ilmiy-amaliy O‘zbekiston Respublikasi Sog‘liqni saqlash vazirligi Gematologiya tibbiyot markazida o‘tkazildi. 2020 yil oktyabrdan 2023 yil oktyabrgacha bo‘lgan davrda KML bilan kasallangan 118 nafar bemorning klinik ma‘lumotlarining retrospektiv istiqbolli tahlili o‘tkazildi. O‘rtacha yosh 49,3 yoshni (18-74), terapiya boshlanganidan mutatsiyani aniqlashgacha bo‘lgan vaqt 3,6 ni tashkil etdi. yillar (0 ,4-10,6 yil).

*Biz CYP 1A1 genining *Pe462Val* genining polimorfik variantlari mavjudligini tekshirdik. Shu bilan birga, 63 (53,4%) bemorda *TKI1* ga qarshilik bor edi, ammo 49 (77,8%) bemorda *Pe/Pe* genotipi, 19% bemorlarda CYP 1A1 geni *Pe/Val* polimorfizmining geterozigota shakli va Bemorlarning 3,2 foizida CYP 1A1 genining *Val/Val* mutatsiyasining homozigot shakli aniqlangan.*

*Biz taqdim etgan tadqiqot shuni ko‘rsatdiki, *T315I* mutatsiyasi va CYP 1A1 genining *Val/Val* mutatsiyasining gomozigotli shakli bo‘lgan bemorlarda hozirda qo‘llaniladigan davolash usullari samarali emas. Bu muammo molekulyar diagnostika usullarini takomillashtirish, shuningdek,*

BCR-ABL T315I va Val/Val geni CYP 1A1-musbat bemorlarda samarali bo'lgan prinsipial yangi molekulalarni ishlab chiqish uchun asos bo'lib xizmat qiladi.

Kalit so'zlar: Surunkali miyeloid leykemiya bilan og'rigan bemorlarda CYP1A1 mutatsiyasini tahlil qilish, O'zbekiston Respublikasi, BCR-ABL T315I va Val/Val geni CYP 1A1 musbat bemorlarda samarali bo'lgan prinsipial yangi molekulalarning rivojlanishi.

ANALYSIS OF CYP1A1 MUTATION IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOLUSIS IN THE REPUBLIC OF UZBEKISTAN

Saidamanova S.S., Kayumov A.A., Abdurakhmanova N.R.

Republican Specialized Scientific and Practical Medical Hematology Center, Uzbekistan Tashkent, Chilanzar district, house 17 tel: +998 (78) 113 66 62 Email: rigiatm@exat.uz

✓ Resume

The study was conducted at the Republican specialized scientific-practical Hematology Medical Center of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan. A retrospective prospective analysis of the clinical data of 118 patients with CML between October 2020 and October 2023 was performed. The average age was 49.3 years (18-74), and the time from the start of therapy to the detection of the mutation was 3.6 years. years (0.4-10.6 years).

We investigated the presence of polymorphic variants of the Ile462Val gene of the CYP 1A1 gene. At the same time, 63 (53.4%) patients had resistance to TKI1, but 49 (77.8%) patients had Ile/Ile genotype, 19% patients had heterozygous form of CYP 1A1 gene Ile/Val polymorphism, and 3.2% of patients A homozygous form of Val/Val mutation of the CYP 1A1 gene was identified.

The study we presented showed that currently used treatments are not effective in patients with the T315I mutation and the homozygous form of the Val/Val mutation of the CYP 1A1 gene. This problem serves as a basis for the improvement of molecular diagnostic methods, as well as for the development of principally new molecules effective in BCR-ABL T315I and Val/Val gene CYP 1A1-positive patients.

Key words: Analysis of CYP1A1 mutation in patients with chronic myeloid leukemia, Republic of Uzbekistan, Development of principle new molecules effective in BCR-ABL T315I and Val/Val gene CYP 1A1 positive patients.

Актуальность

По мере накопления количества наблюдений становится очевидным, что число больных с резистентностью к иматинибу увеличивается с каждым годом [22]. Примерно у 15-30 % больных ХМЛ наблюдается первичная или вторичная резистентность к лечению иматинибом мезилатом [23-27]. Учитывая, что у больных ХМЛ, в зависимости от наличия или отсутствия мутаций в гене BCR-ABL, а также от типа мутаций, наблюдается различный терапевтический эффект на ИТК, актуальным является ранняя идентификация мутаций гена BCR-ABL, что позволяет своевременно определить факторы риска неблагоприятного прогноза течения заболевания, ответ на проводимую терапию и назначить адекватное лечение с целью получения ее максимальной эффективности [11]. Резистентность к терапии может проявляться и при отсутствии мутаций киназного домена, следовательно, есть необходимость изучения новых механизмов образования резистентного к лечению фенотипа, например, генов, участвующих в метаболизме ИТК, наличия aberrантной экспрессии онкогенов и супрессоров опухолевого роста у больных ХМЛ [26, 28]. Поскольку в исследованиях, посвященных изучению однонуклеотидных полиморфизмов генов (SNR) при ХМЛ, чаще обнаруживалась ассоциация полиморфизма гена CYP3A5 (rs 7776746) и гена hOCT1 M408V (rs628031) с ответом на лечение иматинибом, была изучена связь этих полиморфизмов с резистентностью к терапии и общей выживаемостью больных в многонациональной Республике Узбекистан [29-31].

