

Impact of molecular genetic and cytogenetic characteristics on outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in chronic myeloid leukemia

A.V. Gorbunova, T.L. Gindina, E.V. Morozova,
I.M. Barkhatov, N.N. Mamayev, and B.V. Afanasyev

ABSTRACT

Point mutations in the *BCR-ABL* kinase domain, *BCR-ABL* and *EVI1* gene expression alterations, and additional chromosomal aberrations in Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia are strongly associated with resistance to tyrosine kinase inhibitors (TKIs) and disease progression, but their effect on the outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) is uncertain. This retrospective study included 35 CML patients with resistance to TKI therapy who received a related or unrelated HSCT. Additional chromosomal aberrations were associated with the decreased rate of the complete molecular response (CMR) after allo-HSCT. *EVI1* expression level was associated with a decreased disease-free survival (DFS). *BCR-ABL* kinase domain mutations showed no influence on CMR, OS, and DFS in this patient cohort. 9 out of 10 patients with T315I mutation achieved CMR. *EVI1*-directed stratification of patients during the post-transplantation period may improve outcome of HSCT.

Keywords: chronic myeloid leukemia, CML, allogeneic hematopoietic stem cells transplantation, allo-HSCT, *BCR-ABL*, *EVI1*.

R.M. Gorbacheva Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantology, I.P. Pavlov State Medical University 197022, ul. Lva Tolstogo, d. 6/8, St. Petersburg, Russian Federation

A.V. Gorbunova, Biologist, Laboratory of transplantology and molecular hematology
gorbunova@nm.ru

T.L. Gindina, PhD, Head of Laboratory of cytogenetics and genetic disorders

E.V. Morozova, PhD, Assitant professor,
Department of transfusiology and transplantology

I.M. Barkhatov, PhD, Head of Laboratory of transplantology and molecular hematology

N.N. Mamayev, DSci, Professor, Department of hematology, transfusiology, and transplantology

B.V. Afanasyev, DSci, Professor, Director of R.M. Gorbacheva Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantology

Correspondence should be sent to A.V. Gorbunova

197022, ul. Lva Tolstogo, d. 6/8, St. Petersburg, Russian Federation
Tel.: +7 (812) 2338418

Корреспондентский адрес:

А.В. Горбунова
197022, ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Российская Федерация
Тел.: +7 (812) 2338418

Принято в печать: 7 октября 2013 г.

Влияние молекулярно-генетических и цитогенетических факторов на эффективность аллогенной трансплантации костного мозга у больных хроническим миелолейкозом

А.В. Горбунова, Т.Л. Гиндина, Е.В. Морозова,
И.М. Бархатов, Н.Н. Мамаев, Б.В. Афанасьев

РЕФЕРАТ

Известно, что развитие резистентности к терапии ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) у пациентов с хроническим миелолейкозом (ХМЛ) и прогрессирование заболевания связаны с различными молекулярно-биологическими и цитогенетическими факторами, в т. ч. появлением мутаций в киназном домене гена *BCR-ABL*, изменением в характере экспрессии генов *BCR-ABL* и *EVI1*, наличием дополнительных хромосомных нарушений. В данном ретроспективном исследовании оценено влияние этих факторов на эффективность аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) у 35 больных ХМЛ с резистентностью к терапии ИТК. Показано, что наличие дополнительных хромосомных нарушений снижает частоту достижения полного молекулярного ответа после аллоТГСК. В отношении безрецидивной выживаемости неблагоприятным фактором прогноза служит высокий уровень экспрессии гена *EVI1*. Наличие мутаций в киназном домене гена *BCR-ABL*, связанных с резистентностью к ИТК, не оказывало влияния на общую и безрецидивную выживаемость, а также на частоту достижения полного молекулярного ответа в данной группе пациентов. В итоге у 9 из 10 пациентов, имевших мутацию Т315I, был получен полный молекулярный ответ. Дополнительная стратификация пациентов в посттрансплантационный период с учетом молекулярно-генетических особенностей, в частности уровня экспрессии гена *EVI1*, может способствовать повышению эффективности противорецидивной терапии и улучшению результатов аллоТГСК.

Ключевые слова:

хронический миелолейкоз (ХМЛ), аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК), *BCR-ABL*, *EVI1*.

