

КЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК: 616.98[578.825-616.155.392]:614.876

І. С. Дягіль, З. В. Мартіна, Н. І. Білоус, Г. В. Плескач,
І. В. Абраменко*, А. А. Чумак

Державна установа “Національний науковий центр радіаційної медицини
Національної академії медичних наук України”,
бул. Мельникова, 53, м. Київ, 04050, Україна

**ПЕРЕБІГ ХРОНІЧНОЇ ЛІМФОЦИТАРНОЇ
ЛЕЙКЕМІЇ ЗАЛЕЖНО ВІД ГЕНОТИПІВ
rs966221 ГЕНА PDE4D**

Клінічні особливості перебігу хронічного лімфолейкозу (ХЛЛ) вивчені у 126 хворих з урахуванням поліморфізму rs966221 гена PDE4D і мутаційного статусу генів варіабельних дільниць важких ланцюгів імуноглобулінів (IGHV). Показано, що у носіїв генотипу ТТ знижена ефективність терапії другої лінії ($p=0,03$), наявна тенденція до більш частого розвитку аутоімунної анемії ($p=0,09$), особливо при немутованому статусі IGHV ($p=0,012$) і цитопенії після проведення хіміотерапевтичного лікування ($p=0,073$). Однак, відмінностей у перебігу ХЛЛ у носіїв генотипу СС, частота якого відрізняється в залежності від радіаційного анамнезу хворих, не виявлено.

Ключові слова: Чорнобильська аварія, хронічна лімфоцитарна лейкемія, іонізуюче випромінення, поліморфізм rs966221 гена PDE4D.

Перебіг хронічної лімфоцитарної лейкемії (ХЛЛ) серед учасників ліквідації наслідків (ЛНА) Чорнобильської аварії має певні особливості, з загальною тенденцією до більш несприятливого прогнозу [1–3]. Одним з пояснень цього феномену можуть бути розбіжності в розподілі поліморфізмів функціонально значущих генів серед хворих на ХЛЛ учасників ЛНА, у порівнянні з хворими без впливу іонізуючого випромінення в анамнезі. Раніше ми виявили значне зменшення генотипу Lys751Lys гена репарації ДНК XPD в групі хворих на ХЛЛ, постраждалих внаслідок Чорнобильської катастрофи, порівняно з контрольною групою осіб без онкологічної та онкогематологічної патології [4]. Серед досліджених імунорегуляторних генів (CD38, ген фосфодіестерази PDE4D)

* Абраменко Ірина Вікторівна, e-mail: nbilous@yahoo.com
© Дягіль І. С., Мартіна З. В., Білоус Н. І., Плескач Г. В., Абраменко І. В., Чумак А. А., 2012

розбіжності серед хворих на ХЛЛ залежно від радіаційного анамнезу виявлені у розподілі генотипів rs966221 PDE4D. Ізоформи фосфодіестерази 4 контролюють внутрішньоклітинний рівень циклічного аденоzin-3',5'-монофосфату (cAMP). Лейкемічні клітини при ХЛЛ В-клітинного походження (В-ХЛЛ), на відміну від Т- і В-лімфоцитів донорів, характеризуються високою чутливістю до розвитку апоптозу, індукованого інгібіторами PDE4. Вірогідними причинами цих розбіжностей вважають відносно низький рівень cAMP та високий рівень експресії проапоптичних білків в клітинах при В-ХЛЛ, а також особливості співвідношення окремих ізоформ PDE [5]. На цій властивості лейкемічних клітин базується застосування в терапії хворих інгібіторів PDE. Перші спроби були зроблені в середині 90-х років минулого століття групою гематологів під керівництвом Binet з використанням найбільш відомих інгібіторів PDE метилксантинів (теофілін) [6]. Виявилось, що додавання теофіліну до стандартної терапії хлорамбуцилом підвищувало частоту розвитку клініко-гематологічних ремісій, збільшувало термін до прогресії захворювання, але не впливало на загальну виживаність хворих [7]. Однак, застосування теофіліну має певні обмеження для пацієнтів, тому пошук нових інгібіторів PDE для терапії хворих на ХЛЛ триває [8, 9].

Розподіл генотипів rs966221 PDE4D та їх асоціація з перебігом ХЛЛ раніше не проводились.

Мета роботи полягала у дослідженні перебігу ХЛЛ залежно від наявності поліморфізму генотипів rs966221 PDE4D.

