

УДК 575.1:616-006.441-008.6-099

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА L-myc (T3109G) В ПРОГНОЗИРОВАНИИ РИСКА ТОКСИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ НЕХОДЖКИНСКИХ ЛИМФОМ

© Салах А. А. Абушанаб, С. В. Выдыборец, Н. Г. Горovenko, И. Р. Гартовская, С. П. Кирьяченко, З. И. Россоха

Проанализировали влияние полиморфизма гена L-myc (T3109G) на развитие токсичности у пациентов с неходжкинскими лимфомами. Выявлено ассоциацию генотипов 3109TG и 3109GG с повышением риска развития нефрологической токсичности. Наличие генотипа 3109GG было ассоциировано с потерей массы тела и повышенным количеством лейкоцитов в период манифестации заболевания. Необходимы дальнейшие исследования для разработки лечебно-профилактических мероприятий

Ключевые слова: неходжкинские лимфомы, токсичность химиотерапии, полиморфизм гена L-myc (T3109G)

Aim of research. To define the influence of polymorphic variants of L-myc (T3109G) gene on the risk of development of hematological and non-hematological toxicity at polychemotherapy in patients with the different forms of non-hodgkin's lymphomas.

Methods. Patients with diffuse-macrocellular and microcellular lymphomas underwent 4 courses of polychemotherapy according to the nosologic forms of disease and treatment protocol. The clinical course of disease was assessed paying attention to the toxic effects and response on the therapy. The clinical-laboratory parameters in the period of disease manifestation were analyzed in details. All patients underwent the molecular-genetic examination of polymorphic variants of L-myc (T3109G) gene. Using the statistical analysis was assessed the influence of polymorphic variants of gene on the risk of development of toxic effects and the interconnection with clinic-laboratory parameters..

Results. The studies of the influence of polymorphic variants of L-myc (T3109G) gene on the risk of development of hematological and non-hematological toxicity at PCT at the different forms of NHL proved that the summary frequency of detection of the clinical cases of hematological and non-hematological toxicity did not differ in patients with DMCL and MCL and was not associated with polymorphism of the studied gene. Polymorphism of L-myc (T3109G) gene determined the spread of the tumor process, the risk of development of II-IV stages of disease that were detected more frequently at 3109TG and 3109GG genotypes; and the 3109GG genotype was associated with the loss of body weight and the rise of the number of erythrocytes in the period of disease manifestation before the beginning of PCT courses. The risk of development of nephrological toxicity at chemotherapy in patients with NHL was associated with 3109TG and 3109GG genotypes on L-myc gene. The number of toxic effects and the features of their combination in examined patients were not connected with polymorphism of L-myc (T3109G) gene.

Conclusions. The further studies are needed for elaboration of the therapeutic-preventive arrangements on the decrease of risk of nephrological toxicity in patients with non-hodgkin's lymphomas at polychemotherapy courses

Keywords: non-hodgkin's lymphomas, chemotherapy toxicity, L-myc (T3109G) gene polymorphism

1. Введение

Семейство транскрипционных белков L-myc занимает важное место в регуляции пролиферации и дифференциации клеток [1], первоначально они были найдены в клетках рака легкого, а затем в ряде работ были доказаны их протоонкогенные свойства [2, 3]. В опухолевых клетках выявляют амплифицированные формы данного белка, которые нарушают общие механизмы регуляции, что присуще канцерогенезу [4]. Онкогенный потенциал данного семейства белков связывают в основном с его количественным увеличением, которое сопутствует не только малигнизации, но и метастазированию опухоли, ее агрессивному течению [5]. В последнее время усиленное внимание к данному семейству транскрипционных белков обусловлено появлением возможности разра-

ботки новых классов эффективных противоопухолевых препаратов [5, 6].

Полиморфизм гена L-myc также изучали в контексте оценки агрессивности опухолевых заболеваний и прогноза их течения [1, 3]. С нашей точки зрения данный интерес был вызван тем, что воздействие экспрессии гена, через ряд трансформаций клетки, нарушает в разной степени апоптотические процессы [4]. Ряд авторов считает, что именно восстановление контроля над экспрессией гена L-myc будет успешным шагом в терапии многих опухолей, поскольку большинство опухолевых клеток зависят от его воздействия вследствие метаболического перепрограммирования, нарушения апоптоза и токсического воздействия на организм [5]. Сочетанное токсическое действие опухолевого процесса и прово-

димой цитостатической терапии значимо влияет на индивидуальный прогноз больного [6, 7].