ВВЕДЕНИЕ

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) — эффективный метод терапии хронического миелолейкоза (ХМЛ), позволяющий достичь полный молекулярный ответ у большинства пациентов. До 2000 г. проведение аллоТГСК в качестве первой линии терапии у больных моложе 55 лет и имеющих совме-

стимого донора было стандартной рекомендацией для пациентов с впервые выявленным ХМЛ [1]. Основным недостатком аллоТГСК считается высокий риск посттрансплантационных осложнений. После введения в клиническую практику в 2001 г. первого таргетного препарата — ингибитора тирозинкиназ иматиниба, показавшего высокую эффективность у пациентов в первой хронической фазе ХМЛ, значение ал-

лоТГСК при этом заболевании претерпело существенные изменения. В настоящее время аллоТГСК показана только в случае развития у пациента резистентности или непереносимости ингибиторов тирозинкиназ (ИТК), а также у пациентов с поздними стадиями заболевания [2].

Развитие резистентности к ИТК сопряжено с прогрессированием заболевания, которое может быть обусловлено изменениями многих молекулярно-биологических факторов. Наиболее изученный механизм резистентности — появление в киназном домене химерного гена *BCR-ABL* точечных мутаций, приводящих к снижению аффинности ИТК к белку Bcr-Abl [3]. В частности, мутация T315I связана с резистентностью ко всем применяемым в настоящее время в клинической практике ИТК, за исключением понатиниба, получившего одобрение FDA (Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США) в декабре 2012 г. [4]. Помимо мутаций в гене *BCR-ABL* его амплификацию также часто обнаруживают у резистентных к ИТК пациентов. Были выявлены и другие механизмы развития резистентности, не зависящие от изменений в структуре гена *BCR-ABL*. Одним из *BCR-ABL*-независимых механизмов резистентности считают клоновую эволюцию кариотипа опухолевых клеток, т. е. появление дополнительных к t(9;22) хромосомных нарушений. Как правило, это явление несвойственно пациентам с первой хронической фазой ХМЛ. Однако в фазе акселерации, бластного криза и при развитии резистентности к ИТК дополнительные хромосомные нарушения выявляются у 60–80 % пациентов [5].

Другим важным *BCR-ABL*-независимым механизмом резистентности считается активация альтернативных сигнальных путей, компенсирующих недостаточную киназную активность *BCR-ABL*. Активация альтернативных сигнальных путей может быть следствием появления дополнительных хромосомных нарушений, новых соматических мутаций или же изменений в эпигенетической регуляции опухолевых клеток. В частности, у пациентов с резистентностью к ИТК была описана активация сигнальных путей Jak2/STAT-5 [6], Ras/Raf/MAPK [7] и PI3K/Akt/mTOR [8]. Одним из маркеров активации сигнального пути PI3K/Akt/mTOR служит гиперэкспрессия гена *EVII*, которая у ряда пациентов связана со структурными перестройками хромосомного района 3q26. По последним данным, включая собственные [9, 10], гиперэкспрессия *EVII* может быть обнаружена у пациентов в фазе акселерации, бластного криза, а также при развитии резистентности к ИТК.

Влияние молекулярно-биологических и цитогенетических факторов, связанных с развитием резистентности к ИТК, на исход аллоТГСК у больных ХМЛ до сих пор изучено недостаточно. В связи с этим в данном исследовании проведен анализ уровня экспрессии двух различных транскриптов гена *BCR-ABL*, гена *EVII*, а также мутационного статуса *BCR-ABL* и наличия дополнительных хромосомных нарушений у пациентов с резистентностью к ИТК, оценив их влияние на эффективность аллоТГСК. Кроме того, в работе представлены результаты аллоТГСК у 10 пациентов с мутацией T315I в гене *BCR-ABL*.

в период с 2008 по 2012 г. была проведена аллоТГСК в ИДОГиТ им. Р.М. Горбачевой СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. Все больные в качестве первой линии терапии получали иматиниб. После развития резистентности к иматинибу или его непереносимости 21 (59 %) пациент получил ИТК второго поколения, а 7 пациентов — третьего. Клиническая и лабораторная характеристика больных представлена в табл. 1. В качестве подготовки к трансплантации пациенты получали миелоаблативный режим кондиционирования (бусульфан и циклофосфан) или режимы кондиционирования сниженной интенсивности (бусульфан и флударабин, мелфалан и флударабин). Источником трансплантата были костный мозг и периферические стволовые клетки крови. Профилактику острой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) проводили комбинациями иммуносупрессивных препаратов на основе циклоспорина или такролимуса.

