



УДК 616.155.392.8-036.12-097

## АНАЛИЗ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА HLA-DRB1 У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ

**Е.Г. ОВСЯННИКОВА**  
**З.М. ИСРАПИЛОВА**  
**Л.В. ЗАКЛЯКОВА**

*Астраханская  
государственная  
медицинская академия*

*e-mail: agma@astranet.ru*

В статье изложены данные о применении иммуногенетического метода для прогнозирования течения хронического миелолейкоза (ХМЛ). Несмотря на значительные успехи, достигнутые в последнее десятилетие, в лечении больных ХМЛ, остается часть больных, не отвечающих на лечение гливекком. Было изучено распределение аллелей гена HLA-DRB1 у 50 больных ХМЛ. В результате исследования определено, что маркерами благоприятного прогноза хронического миелолейкоза с развитием оптимального ответа на терапию гливекком через 6 месяцев терапии являются специфичности DRB1\*17(03), DRB1\*15(02). Неблагоприятный прогноз течения заболевания маркируется специфичностями DRB1\*11(05), DRB1\*12(05).

Ключевые слова: хронический миелолейкоз, гливек, HLA-DRB1.

Проблема резистентности к лечению гливекком больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) чрезвычайно актуальна. Несмотря на таргетность терапии, у части больных заболевание прогрессирует до бластного криза [5, 6]. Это определяет необходимость поиска дополнительных прогностических критериев.

Иммуногенетические маркеры ранее изучались с помощью определения антигенного профиля HLA I класса. Использование ДНК – типирования с применением ПЦП позволило идентифицировать 1353 HLA-аллелей II класса [7]. Регион D содержит локусы: DR, DQ, DP, DM, DO, DNA. Наибольшим полиморфизмом обладают локусы HLA-B: 2069 аллелей и HLA-DRB: 873 аллелей [7]. Наиболее полиморфным является ген DRB1, который детерминирует специфичности DR1-DR18. Специфичность абсолютного большинства DRB-аллелей связана с полиморфизмом именно DRB1 гена [3]. Расположение молекул HLA класса II, определяющих аллельную специфичность непосредственно в антигенраспознающей области, является одним из основных механизмов, лежащих в основе развития ассоциированных с HLA заболеваний [2].

Особенностью иммуногенетических исследований является то обстоятельство, что данные, полученные в одной этнической группе, но проживающей в другой геногеографической зоне, могут отличаться. Это объясняется чрезмерным полиморфизмом системы HLA, возможностью межрасовых, межэтнических, а также и внутриэтнических различий [3].

В настоящее время иммуногенетическое исследование используется не только для определения предрасположенности к развитию патологии, но и прогнозирования течения и исходов заболеваний [1, 2, 3, 4]. Именно с этих позиций, для реализации одной из задач нашего исследования мы провели изучение аллельного полиморфизма гена DRB1 у больных хроническим миелолейкозом на различных этапах лечения гливекком.

В России вопрос иммуногенетической предрасположенности к ХМЛ в последние годы освещен группой московских ученых, именно в их исследованиях впервые были озвучены некоторые положительные и отрицательные связи продуктов HLA II класса с хроническим миелолейкозом [4].

С применением в иммуногенетической практике полимеразной цепной реакции значительно расширились возможности диагностики и прогнозирования заболеваний, в частности, ХМЛ. Выявление иммуногенетических маркеров предрасположенности или резистентности к ХМЛ чрезвычайно важно и позволит при установлении диагноза выработать наиболее оптимальный, индивидуальный алгоритм ведения больного.



**Цель исследования.** Определить иммуногенетические маркеры прогноза хронического миелолейкоза у больных, получавших лечение гливекком в течение 6 месяцев.