Обстежені пацієнти і методи дослідження. З метою визначення внеску поліморфізму rs966221 гена PDE4D в перебіг ХЛЛ проводили аналіз наступних параметрів: клінічний статус хворих на момент встановлення діагнозу ХЛЛ, швидкість прогресії захворювання, частота розвитку ускладнень ХЛЛ (інфекційні ускладнення, аутоімунні стани, трансформація в синдром Ріхтера, вторинні пухлини), відповідь на терапію (термін необхідності призначення терапії, її ефективність), загальне виживання.

Обстежено 126 хворих на ХЛЛ В-клітинного походження: 93 чоловіків (73,8%) і 33 жінки (26,2%) у віці від 29 до 86 років на момент діагнозу (медіана 58 років). Основну групу обстежених склали 53 хворих, які відносились до категорії постраждалих внаслідок Чорнобильської катастрофи (44 учасники ЛПА, 4 евакуйованих з м. Прип'ять, 5 мешканців контролюваних територій, забруднених радіонуклідами); 73 хворих не мали впливу іонізуючого опромінення в анамнезі (конт-

рольна група). Стадію захворювання визначали за класифікаціями K. R. Rai et al. [10, 11], J. L. Binet et al. [12] та класифікацією Міжнародної робочої наради з ХЛЛ 1989 р. [13]. Визначення поліморфізму rs966221 гена PDE4D проведено методом полімеразної ланцюгової реакції з наступною рестрикцією продуктів реакції за Saleheen et al. [14]. У 123 пацієнтів був досліджений мутаційний статус генів варіабельних дільниць важких ланцюгів імуноглобулінів (IGHV), як було описано раніше [3]. Показники виживання розраховували від дати встановлення діагнозу ХЛЛ до події (у випадку розрахунку загального виживання за подію вважали смерть пацієнта, у випадку розрахунку виживання без прогресії — прогресію захворювання, при розрахунку терміну необхідності початку лікування — дату початку лікування) за методом Каплан-Майера та порівнювали за критерієм лог-ранк. Статистичну обробку даних проводили у програмі SPSS 13.0 software package (SPSS, США).

Результати та їх обговорення. Основна і контрольна група хворих розрізнялися за розподілом генотипів rs966221 за рахунок більш високої частоти генотипу CC серед хворих, які постраждали внаслідок аварії на ЧАЕС: (основна група: TT — 20,8%, TC — 35,8%, CC — 43,4%; контрольна група: TT — 19,2%, TC — 54,8%, CC — 26%; p=0,041).

Клінічні дані при постановці діагнозу ХЛЛ (стадія захворювання, ініціальний лейкоцитоз, наявність гіперпластичного та інтоксикаційного синдромів) у носіїв різних генотипів rs966221 гена PDE4D не розрізнялись (табл. 1).

Термін необхідності початку терапії (TTT) та її ефективність оцінювали за критеріями Національного інституту раку, США [15], згідно з якими розрізняли повну (ПР) та часткову ремісію (ЧР), стабілізацію (СС) та прогресію захворювання (ПЗ). Достовірних розбіжностей у тривалості ТТТ періоду залежно від носійства окремих генотипів rs966221 гена PDE4D не виявлено: медіана ТТТ становила 34 міс у носіїв генотипу TT, 21 міс — TC, та 15 міс — у носіїв генотипу CC (p=0,866). Не виявлено також впливу генотипів PDE4D на тривалість ТТТ періоду у хворих з мутованими і немутованими IGHV генами (p=0,698), та у хворих, які знаходились на різних стадіях захворювання (p=0,240).

Ефективність терапії та тривалість ремісії при проведенні терапії першої лінії були однаковими у носіїв різних генотипів (табл. 2).

Терапія другої лінії була менш ефективною у носіїв генотипу TT порівняно з носіями інших генотипів. Загальна ефективність (сума ПР та ЧР) становила 18,2% при генотипі TT проти 55% при генотипах TC