По литературным данным продукт экспрессии гена CYP1A1 участвует в метаболизме полициклических ароматических углеводов, многие метаболиты которых являются признанными канцерогенами. Неоднократно показана связь некоторых полиморфных вариантов этого гена с различными формами онкогематологическими, включая рак молочной

железы [15], рак щитовидной железы [16], немелкоклеточный рак легких [18], и др. Для спортсменов преобладающим является гетерозиготный генотип CYP1A1 AG (92,16%±3,76%), в группе сравнения частота гетерозигот CYP1A1 AG и гомозигот CYP1A1 AA практически не отличается (37,74%±6,66% и 41,51%±6,78% соответственно). Гомозиготный функционально неполноценный генотип CYP1A1 GG практически отсутствует в основной группе (1,96%±1,94%), однако его частота в группе сравнения составляет 20,75%±5,57% ($p<0,01$)

В зарубежной литературе существует ряд исследований, посвященных метаболизму ксенобиотиков, т.е., участвующих в метаболизме ингибиторов тинозинкиназы. Существует много ссылок, что нарушения или не завершенный метаболизм ИТК приводит к развитию устойчивости к данному препарату

Цель исследования: Внедрение метода определения мутации гена CYP1A1 и изучить частоту встречаемости среди больных с ХМЛ в Узбекистане.

Материал и методы

Исследование выполнено в РСНПМЦГ. Выполнен ретроспективный перспективный анализ клинических данных 118 больных ХМЛ, в период с октября 2020 г. по октябрь 2023 г. Медиана возраста составила — 49,3 года (18-74), Медиана времени от начала терапии до выявления мутации 3,6 года (0,4- 10,6 года).

Для выделения геномной полиморфных ДНК-локусов генов CYP1A1 осуществляли методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК и ПДРФ-анализом с последующим электрофорезом в 7-8 % полиакриламидном геле. Для определения полиморфных вариантов в гене CYP1A1, использовали метод полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. Для амплификации использовали реакционную смесь объемом 25 мкл, которая содержала 2,5 мкл 10xTaq-буфера (67 mM трис-HCl (pH 8,8), 16,6 mM (NH₄)₂ SO₄, 2,5mM MgCl₂, 0,01% Tween-20), 0,1 мкг геномной ДНК, смесь dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP по 200 мкМ каждого), 1 ед. ДНК-полимеразы *Terminus aquaticus* (производства фирмы «Силекс») и 5-10 пМ locus специфичных олигонуклеотидных праймеров. Результаты амплификации анализировали в 7 % полиакриламидном геле с последующей окраской в растворе бромистого этидия (конечная концентрация 0,1 мкг/мл) и визуализацией в проходящем УФ-свете при длине волны 312 нм. После амплификации 10 мкл амплификата обрабатывали 5 единицами соответствующей рестриктазы согласно рекомендациям производителя. Результаты рестрикционного анализа оценивали при проведении электрофореза в 7 % ПААГ с последующим окрашиванием бромистым этидием и визуализации под ультрафиолетовыми лучами.

Обратная транскрипция проводилась с использованием набора «RevertAid™ First Strand cDNA» (Fermentas) с использованием гекса- и дексануклеотидных праймеров, руководствуясь рекомендациями производителя. ПЦР-реакция проводилась в 2 этапа, с целью амплификации мутантного транскрипта ABL, согласно рекомендациям Soverini [15]. На 1-м этапе амплифицировали участок гена =>M<=G, длиной в 1,2 т.п.о. (тысяч пар оснований), с использованием следующих праймеров: F-BCR-A и R-ABL-A.

Результат и обсуждения

Нами отобранные больные по критерию исследования исследовали на наличие полиморфных вариантов гена *Pe462Val* гена CYP 1A1. При этом у 63 (53,4%) пациентов отмечалось резистентность к ИТК1, однако у 49 (77,8%) больных отмечалось наличие *Pe/Pe* генотипа, у 19% больных было выявлено гетерозиготная форма полиморфизма *Pe/Val* гена CYP 1A1 и у 3,2% больных определена гомозиготная форма мутации *Val/Val* гена CYP 1A1. Основную группу составили больные с ХМЛ в количестве 118 человек. Гомозиготный *Pe/Pe* генотип составил 95 (80,5%) пациентов, гетерозиготный *Pe/Val* генотип встречался в 21 случае и гомозиготный *Val/Val* наблюдался в 2 случаях и составил 1,7% соответственно. В контрольной группе у условно здоровых доноров эти показатели были в следующем порядке, гомозиготный *Pe/Pe* генотип составил 75 (88,4%), гетерозиготный *Pe/Val* генотип встречался в 11 (11,6%) и гомозиготный *Val/Val* генотип не наблюдался.