2. Обоснование исследования

Токсические эффекты у больных с неходжкинскими лимфомами (НХЛ) при проведении курсов полихимиотерапии (ПХТ) переменны, часто носят непредсказуемый характер и способствуют ухудшению течения заболевания [8, 9]. Механизмы возникновения токсических эффектов и их клинические проявления хорошо изучены для курсов ПХТ при отдельных онкогематологических заболеваниях. При этом отмечается отсутствие четких прогностических маркеров токсичности [7]. Лечение НХЛ наиболее часто сопровождается клиническими проявлениями гематологической токсичности, особенно у лиц старше 60 лет. В зарубежных руководствах по диагностике и лечению приводят схемы ПХТ с учетом ряда особенностей пациентов, и в первую очередь – возраста. Важное внимание уделяется назначению колониестимулирующего фактора с профилактической целью. В целом схемы ПХТ применяемые при лечении диффузных крупноклеточных лимфом (ДККЛ) и мелких клеточных лимфом (МКЛ) не отличаются высокой токсичностью [10–12].

Токсические эффекты возникают не ранее двух курсов ПХТ, обычно их выявляют в течение первых четырех курсов [13], чаще регистрируют миелосупрессию с нейтропенией, реже – анемию или тромбоцитопению III-IV степени [9]. Нарушения функции печени и почек развиваются у отдельных пациентов с рефрактерными и агрессивными формами лимфом. Применение доксорубина и винкристина в схемах ПХТ может обуславливать гепатологическую токсичность, а циклофосфамид – нефрологическую токсичность [14]. Флюдарабин и бендамустин обладают большей токсичностью, но в тоже время более эффективны. Применение менее токсических препаратов не улучшает эффективность лечения больных с НХЛ [9, 15].

Прогностические маркеры гематологической и негематологической токсичности являются мало изученными. Независимым предиктором миелосупрессии при лечении НХЛ, по данным отдельных авторов [8] являются воспалительные симптомы, которые выявляют не у всех больных. А нарушение апоптоза в опухолевых клетках носит распространенный характер. Метаболическое перепрограммирование опухолевых клеток, с участием мутантных изоформ *L-тус* [5, 6, 16, 17], продуцируемых в зависимости от полиморфизма гена *L-тус*, может стать важным прогностическим маркером.

3. Цель исследования

Определить влияние полиморфных вариантов гена *L-тус* (T3109G) на риск развития гематологической и негематологической токсичности при проведении ПХТ у пациентов с различными формами НХЛ.

4. Материалы и методы исследований

Представленное исследование выполнено в отделении гематологии Киевского областного онкологического диспансера. Коммунального предприятия Киевского Областного Совета «Киевский областной онкологический диспансер». Было обследовано 70 больных с диффузной крупно-клеточной неходжкинской лимфомой (ДККЛ) и 50 больных с хроническим лимфолейкозом/мелкоклеточной лимфомой (МКЛ). Возраст больных с ДККЛ был от 24 до 78 лет, их средний возраст составил $57,85 \pm 14,29$ лет, а возраст больных с МКЛ был от 48 до 78 лет, и средний возраст – $63,66 \pm 9,27$ лет. У больных специализированное лечение включало применение стандартных протоколов R-СНОР, СНОР и их модификаций [12, 18, 19]. Учитывая имеющиеся клинико-лабораторные подходы к определению риска токсических осложнений и редукции планируемой цитостатической терапии определили критерии включения в исследование. Критериями включения в исследование служили – отсутствие ВИЧ-инфицирования, а также предшествующих началу лечения: заболеваний внутренних органов и органной недостаточности (кардиальной, легочной, печеночной и почечной), снижения лейкоцитов, требующих обычно изменения числа и продолжительности курсов полихимиотерапии (ПХТ), особенно для больных старше 60 лет. Критериям включения соответствовали 34 пациента с ДККЛ и 29 пациентов с МКЛ. Всем больным было проведено полное необходимое клинико-лабораторное обследование. Были оценены клинико-лабораторные параметры, которые достоверно у больных с ДККЛ и МКЛ не различались [20]. В течение первых четырех курсов ПХТ у больных проводилась оценка клинико-лабораторных маркеров гематологической и негематологической токсичности, а также проводилось распределение в подгруппы по принципу наличия или полного отсутствия токсических проявлений и/или вида токсических осложнений для проведения статистического анализа. Всем пациентам, включенным в исследование, проводили молекулярно-генетическое тестирование полиморфизма гена *L-тус* (T3109G). Забор периферийной крови проводили в моноветы объемом 2,7 мл с калиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты в качестве антикоагулянта («Sarstedt», Германия). Геномную ДНК для молекулярно-генетического исследования полиморфизма гена *L-тус* (T3109G) выделяли из лейкоцитов периферийной крови при помощи коммерческой тест-системы «ДНК-сорб-В». К цельной крови добавляли лизирующий раствор и сорбент на силикогеле. После лизиса, отмывали образцы растворами для отмывки № 1 и № 2 соответственно инструкции. Для эллюции ДНК с сорбента добавляли ТЕ-буфер. Полученный супернатант, содержащий очищенную ДНК, использовали для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Для определения полиморфизма T3109G (rs3134613) в гене *L-тус* использовали модифици-