Таблиця 1. Клініко-гематологічні дані у хворих на ХЛЛ на момент установлення діагнозу, залежно від генотипів rs966221 гена PDE4D, кількість хворих (%)

| Показники | PDE4D генотип | | | p |
|-----------------------------------|---------------|------------|------------|-------|
| | TT | TC | CC | |
| Стадія за Binet: | | | | |
| A, n=61 | 13 (21,3) | 31 (50,8) | 17 (27,9) | 0,684 |
| B, n=44 | 7 (15,9) | 19 (43,2) | 18 (40,9) | |
| C, n=21 | 5 (23,8) | 9 (42,9) | 7 (33,3) | |
| Стадія за Rai: | | | | |
| 0, n=16 | 5 (31,3) | 7 (43,8) | 4 (25,0) | 0,220 |
| I, n=42 | 9 (21,4) | 22 (52,4) | 11 (26,2) | |
| II, n=47 | 6 (12,8) | 21 (44,7) | 20 (42,6) | |
| III, n=12 | 5 (41,7) | 4 (33,3) | 3 (25,0) | |
| IV, n=9 | 0 (0) | 5 (55,6) | 4 (44,4) | |
| Лейкоцитоз: | | | | |
| >100 Г/л, n=16 | 2 (12,5) | 10 (62,5) | 4 (25,0) | 0,398 |
| <100 Г/л, n=110 | 23 (20,9) | 49 (44,5) | 38 (34,5) | |
| Лейкоцитоз: | | | | |
| >70 Г/л, n=26 | 4 (15,4) | 16 (61,5) | 6 (23,1) | 0,237 |
| <70 Г/л, n=100 | 21 (21,0) | 43 (43,0) | 36 (36,0) | |
| Лейкоцитоз, Г/л, M±m | 38,82±9,22 | 55,05±9,18 | 42,55±7,89 | 0,441 |
| Гіперпластичний синдром ε: | | | | |
| n=16 | 2 (12,5) | 10 (62,5) | 4 (25,0) | 0,398 |
| немає, n=110 | 23 (20,9) | 49 (44,5) | 38 (34,5) | |
| Симптоми іントоксикації: ε: | | | | |
| n=16 | 3 (18,8) | 9 (56,3) | 4 (25,0) | 0,691 |
| немає, n=110 | 22 (20,0) | 50 (45,5) | 38 (34,5) | |
| Середній вік, роки | 56,84±2,15 | 56,96±1,23 | 57,81±1,59 | 0,894 |
| IGHV гени: | | | | |
| мутовані, n=44 | 13 (29,5) | 21 (47,7) | 10 (22,7) | 0,062 |
| немутовані, n=79 | 12 (15,2) | 35 (44,3) | 32 (40,5) | |
| В-клітинні рецептори: | | | | |
| стереотипні, n=54 | 12 (22,2) | 20 (37,0) | 22 (40,7) | 0,232 |
| нестереотипні, n=69 | 13 (18,8) | 36 (52,2) | 20 (29,0) | |

Таблиця 2. Ефективність терапії у хворих на ХЛЛ залежно від генотипу rs966221 гена PDE4D

| Показники | rs966221 гена PDE4D | | | P |
|---|---------------------|-----------|-----------|-------|
| | TT | TC | CC | |
| <i>Відповідь на терапію 1-ї лінії, n=88</i> | | | | |
| — повна ремісія, n (%) | 2 (11,1) | 2 (5,4) | 3 (9,1) | 0,953 |
| — часткова ремісія, n (%) | 4 (22,2) | 11 (29,7) | 9 (27,3) | |
| — стабілізація стану, n (%) | 7 (38,9) | 15 (40,5) | 11 (33,3) | |
| — прогресія та без відповіді, n (%) | 5 (27,8) | 9 (24,3) | 10 (30,3) | |
| Тривалість ремісії, міс | 30 | 26 | 24 | 0,763 |
| <i>Відповідь на терапію 2-ї лінії, n=51</i> | | | | |
| — повна ремісія, n (%) | 0 | 2 (9,1) | 3 (16,7) | 0,344 |
| — часткова ремісія, n (%) | 2 (18,2) | 10 (45,5) | 7 (38,9) | |
| — стабілізація стану, n (%) | 5 (45,5) | 6 (27,3) | 6 (33,3) | |
| — прогресія та без відповіді, n (%) | 4 (36,4) | 4 (18,1) | 2 (11,2) | |
| Тривалість ремісії, міс | 20 | 12 | 14 | 0,869 |

та CC ($p=0,03$). Водночас тривалість досягнутої ремісії при проведенні терапії другої лінії не мала залежності від генотипів rs966221 гена PDE4D. При аналізі з урахуванням мутаційного статусу генів варіабельних дільниць імуноглобулінів виявилось, що виявлені розбіжності в загальній ефективності терапії другої лінії стосувались хворих як з немутованими (UM), так і з мутованими (M) IGHV генами (рис. 1).