У 28 (80 %) пациентов перед аллоТГСК был определен уровень относительной экспрессии генов *BCR-ABL* (транскрипты p210 и p190) и *EVII*, а также мутационный статус гена *BCR-ABL*. Все исследования были осуществлены на образцах тотальной РНК, выделенных из крови. Уровень относительной экспрессии транскриптов p210 и p190 гена *BCR-ABL* и гена *EVII* был определен методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием *ABL* в качестве контрольного гена. Относительную экспрессию оценивали как соотношение числа транскриптов изучаемого гена к числу транскриптов контрольного гена в процентном выражении. Мутационный статус гена *BCR-ABL* устанавливали с помощью метода прямого секвенирования.

Цитогенетическое исследование было проведено у 27 (77 %) пациентов. Кариотип клеток костного мозга определяли после их краткосрочного культивирования и анализа 20 и более G-окрашенных метафазных пластинок.

Таблица 1. Характеристика больных

| Показатель | |
|--|------------|
| Медиана (диапазон) возраста, лет | 36 (8–58) |
| Пол, n (%) | |
| Мужчины | 24 (71) |
| Женщины | 11 (29) |
| Стадия заболевания, n (%) | |
| Первая хроническая фаза | 11 (29) |
| Вторая хроническая фаза и выше | 12 (35) |
| Фаза акселерации | 8 (24) |
| Бластный криз | 4 (12) |
| Предшествующая терапия, n (%) | |
| Иматиниб | 14 (40) |
| Дазатиниб | 13 (37) |
| Нилотиниб | 7 (20) |
| Босутиниб | 1 (3) |
| Медиана (диапазон) времени от диагноза до аллоТГСК, мес. | 38 (6–100) |
| Донор, n (%) | |
| Родственный | 16 (44) |
| Неродственный | 19 (56) |
| Режим кондиционирования, n (%) | |
| Миелоаблативный | 11 (29) |
| Немиелоаблативный | 24 (71) |
| Профилактика РТПХ, n (%) | |
| Циклоспорин | 20 (57) |
| Такролимус | 14 (40) |

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 35 больных ХМЛ с резистентностью или непереносимостью терапии ИТК, которым

Статистическую обработку данных проводили с помощью программ STATISTICA 10.0 и R. Анализ общей и безрецидивной выживаемости осуществляли по методу Каплана—Мейера, используя лог-ранговый тест для оценки статистической значимости различий. Многофакторный анализ выполняли с помощью метода регрессии Кокса. Для сравнения различий в непрерывных данных использовали непараметрический *U*-тест Манна—Уитни, категориальные переменные оценивали с помощью точного теста Фишера. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования демонстрируют значительное разнообразие молекулярных изменений у больных ХМЛ, резистентных к терапии ИТК.

Экспрессия типичного для ХМЛ транскрипта p210 гена *BCR-ABL* была обнаружена у всех пациентов. Однако уровень экспрессии относительно контрольного гена *ABL* значительно варьировал, медиана составила 98, диапазон — 1–474 копий *BCR-ABL* на 100 копий *ABL*. У половины пациентов была отмечена коэкспрессия химерного транскрипта p190, причем уровень экспрессии p190 был низким (медиана 1,0, диапазон 0,02–12,7), наличие коэкспрессии p190 коррелировало с высоким уровнем экспрессии p210 ($p = 0,008$). Для оценки прогностического значения уровня экспрессии транскрипта p210 *BCR-ABL* при аллоТГСК пациенты были разделены на две группы: группа с высокой экспрессией (выше медианы) и группа с низкой экспрессией (ниже медианы).

При исследовании мутационного статуса гена *BCR-ABL* методом прямого секвенирования у 16 (58 %) пациентов были выявлены различные мутации, в т. ч. у 10 (35 %) человек обнаружена мутация T315I (рис. 1). Наличие данной мутации служит показанием к проведению аллоТГСК. Значимых ассоциаций между частотой мутаций и полом, возрастом пациентов, а также стадией заболевания и предшествующей терапией ИТК второго поколения выявлено не было.