**Материалы и методы.** В исследование включены 50 больных ХМЛ русской национальности, получавших лечение гливекком в течение 6 месяцев. Возраст больных колебался от 23 до 78 лет. Средний возраст составлял 50,3±15,0 лет, соотношение мужчин и женщин в исследовании 1:1. Продолжительность заболевания до начала терапии гливекком была от 0 до 87 месяцев. В качестве контрольных данных были использованы результаты генотипирования 94 доноров – жителей г.Астрахани русской национальности [1].

Все больные имели клинико-морфологическое и цитогенетическое подтверждение диагноза хронического миелолейкоза. Характер ответа на лечение определялся согласно критериям Европейского общества по изучению хронического миелолейкоза European Leukemia Net (ELN-2009) [8].

В процессе работы проводились молекулярно-генетические исследования крови методом ПЦР в реальном времени (количественная оценка экспрессии химерного гена BCR-ABL типа p210), ДНК-типирование с помощью метода ПЦР (определение генов HLA II класса); исследования костного мозга: цитологические (миелограмма), цитохимические, цитогенетические (определение транслокации t(9;22)(q34;q11), молекулярно-цитогенетические (флуоресцентная in situ гибридизация хромосом (FISH) с ДНК зондом к слитному гену BCR- ABL).

Для определения показателя достоверности результатов был использован непараметрический критерий –  $\chi^2$ . Критерий  $\chi^2$  вычислялся по формуле Holdene. Учитывая малый объем выборок, была применена модифицированная формула с поправкой Yates на непрерывность выборки. Значение  $\chi^2$ , превышающее 3,841 (что соответствует  $p < 0,05$ ) рассматривалось как показатель достоверной разницы между частотами в сравниваемых группах. Использовался показатель силы ассоциации – RR (relative risk) – относительный риск, этиологической фракции – EF (для  $RR > 1$ ), превентивной фракции – PF (для  $RR < 1$ ). Величина RR, равная 1, указывает на отсутствие ассоциации.  $RR > 1$  (положительная ассоциация) означает, что ген чаще встречается у больных; если  $RR < 1$ , это указывает на снижение частоты гена у больных.

**Результаты исследования и обсуждение.** С целью поиска ассоциативных связей продуктов генов HLA и риском развития неудачи терапии гливекком нами был проведен анализ аллельного полиморфизма у больных ХМЛ с различным видом ответа на терапию. На первом этапе мы проанализировали ответ на терапию в срок 6 месяцев лечения гливекком (табл. 1).

Таблица 1

**Ассоциации аллелей HLA-DRB1 у больных ХМЛ с оптимальным ответом через 6 месяцев терапии гливекком**

Аллели HLA	Оптимальный ответ n=27		Контроль n=94		$\chi^2$	RR	EF	PF
	N	%	N	%				
DRB1*01	3	11,1	14	14,9	0,66	0,79	-	0,029
DRB1*15(02)	6	22,2	27	28,7	0,84	0,74	-	0,076
DRB1*16(02)	4	14,8	5	5,3	1,54	3,12	0,101	-
DRB1*17(03)	8	29,6	10	10,6	4,57 $p < 0,05$	3,51	0,212	-
DRB1*04	2	7,4	19	20,2	3,37	0,38	-	0,109
DRB1*11(05)	6	22,2	31	32,9	1,71	0,61	-	0,134
DRB1*12(05)	0	0	3	3,2	2,70	0,48	0	0
DRB1*13(06)	6	22,2	36	38,3	3,16	0,48	-	0,208
DRB1*14(06)	0	0	0	0	-	-	-	-
DRB1*07	11	40,7	30	31,9	0,39	1,47	0,131	-
DRB1*08	4	14,8	4	4,3	2,27	3,85	0,110	-
DRB1*09	2	7,4	5	5,3	0,00	1,60	0,028	-
DRB1*10	0	0	3	3,2	2,70	0,48	0	0
DRB1*x	2	7,4	Н/Д	Н/Д	-	-	-	-

Примечание: Н/Д – нет данных



Как видно из табл. 1, статистически значимым было повышение в группе больных ХМЛ с оптимальным ответом через 6 месяцев терапии группы аллелей DRB1\*17(03) по сравнению с контрольной группой (29,6% против 10,6% (RR-3,51, EF-0,212,  $p < 0,05$ ). Затем мы проанализировали распределение генов HLA у больных, не достигших оптимального ответа через 6 месяцев терапии гливекком. В эту группу мы объединили больных с неудачей терапии и субоптимальным ответом на терапию, согласно критериям ELN-2009 (табл.2).