Если рассмотреть сравнительную группу пациентов с ХМЛ без резистентных форм заболевания, тогда частота встречаемости генотипов полиморфизмов генов *Pe462Val* гена CYP 1A1 были следующим образом. Общее количество пациентов составило 55 больных, при этом

гомозиготный *Pe/Pe* генотип встречался у 46 (83,6%) больных, гетерозиготный *Pe/Val* генотип встречался у 9 (16,4%) пациентов и гомозиготный *Val/Val* генотип не наблюдался.

По полученным результатам можно сделать вывод, что, у пациентов с резистентными формами гомозиготный *Val/Val* генотип гена *CYP 1A1* достоверно высокий процент встречаемости полиморфных вариантов гена, что свидетельствует об участии генетически детерминированной системы биотрансформации ксенобиотиков в патогенезе развития резистентности к препаратам ИТК.

На основании выполненных молекулярно-генетических исследований по изучению особенностей состояния цитохром P450-зависимой монооксигеназной системы у больных, будут разработаны критерии, включающие определение полиморфных вариантов генов *CYP1A1*, которые могут быть использованы для оценки индивидуального риска развития резистентности у пациентов, а также для индивидуального прогноза заболевания и разработки мер профилактики развития резистентных форм заболевания к препаратам ингибиторов тирозинкиназы.

Заключение

Терапия ингибиторами тирозинкиназ 1, 2, 3 поколения привела к значимому перевороту в терапии пациентов с ХМЛ, но выявила проблему неполного ответа на лечение, связанную с проявлениями резистентности и непереносимости ИТК. Появление клона с мутациями у больных ХМЛ с резистентностью изменяет прогноз для данной категории пациентов, так как приводит к невозможности целенаправленного воздействия на лейкозные клетки.

В представленном нами исследовании продемонстрировано, что методы лечения, применяющиеся в настоящее время у пациентов с мутацией T315I и гомозиготной формой мутации *Val/Val* гена *CYP 1A1*, не эффективны. Данная проблема служит основанием для совершенствования молекулярных методов диагностики, а также для разработки принципиально новых молекул, эффективных у BCR-ABL T315I и *Val/Val* гена *CYP 1A1*-положительных больных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Абдукадиров К.М. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и терапии хронического миелолейкоза / К.М.Абдулкадыров, А.О.Абдуллаев, Л.Б.Авдеева и соавт.; под руководством акад. В.Г.Савченко // Вестник гематологии 2013;9(3):4-41.
2. Абдулкадыров К.М. Рекомендации по диагностике и терапии хронического миелолейкоза / К.М.Абдулкадыров, А.Г.Туркина, Н.Д.Хорошко. - СПб., М., 2013;80.
3. Абдулкадыров К.М. Хронический миелолейкоз / К.М.Абдулкадыров, С.С.Бессмельцев, О.А.Рукавидин. - СПб.: Специальная литература, 1998;464.
4. Афанасьев Б.В. Результаты различных видов аллогенных трансплантаций гематопоэтических стволовых клеток у детей и у взрослых / Б.В.Афанасьев // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2011;6(1):11.
5. Афанасьев Б.В. Грануломоноцитопоз при острых лейкозах и бластном кризе (клиничко - лабораторные сопоставления): дис. ... д-ра мед. наук / Афанасьев Б.В. - Л., 1983;28.
6. Афанасьев Б.В. Родоначальные кроветворные клетки человека / Б.В.Афанасьев, В.А.Алмазов. - Л.: Наука, Ленинградское отделение, 1985;91-92.
7. Виноградова О.Ю. Влияние различных хромосомных аномалий в Ph- позитивных клетках костного мозга на течение хронического миелолейкоза при терапии ингибиторами тирозинкиназ / О.Ю.Виноградова, Е.А.Асеева, А.В.Воронцова и соавт. // Онкогематология. 2012;4:24-34.
8. Воробьев А.И. Диагностика и терапия хронического миелолейкоза / А.И.Воробьев, К.М.Абдулкадыров, Н.Д.Хорошко. - М., 2011;53.
9. Вуколов Э.А. Основы статистического анализа. Практикум по статистическим методам и исследованию операций с использованием изд., испр. и доп. /М.: ФОРУМ, 2008;464:511.
10. Горбунова А.В. Прогностическое значение молекулярно-генетических характеристик у больных хроническим миелолейкозом при аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: автореф. дис. ... канд. биол. наук / А.В.Горбунова. - СПб., 2014;12:14-16.
11. Горюнова Е.Н. течение хронического миелолейкоза у пациента с панрезистентной мутацией T315I в фазе акселерации. Всегда ли необходима аллогенная трансплантация костного мозга при мутации T315I? / Е.Н.Горюнова, Е.Г.Ломаи, Ю.А.Алексеева и соавт. // Клиническая онкогематология. Фундаментальное исследование и клиническая практика. 2009;2(1):11-13.

Поступила 20.01.2024