Медиана уровня экспрессии гена *EVII* у больных ХМЛ до проведения аллоТГСК составила 0,38 копий *EVII* на 100 копий *ABL* (диапазон 0,0–38,42), имела

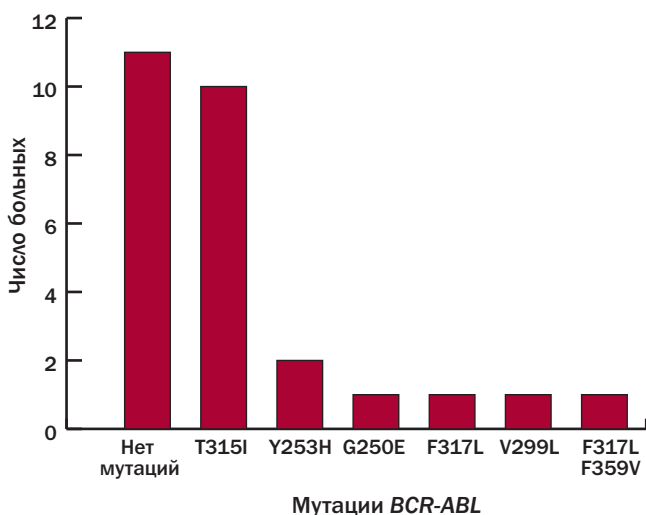


Рис. 1. Частота мутации в киназном домене гена *BCR-ABL* (группа пациентов, включенных в исследование)

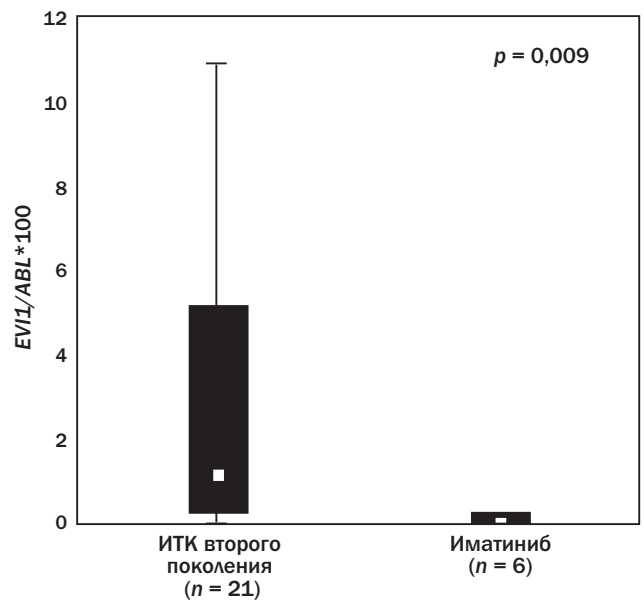


Рис. 2. Взаимосвязь уровня относительной экспрессии гена *EVII* и предшествующей терапии ингибиторами тирозинкиназ у пациентов с резистентным течением хронического миелолейкоза

место тенденция к увеличению уровня экспрессии *EVII* в группе больных с поздними стадиями заболевания по сравнению с группой пациентов, находившихся в первой хронической фазе. Однако эта тенденция не достигала уровня статистической значимости (медиана 0,86 [диапазон 0,00–38,42] vs 0,15 [диапазон 0,03–5,20]; $p = 0,068$). Далее, были обнаружены различия в уровне экспрессии *EVII* в группе пациентов, получавших ИТК второго поколения в качестве второй линии терапии, и группе, получавшей только иматиниб (рис. 2). При этом значимой корреляции уровней экспрессии генов *EVII* и *BCR-ABL* p210 и p190, а также между уровнем экспрессии *EVII* и временем терапии ИТК, полом и возрастом обнаружено не было. Для оценки прогностического значения уровня экспрессии *EVII* при аллоТГСК пациенты были разделены на две группы: группа с высокой экспрессией (выше медианы) и группа с низкой экспрессией (ниже медианы).

Дополнительные хромосомные aberrации были обнаружены у 11 (41 %) пациентов, причем только один из них находился в первой хронической фазе. Значимой связи наличия дополнительных хромосомных нарушений с другими клиническими и молекулярно-биологическими характеристиками в данной группе пациентов обнаружено не было.