рованные протоколы [21] с применением метода ПЦР и последующим анализом полиморфизма длин рестриционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ). Специфичные фрагменты исследуемого полиморфизма амплифицировали с использованием коммерческого набора DreamTaq Green PCR Master Mix (фирмы «Thermo Scientific», США), с соблюдением условий проведения реакции (табл. 1).

Таблица 1
Режимы амплификации фрагментов ДНК

Ген (мутация)	Этап	Температура	Время	Количество циклов
<i>L-мус</i> (T3109G)	Пред-плавление	95 °С	2 мин.	X 30
	Плавление	95 °С	30 с.	
	Отжиг	55 °С	30 с.	
	Синтез	72 °С	30 с.	
	Пролонгация синтеза	72 °С	2 мин.	

Продукты амплификации фрагментов ДНК гена *L-мус* (T3109G) подлежали гидролитическому расщеплению при помощи эндонуклеазы рестрикции (табл. 2).

Таблица 2
Анализ ПДРФ исследуемого полиморфизма

Ген	Полиморфизм	Эндонуклеаза рестрикции	Размер рестриционных фрагментов
<i>L-мус</i>	T3109G	Фермент <i>EcoRI</i>	Генотип TT: 139 и 128 п. н. Генотип TG: 267, 139 и 128 п. н. Генотип GG: 267 п. н.

Состояние рестрикетов в полиморфном локусе T3109G гена *L-мус* после гидролитического расщепления анализировали в 3 % агарозном геле (агароза «Thermo Scientific», США), с добавлением бромистого этидия, маркера молекулярного веса GeneRuler 50 bp DNA Ladder («Thermo Scientific», США) и дальнейшей визуализацией в траниллюминаторе и компьютерной обработкой (рис. 1).

Клинико-лабораторные показатели и результаты генотипирования в анализируемых группах сравнивали с применением методов вариационной статистики и бинарной логистической регрессии (программа SPSS_17.0).

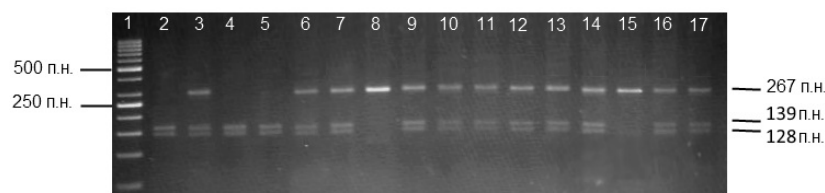


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов рестриционного анализа полиморфизма T3109G гена *L-мус*: 1 – маркер молекулярного веса; образцы: 2,4,5 – генотип TT; образцы: 3, 6,7, 9–14, 16,17 – генотип TG; образцы: 8, 15 –генотип GG

5. Результаты исследований

Большим, соответствующим критериям включения в исследование, были проведены курсы ПХТ в соответствии с нозологическими формами заболевания. В табл. 3 приведены данные по проведенным первым 4 курсам ПХТ у обследованных нами больных.

Таблица 3
Характеристика курсов ПХТ у больных с НХЛ

Курсы ПХТ у больных с НХЛ	ДККЛ (n, %)	МКЛ (n, %)
R-СНОР	16 (47,05)	
СНОР	8 (23,52)	6 (20,68)
R-СНОЕР	1 (2,9)	
СНОЕР	1 (2,9)	
СОР	4 (11,76)	13 (44,82)
Смена курсов ПХТ у больных (всего)	4 (11,76)	8 (27,58)
из них:		
СНОЕР/ R-СНОЕР	1 (2,9)	
СНОР/ R-СНОР	1 (2,9)	
СНОР/ R-СНОЕР	1 (2,9)	
R-СНОР/DSHAP	1 (2,9)	
СОР/СОЕР		1 (3,4)
СНОР/FC		2 (6,89)
СОЕР/СНОР/FC		1 (3,4)
СОЕР/R-DHAP		1 (3,4)
СОР/СНОР		2 (6,89)
СОР/СНОР/СОЕР		1 (3,4)
FC		1 (3,4)
Лейкеран		1 (3,4)
без ритуксимаба первые 2 курса ПХТ	16 (47,05)	
с ритуксимабом первые 2 курса ПХТ	18 (52,95)	
без ритуксимаба первые 4 курса ПХТ	13 (38,23)	
с ритуксимабом первые 4 курса ПХТ	21 (61,76)	