Таблица 2

**Ассоциации аллелей HLA-DRB1 у больных ХМЛ, не достигших оптимального ответа через 6 месяцев терапии гливекком**

Аллели HLA	Неудача терапии n=23		Контроль n=94		$\chi^2$	RR	EF	PF
	n	%	N	%				
DRB1*01	6	26,1	14	14,9	0,94	2,06	0,134	-
DRB1*15(02)	2	8,7	27	28,7	5,12 $p < 0,025$	0,29	-	0,183
DRB1*16(02)	1	4,3	5	5,3	0,51	1,08	0,003	-
DRB1*17(03)	2	8,7	10	10,6	0,43	0,94	-	0,006
DRB1*04	5	21,7	19	20,2	0,02	1,15	0,029	-
DRB1*11(05)	11	47,8	31	32,9	1,18	1,85	0,220	-
DRB1*12(05)	2	8,7	3	3,2	0,35	3,04	0,058	-
DRB1*13(06)	5	21,7	36	38,3	3,01	0,48	-	0,210
DRB1*14(06)	3	13	0	0	7,90 $p < 0,005$	32,3	0,126	-
DRB1*07	6	26,1	30	31,9	0,63	0,79	-	0,072
DRB1*08	0	0	4	4,3	2,71	0,43	0	0
DRB1*09	1	4,3	5	5,3	0,51	1,08	0,003	-
DRB1*10	0	0	3	3,2	2,57	0,56	0	0
DRB1*x	2	8,7	Н/Д	Н/Д	-	-	-	-

Примечание: Н/Д – нет данных

Как представлено в табл. 2, у больных ХМЛ, не достигших оптимального ответа через 6 месяцев терапии гливекком, имеется достоверное повышение по сравнению с контролем частоты HLA-DRB1\*14(06) – 13% против 0% (RR-32,3, EF-0,126,  $p < 0,005$ ) и снижение HLA-DRB1\*15(02) – 8,7% против 28,7% (RR-0,29, PF-0,183,  $p < 0,025$ ). Далее мы сравнили частоту генов в обеих группах (табл.3).

Таблица 3

**Сравнительный анализ генного профиля HLA -DRB1 у больных ХМЛ через 6 месяцев терапии гливекком**

Аллели HLA	Оптимальный ответ n=27		Неудача терапии n=23		$\chi^2$	RR	EF	PF
	n	%	N	%				
DRB1*01	3	11,1	6	26,1	3,04	0,38	-	0,155
DRB1*15(02)	6	22,2	2	8,7	0,83	2,60	0,137	-
DRB1*16(02)	4	14,8	1	4,3	0,57	2,87	0,097	-
DRB1*17(03)	8	29,6	2	8,7	2,22	3,75	0,217	-
DRB1*04	2	7,4	5	21,7	3,48	0,33	-	0,133
DRB1*11(05)	6	22,2	11	47,8	4,86 $p < 0,05$	0,33	-	0,348
DRB1*12(05)	0	0	2	8,7	5,23 $p < 0,025$	0,16	0	0
DRB1*13(06)	6	22,2	5	21,7	0,09	1,02	0,004	-
DRB1*14(06)	0	0	3	13	6,41 $p < 0,025$	0,11	0	0
DRB1*07	11	40,7	6	26,1	0,63	1,88	0,190	-
DRB1*08	4	14,8	0	0	1,96	9,00	0,132	-
DRB1*09	2	7,4	1	4,3	0,02	1,47	0,024	-
DRB1*10	0	0	0	0	-	-	-	-
DRB1*x	2	7,4	2	8,7	0,48	0,84	-	0,014