После проведения аллоТГСК у 25 (73 %) пациентов достигнут полный молекулярный ответ (ПМО), а у 2 — получен только полный цитогенетический ответ. У 5 пациентов ответа не получено (у 3 из них было зарегистрировано неприживление или отторжение трансплантата). Частота достижения ПМО в зависимости от анализируемых молекулярно-биологических и цитогенетических факторов показана в табл. 2. Представленные результаты свидетельствуют, что наличие в клетках больных дополнительных хромосомных нарушений перед аллоТГСК статистически значимо снижало частоту достижения ПМО ($p = 0,008$). В то же время у подавляющего большинства пациентов, у которых таких нарушений не выявлено, после аллоТГСК удалось достичь ПМО.

Таблица 2. Частота достижения полного молекулярного ответа после аллоТГСК у пациентов с хроническим миелолейкозом в зависимости от молекулярно-биологических и цитогенетических признаков

| Показатель | Полный молекулярный ответ | | | p |
|--|---------------------------|------------------|---------------------|-------|
| | Число больных | Достигнуто n (%) | Не достигнуто n (%) | |
| Уровень экспрессии <i>BCR-ABL</i> p210 | | | | 0,999 |
| Выше медианы | 13 | 9 (34,62) | 4 (15,38) | |
| Ниже медианы | 13 | 10 (38,46) | 3 (11,54) | |
| Экспрессия <i>BCR-ABL</i> p190 | | | | 0,068 |
| Есть | 12 | 6 (26,09) | 6 (26,09) | |
| Нет | 11 | 10 (43,48) | 1 (4,35) | |
| Мутации <i>BCR-ABL</i> , включая Т315I | | | | 0,675 |
| Есть | 16 | 12 (44,44) | 4 (14,81) | |
| Нет | 11 | 7 (25,93) | 4 (14,81) | |
| Мутация Т315I <i>BCR-ABL</i> | | | | 0,189 |
| Есть | 10 | 9 (33,33) | 1 (3,70) | |
| Нет | 17 | 10 (37,04) | 7 (25,93) | |
| Уровень экспрессии <i>EVI1</i> | | | | 0,208 |
| Выше медианы | 14 | 8 (29,63) | 6 (22,22) | |
| Ниже медианы | 13 | 11 (40,74) | 2 (7,41) | |
| Дополнительные хромосомные нарушения | | | | 0,008 |
| Есть | 11 | 5 (18,52) | 6 (22,22) | |
| Нет | 16 | 15 (55,56) | 1 (3,70) | |

Наличие экспрессии транскрипта p190 гена *BCR-ABL* также негативно влияло на достижение ПМО, хотя эта тенденция не достигла уровня статистической значимости ($p = 0,068$).

Посттрансплантационные рецидивы развились у 12 (35 %) пациентов: у 2 — только на молекулярном уровне, у 10 — на цитогенетическом. Всем пациентам с посттрансплантационными рецидивами была проведена инфузия донорских лимфоцитов, а 8 пациентов получили ИТК. В результате у 5 больных был достигнут ПМО, а 5 — умерли на фоне прогрессирования заболевания. Другими причинами летальных исходов были различные посттрансплантационные осложнения: неприживление и отторжение трансплантата ($n = 3$), инфекции ($n = 2$), острая и хроническая РТПХ ($n = 5$). Повторные аллоТГСК выполнены 4 больным.

Анализ влияния молекулярно-биологических и цитогенетических факторов на 3-летнюю общую и безрецидивную выживаемость больных ХМЛ после аллоТГСК представлен в табл. 3. Ни один из факторов не имел статистически значимого влияния на общую выживаемость в изучаемой группе пациентов. Что касается безрецидивной выживаемости, то высокий уровень экспрессии p210 *BCR-ABL* и наличие мутаций в этом гене не имели влияния. В то же время высокий уровень экспрессии *EVI1* был статистически значимо связан с более короткой выживаемостью больных ($p = 0,044$). Кроме того, отмечена тенденция к сокращению выживаемости при наличии экспрессии p190 ($p = 0,079$). Кривые выживаемости пациентов в зависимости от уровня экспрессии гена *EVI1* и наличия мутаций в гене *BCR-ABL* представлены на рис. 3.