Частота розвитку аутоімунної анемії (АІГА) мала тенденцію до збільшення серед хворих на ХЛЛ, носіїв генотипу TT, порівняно з носіями інших генотипів (24% проти 11%, $p=0,09$). При проведенні аналізу окремо серед хворих з UM і M IGHV генами, виявилось, що ця тенденція стосується переважно хворих з UM IGHV генами: частота АІГА становила 41,7% серед носіїв TT генотипу проти 12,1% серед носіїв інших генотипів ($p=0,012$).

Крім того, носії TT генотипу мали тенденцію до більш частого розвитку цитопенії після проведення хіміотерапевтичного лікування (36,4% проти 12,8%, $p=0,073$ у порівнянні з носіями інших генотипів, незалежно від мутаційного статусу IGHV генів). Водночас серед носіїв генотипу TT не розвинулось жодного випадку трансформації у

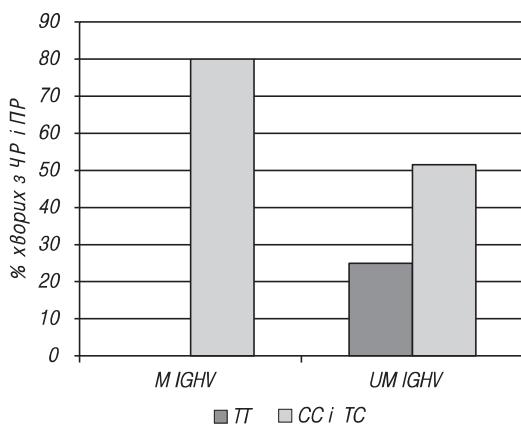


Рис. 1. Частота загальної відповіді на терапію другої лінії у хворих на ХЛЛ, носіїв різних генотипів rs966221 гена PDE4D, залежно від мутаційного статусу IGHV генів

ХЛЛ, а саме: у хворих, носіїв генотипу ТТ, знижена ефективність до терапії другої лінії ($p=0,03$), виявлено тенденція до більш частого розвитку аутоімунної анемії ($p=0,09$), особливо при немутованому статусі генів варіабельних дільниць імуноглобулінів ($p=0,012$), та цитопенії після проведення хіміотерапевтичного лікування ($p=0,073$). Водночас не виявлено розбіжностей клінічного перебігу ХЛЛ серед носіїв генотипу СС, частота якого розрізняється залежно від радіаційного анамнезу хворих.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Comparative analysis of CLL in persons who suffered after Chernobyl accident and in unexposed CLL patients / I. Kryachok, O. Polyshchuk, I. Dyagil [et al.] // 10th Congress of the European Hematology Association. Haematologica. — 2005. — Vol. 90, suppl. 1. — P. 454f.
- Полищук О. Н. Клинико-гематологические особенности и тактика лечения В-клеточной хронической лимфоцитарной лейкемии у участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС 1986–1987 гг. / О. Н. Полищук // Автореф. дисс. на соискание уч. ст. канд. мед. наук. — Киев, 2005. — 20 с.
- Chronic lymphocytic leukemia patients exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl NPP accident — with focus on immunoglobulin heavy chain gene analysis / I. Abramenko, N. Bilous, A. Chumak [et al.] // Leukemia Res. — 2008. — Vol. 32, N 4. — P. 535– 542.
- DNA repair polymorphisms in B-cell chronic lymphocytic leukemia in sufferers of Chernobyl nuclear power plant accident / I. Abramenko, N. Bilous, A. Chumak [et al.] // J. Radiat. Res. — 2012. — Vol. 53, N 3. — P. 497– 503.

синдром Ріхтера ($p=0,101$ у порівнянні з носіями інших генотипів).

Показники загально-го виживання хворих на ХЛЛ та швидкість прогресії захворювання істотно не розрізнялися залежно від генотипів rs966221 гена PDE4D як при самостій-ному аналізі, так і з ураху-ванням мутаційного стату-су генів варіабельних діль-ниць імуноглобулінів.