Из табл. 3 следует, что при сравнительном анализе генного профиля HLA-DRB1 у больных ХМЛ с различным ответом на терапию гливекком через 6 месяцев в группе с оптимальным ответом регистрируется достоверное снижение по сравнению с группой неудачи терапии HLA-DRB1\*11(05) – 22,2% против 47,8% (RR-0,33, PF-0,348,  $p < 0,05$ ), HLA-DRB1\*12(05) – 0% против 8,7% (RR-0,16,  $p < 0,025$ ), HLA-DRB1\*14(06) – 0% против 13% (RR-0,11,  $p < 0,025$ ).

**Выводы.** Маркерами благоприятного прогноза с развитием оптимального ответа на терапию гливекком через 6 месяцев терапии являются специфичности DRB1\*17(03), DRB1\*15(02). Неблагоприятный прогноз маркируется специфичностями DRB1\*11(05), DRB1\*12(05), DRB1\*14(06). Иммуногенетическое исследование может быть использовано в качестве дополнительного метода для прогноза хронического миелолейкоза.

### Литература

1. Иммуногенетические маркеры предрасположенности к лепре у русских жителей Астраханского региона / Л.В. Сароянц, М.Н. Болдырева, И.А. Гуськова и др. // Иммунология. - 2005. - №5. - С.263-267.
2. Попов, Е.А. Иммуногенетические аспекты хронических заболеваний печени (патогенез, клиника, диагностика): автореф. дисс. ... д-ра мед. наук / Е.А. Попов; - Волгоград, 2004. - 42 с.
3. Хаитов, Р.М. Новые представления о функции главного комплекса генов иммунного ответа человека / Р.М. Хаитов, И.И. Дедов, М.Н. Болдырева // Молекулярная медицина. 2006. - № 3. - С. 47-51.
4. Хамаганова, Е.Г. Молекулярные механизмы ассоциаций HLA-системы с резистентностью к развитию хронического миелолейкоза / Е.Г. Хамаганова, Ю.М. Зарецкая // Гематология и трансфузиология. - 2006. - № 1. - С. 12-17.
5. Хронический миелолейкоз – до и после применения иматиниба (часть I) / Е.Г. Ломаиа, Д.В. Моторин, Е.Г. Романова, А.Ю. Зарицкий // Онкогематология. - 2009. - №2. - С.4-16.
6. Эффективность терапии иматиниба мезилатом (Гливекком) в хронической фазе миелолейкоза/ Туркина А.Г., Хорошко Н.Д., Дружкова Г.А. и др. // Терапевтический архив. - 2003. - № 8. - С. 62-67.
7. Available from: [www.ebi.ac.uk/imgt/HLA](http://www.ebi.ac.uk/imgt/HLA)
8. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. / М. Vaccarani [et al.] // J Clin Oncol 2009;27(35):6041–51.

## ANALYSIS OF DISTRIBUTION OF ALLELES OF HLA- DRB1 GENE AT PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

**E.G. OVSYANNIKOVA**  
**Z.M. ISRAPILOVA**  
**L.V. ZAKLYAKOVA**

*Astrakhan State Medical Academy*

*e-mail: agma@astranet.ru*

The article deals with the data on the use of immunogenetic method for prognosis of chronic myeloid leukemia. Despite the considerable progress, made in the last decade, in the treatment of CML patients, there are some patient, who do not respond to Gleevec treatment. The distribution of alleles of HLA- DRB1 gene in 50 CML patients were studied. The study determined that favorable prognosis markers of CML with development of an optimal response to the Gleevec therapy after 6 months of therapy are specificities DRB1 \*11(05), DRB1 \*12(05).

Key words: chronic myeloid leukemia, Gleevec, HLA- DRB1