Поскольку в нашей группе пациентов из всех известных клинических прогностических факторов, влияющих на исход аллоТГСК при ХМЛ, только поздняя стадия заболевания статистически значимо коррелировала с более короткой безрецидивной выживаемостью ($p = 0,037$), уровень экспрессии гена *EVI1* и стадия заболевания были включены в многофакторный анализ на основе модели пропорциональных рисков Кокса. Результаты анализа, представленные в табл. 4, свидетельствуют о том, что эти факторы имеют независимое прогностическое значение.

Таблица 3. Влияние молекулярно-биологических и цитогенетических факторов на общую и безрецидивную выживаемость при аллоТГСК у больных хроническим миелолейкозом

| Показатель | Число больных | Безрецидивная выживаемость 3-летняя | | Общая выживаемость 3-летняя | |
|--|---------------|-------------------------------------|---|-----------------------------|-------|
| | | % | p | % | p |
| Уровень экспрессии <i>BCR-ABL</i> p210 | | | | 0,558 | 0,953 |
| Выше медианы | 13 | 31 | | 47 | |
| Ниже медианы | 13 | 41 | | 48 | |
| Экспрессия <i>BCR-ABL</i> p190 | | | | 0,079 | 0,388 |
| Есть | 12 | 14 | | 31 | |
| Нет | 11 | 46 | | 55 | |
| Мутации <i>BCR-ABL</i> , включая Т315I | | | | 0,83 | 0,512 |
| Есть | 16 | 33 | | 42 | |
| Нет | 11 | 29 | | 40 | |
| Мутация Т315I <i>BCR-ABL</i> | | | | 0,615 | 0,905 |
| Есть | 10 | 38 | | 48 | |
| Нет | 17 | 27 | | 38 | |
| Уровень экспрессии <i>EVI1</i> | | | | 0,044 | 0,31 |
| Выше медианы | 14 | 10 | | 32 | |
| Ниже медианы | 13 | 52 | | 51 | |
| Дополнительные хромосомные нарушения | | | | 0,118 | 0,185 |
| Есть | 11 | 18 | | 27 | |
| Нет | 16 | 44 | | 56 | |

ОБСУЖДЕНИЕ

Развитие резистентности к ИТК и переход заболевания в фазу акселерации и бластного криза в настоящее время считаются основными показаниями к проведению аллоТГСК при ХМЛ. В то же время с точки зрения биологии лейкозных клеток ХМЛ в фазе акселерации и бластного криза, а также при развитии резистентности к ИТК значительно отличается от заболевания в первой хронической фазе. В первой хронической фазе основным молекулярным механизмом патогенеза заболевания служит образование химерного гена *BCR-ABL*. С клинической точки зрения это проявляется высокой эффективностью таргетных ИТК в этой группе больных. В то же время хорошо известно, что у больных в фазе акселерации и бластного криза с помощью этих препаратов уже не удается достичь длительной стойкой ремиссии. Этот факт свидетельствует о том, что при прогрессировании заболевания главную роль начинают играть *BCR-ABL*-независимые механизмы патогенеза, которые в настоящее время остаются недостаточно изученными.

Известно, что у пациентов в стадии бластного криза помимо транслокации t(9;22) могут иметь место допол-