Висновки

Таким чином, вияв-лена асоціація генотипів rs966221 гена PDE4D з особливостями перебігу

5. Meyers J. A. Chronic lymphocytic leukemia and B and T cells differ in their response to cyclic nucleotide phosphodiesterase inhibitors / J. A. Meyers, D. W. Su, A. Lerner // J. Immun. — 2009. — Vol. 182, N 9. — P. 5400–5411.
6. Theophylline synergizes with chlorambucil in inducing apoptosis of B-chronic lymphocytic leukemia cells / F. Mentz, M. D. Mossalayi, F. Ouaaz [et al.] // Blood. — 1996. — Vol. 88. — P. 2172–2182.
7. Chlorambucil plus theophylline vs chlorambucil alone as a front line therapy for B-cell chronic lymphatic leukemia / M. Mabed, S. Aref, M. Fouda, S. El-Sharawy // Leuk. Lymphoma. — 2004. — Vol. 45, N 10. — P. 2029–2035.
8. Sildenafil and vardenafil, types 5 and 6 phosphodiesterase inhibitors, induce caspase-dependent apoptosis of B-chronic lymphocytic leukemia cells / M. Sarfati, V. Mateo, S. Baudet [et al.] // Blood. — 2003. — Vol. 101, N 1. — P. 265–269.
9. Lerner A. Cyclic nucleotide phosphodiesterases as targets for treatment of haematological malignancies / A. Lerner, P. M. Epstein // Biochem. J. — 2006. — Vol. 393, N 1. — P. 21–41.
10. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia / K. R. Rai, A. Sawitzky, E. P. Cronkite [et al.] // Blood. — 1975. — Vol. 46, N 2. — P. 219–234.
11. Rai K. R. A critical analysis of staging in CLL. Chronic lymphocytic leukemia. Recent progress and future direction / K. R. Rai. — New York : Alan R Liss, 1987. — 253 p.
12. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis / J. L. Binet, A. Auguier, G. Dighiero [et al.] // Cancer. — 1981. — Vol. 48, N 1. — P. 198–205.
13. International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia. Chronic lymphocytic leukemia: recommendations for diagnosis, staging, and response criteria // Ann. Intern. Med. — 1989. — Vol. 110. — P. 236–238.
14. Association of phosphodiesterase 4D gene with ischemic stroke in a Pakistan population / D. Saleheen, S. Bukhari, S. R. Haider [et al.] // Stroke. — 2005. — Vol. 36. — P. 2270–2277.
15. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International workshop on chronic lymphocytic leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines / M. Hallek, B. D. Cheson, D. Catovsky [et al.] // Blood. — 2008. — Vol. 111, N 12. — P. 5446–5456.

Стаття надійшла до редакції 07.08.2012.

І. С. Дягиль, З. В. Мартіна, Н. І. Билоус, Г. В. Плескач,
І. В. Абраменко А. А. Чумак

Государственное учреждение “Национальный научный центр радиационной
медицины Национальной академии медицинских наук Украины”,
ул. Мельникова, 53, г. Киев, 04050, Украина

ТЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПОВ rs966221 ГЕНА PDE4D

Клинические особенности течения хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) изучены у 126 больных с учетом полиморфизма rs966221 гена PDE4D и мутационного статуса генов вариабельных участков тяжелых цепей иммуноглобулинов (IGHV). Показано, что у носителей генотипа ТТ снижена эффективность терапии второй линии ($p=0,03$), есть тенденция до более частого развития аутоиммунной анемии

($p=0,09$), особенно при немутированном статусе IGHV ($p=0,012$) и цитопений после проведения химиотерапевтического лечения ($p=0,073$). Однако, различий в течении ХЛЛ у носителей генотипа СС, частота которого различается в зависимости от радиационного анамнеза больных, не обнаружено.

Ключевые слова: Чернобыльская авария, хронический лимфолейкоз, ионизирующее излучение, полиморфизм rs966221 гена PDE4D.

I.S. Dyagil, Z.V. Martina, N.I. Bilous, G.V. Pleskach,
I.V. Abramenko, A.A. Chumak

State Institution "National Research Center for Radiation Medicine
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine",
Melnykov str., 53, Kyiv, 04050, Ukraine

CLINICAL PECULIARITIES OF CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA DEPEND ON rs966221 PDE4D GENE'S GENOTYPES

Clinical course of chronic lymphocytic leukemia (CLL) depend on rs966221 PDE4D gene's polymorphism and mutational status of variable heavy chain genes (IGHV) was studied in 126 patients. It was found that genotype TT was associated with lower effectiveness of second line therapy ($p=0,03$), more frequent development of autoimmune anemia ($p=0,09$), especially in unmutated IGHV genes ($p=0,012$) and more frequent development of cytopenias after chemotherapy ($p=0,073$). But, the differences in CLL course in carriers of CC genotype, the frequency of which differed depend on radiation anamnesis of patients, were not revealed.

Key words: Chernobyl NPP accident, chronic lymphocytic leukemia, ionizing radiation, rs966221 PDE4D gene's polymorphism.