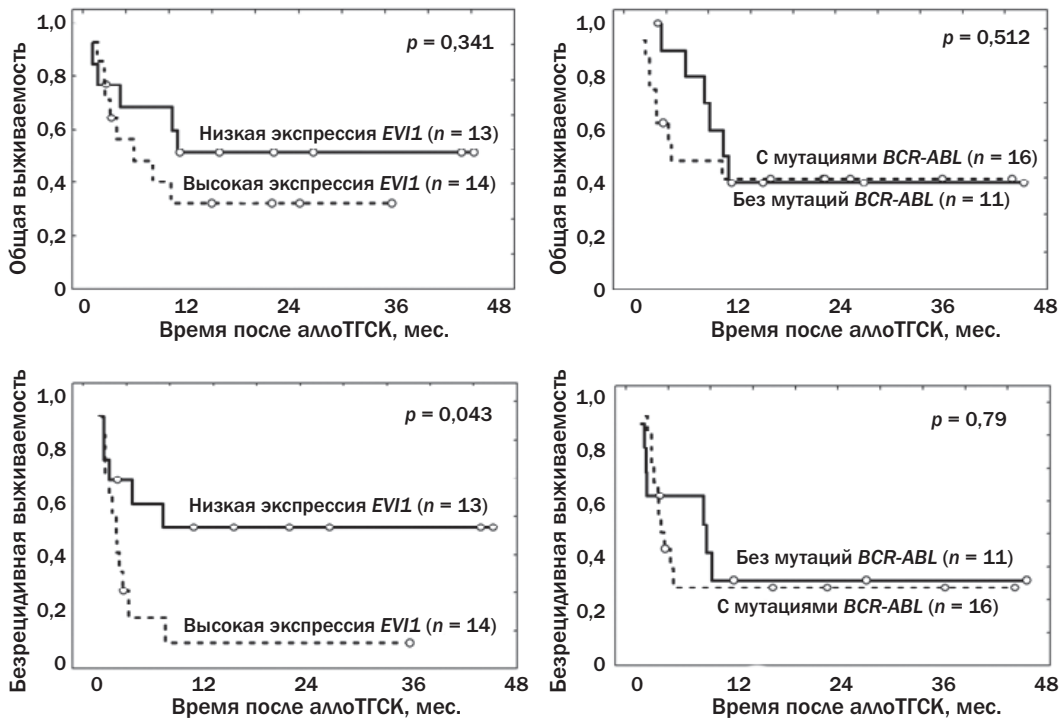


Рис. 3. Общая и безрецидивная 3-летняя выживаемость больных хроническим миелолейкозом после аллоТГСК в зависимости от уровня экспрессии гена *EVI1* (выше или ниже медианы) и наличия мутаций в киназном домене гена *BCR-ABL*

Таблица 4. Результаты многофакторного анализа безрецидивной выживаемости

| Фактор | Отношение рисков | 95% ДИ | p |
|--|------------------|-----------|-------|
| Хроническая фаза заболевания | 0,37 | 0,15–0,94 | 0,037 |
| Высокий уровень экспрессии <i>EVI1</i> | 3,93 | 1,17–13,2 | 0,026 |

95% ДИ — 95%-й доверительный интервал.

нительные хромосомные изменения, крайне редко встречающиеся в хронической фазе ХМЛ, но характерные для острого миелоидного лейкоза (ОМЛ). Среди них — перестройки района 3q26, приводящие к гиперэкспрессии гена *EVI1*. Пациенты с гиперэкспрессией гена *EVI1* относятся к группе высокого риска при ОМЛ [11]. Роль гиперэкспрессии этого гена в развитии резистентности к химиотерапии и ИТК активно изучается в последние годы. В нашем исследовании показано, что высокий уровень экспрессии гена *EVI1* статистически значимо сокращает безрецидивную выживаемость у пациентов с ХМЛ после аллоТГСК. Повышение экспрессии этого гена, в свою очередь, связано с предшествующей терапией ИТК второго поколения. Очевидно, что *EVI1* + ХМЛ представляет собой обособленную по биологическим свойствам опухоли подгруппу пациентов, нуждающихся в более эффективной терапии в посттрансплантационный период. В первую очередь это относится к характеру противорецидивной терапии.

Другая интересная особенность ХМЛ в фазе акселерации и бластного криза — довольно часто обнаруживаемая экспрессия химерного транскрипта p190 гена *BCR-ABL*. Экспрессия этого транскрипта характерна для Ph+ острого лимфобластного лейкоза, при котором ИТК не всегда способны продемонстрировать достаточную эффективность. Уровень экспрессии p190 в нашей группе пациентов был очень низким, что скорее свидетельствует о нарушениях в механизмах, контролируемых альтерна-

тивный сплайсинг, чем о ведущей роли этого транскрипта в патогенезе заболевания. Тем не менее выявленная нами тенденция к снижению частоты достижения ПМО и сокращению безрецидивной выживаемости после аллоТГСК у пациентов с определяемым транскриптом p190 заслуживает внимания и нуждается в дальнейшем изучении в плане понимания дисрегуляции альтернативного сплайсинга, в т. ч. при развитии резистентности к ИТК и переходе заболевания в фазы акселерации и бластного криза.

Что касается уровня экспрессии типичного для ХМЛ транскрипта p210 гена *BCR-ABL*, то несмотря на значительный разброс и выявленную связь с коэкспрессией p190, не было обнаружено влияния этого фактора ни на частоту достижения ПМО, ни на общую и безрецидивную выживаемость пациентов после трансплантации костного мозга.

Появление точечных мутаций в киназном домене гена *BCR-ABL* — хорошо известный механизм развития резистентности к ИТК, их частота повышена у пациентов в стадии акселерации и бластного криза. В то же время в нашем исследовании не было выявлено влияния мутационного статуса гена *BCR-ABL* на исход аллоТГСК. Создается впечатление, что мутации в гене *BCR-ABL*, в т. ч. мутация T315I, не сокращают ни общую, ни безрецидивную выживаемость после аллоТГСК и не снижают частоту достижения ПМО, который в нашей группе был зарегистрирован у 9 из 10 больных с мутацией T315I.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, наши данные подтверждают, что молекулярно-биологические и цитогенетические факторы, связанные с развитием резистентности к ИТК, достаточно разнообразны и по меньшей мере некоторые

из них способны оказывать влияние на эффективность аллоТГСК у пациентов с ХМЛ. Самым важным прогностически неблагоприятным фактором в нашей группе пациентов оказался уровень экспрессии гена *EVII*. Следовательно, дополнительная стратификация пациентов в посттрансплантационном периоде с учетом молекулярно-генетических особенностей, в частности уровня экспрессии гена *EVII*, может способствовать повышению эффективности противорецидивной терапии и улучшению результатов аллоТГСК. Однако эти факты требуют подтверждения в исследованиях с большим числом пациентов, в т. ч. проспективных многоцентровых.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы подтверждают отсутствие скрытых конфликтов интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Oyekunle A., Klyuchnikov E., Ocheni S. et al. Challenges for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in chronic myeloid leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitors. *Acta Haematol.* 2011; 126(1): 30–9.
2. Vaccarani M., Cortes J., Pane F. et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27(35): 6041–51.

3. Soverini S., Hochhaus A., Nicolini F.E. et al. BCR-ABL kinase domain mutation analysis in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors: recommendations from an expert panel on behalf of European LeukemiaNet. *Blood* 2011; 118(5): 1208–15.
4. Cortes J.E., Kantarjian H., Shah N.P. et al. Ponatinib in refractory Philadelphia chromosome-positive leukemias. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367(22): 2075–88.
5. Hochhaus A., Kreil S., Corbin A.S. et al. Molecular and chromosomal mechanisms of resistance to imatinib (STI571) therapy. *Leukemia* 2002; 16: 2190–6.
6. Wang Y., Cai D., Brendel C. et al. Adaptive secretion of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) mediates imatinib and nilotinib resistance in BCR/ABL+ progenitors via JAK-2/STAT-5 pathway activation. *Blood* 2007; 109: 2147–55.
7. Chu S., Holtz M., Gupta M. et al. BCR/ABL kinase inhibition by imatinib mesylate enhances MAP kinase activity in chronic myelogenous leukemia CD34+ cells. *Blood* 2004; 103: 3167–74.
8. Burchert A., Wang Y., Cai D. et al. Compensatory PI3-kinase/Akt/mTOR activation regulates imatinib resistance development. *Leukemia* 2005; 19: 1774–82.
9. Daghistani M., Marin D., Khorashad J.S. et al. EVI-1 oncogene expression predicts survival in chronic-phase CML patients resistant to imatinib treated with second-generation tyrosine kinase inhibitors. *Blood* 2010; 116(26): 6014–7.
10. Мамаев Н.Н., Горбунова А.В., Гиндина Т.Л. и др. Лейкозы и миелодиспластические синдромы с экспрессией гена *EVII*: теоретические и клинические аспекты. *Клин. онкогематол.* 2012; 5(4): 361–4.
Matayev N.N., Gorbunova A.V., Gindina T.L. i dr. Leykozy i miyelodisplasticheskiye sindromy s vysokoy ekspressiyey gena EVII: teoreticheskiye i klinicheskiye aspekty [Leukemias and myelodysplastic syndromes with high EVI1 gene expression: theoretical and clinical aspects. In: Clin. oncohematol.]. Klin. onkogematol. 2012; 5(4): 361–4.
11. Groschel S., Lughart S., Schlenk R.F. et al. High EVI1 expression predicts outcome in younger adult patients with acute myeloid leukemia and is associated with distinct cytogenetic abnormalities. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(12): 2101–7.