17 пациентам с ДККЛ после установления диагноза были назначены стандартные курсы ПХТ R-СНОР и 12 пациентам курсы СНОР, пяти остальным пациентам, из числа включенных в исследование, были назначены модифицированные протоколы с учетом имеющихся клинических особенностей. У 4 (11,76 %) из 34 обследованных

пациентов с ДККЛ в связи с отсутствием клинического эффекта или прогрессированием заболевания произвели смену проводимых курсов или добавили в схему ПХТ ритуксимаб. Восемь пациентам с МКЛ была назначена схема СНОР, а 17 пациентам – схема СОР, двум пациентам модифицированные протоколы и двум терапия монопрепаратами (флюдарабином и лейкераном). В группе пациентов с МКЛ смена курсов ПХТ была проведена почти у 30 % больных.

По результатам лечения полный ответ был у 28 пациентов из общего числа, частичный ответ – у 15 пациентов, у 18 пациентов отмечали плохой ответ или рецидивирующее течение, а 2 пациента умерло в связи с прогрессией заболевания. В течении первых 4 курсов ПХТ у больных были оценены клинические проявления гематологической и негематологической (печеночной и почечной) токсичности [22]. Наличие указанных токсических эффектов выявили у 42 из 63 (66,7 %) пролеченных больных. Наименьшее число зарегистрированных токсических эффектов было у больных с полным и частичным ответом – 60,71 % и 60 % соответственно. В группе с ДККЛ токсические проявления были зарегистрированы у 24 (70,58 %) из 34 пациентов, а в группе с МКЛ – у 18 (62,06 %) из 29 пациентов. Полученные данные по распространению токсических эффектов при различных вариантах НХЛ достоверно не отличались между собой.

Токсические эффекты чаще были выявлены у больных с неблагоприятным ответом на курсы ПХТ или прогрессирующим течением, их число составило 75 %. Но зарегистрированные данные по наличию токсических эффектов и эффективности проводимых курсов ПХТ у обследованных нами пациентов не выявили достоверной связи между токсичностью и неблагоприятным течением заболевания. В общей группе, обследованных больных с НХЛ, генотипы по гену *L-myc* нами были выявлены со следующей частотой: 3109ТТ – 27 %, 3109ТГ – 54 %, 3109GG – 19 %. Частота распределения полиморфных вариантов гена *L-myc* имела отличия при сравнении частот генотипов в зависимости от варианта НХЛ (табл. 4). У пациентов с ДККЛ частота распространения генотипа 3109ТТ была несколько повышена по сравнению с пациентами с МКЛ, 32,35 % и 20,69 % соответственно.

У пациентов с ДККЛ достоверно была повышена частота распространения генотипа 3109GG (табл. 4) по сравнению с пациентами с МКЛ (29,41 % и 6,90 %, соответственно). Анализируя особенности клинического течения заболевания, мы установили, что у 70 % пациентов с ДККЛ и генотипом 3109GG наблюдали токсические эффекты при проведении, в тоже время ответ (полный или частичный) на проводимую терапию был у 80 % пациентов. Среди больных с МКЛ было 2 пациента с генотипом 3109GG, и у обоих были зарегистрированы токсические эффекты, но получен ответ при проведении ПХТ. Как видно из табл. 4, у больных с МКЛ была достоверно повышена частота распространения генотипа 3109ТГ по сравнению с его частотой у больных с ДККЛ (72,41 % в отличие от 38,24 %). Подобное различие могло быть следствием величины исследованных выборок или клинико-лабораторных особенностей больных. Поэтому нами было проанализированы клинико-лабораторные параметры пациентов в зависимости от генотипов по гену *L-myc* (табл. 5).

Как видно из представленной табл. 5, наиболее часто генотип 3109ТГ выявляли у пациентов с II–IV стадией заболевания НХЛ, то есть при более распространенном процессе, по сравнению с пациентами с генотипом 3109ТТ ($p < 0,05$), у которых преобладали локальные формы заболевания. Также достоверно была повышена частота распространения у пациентов с II–IV стадиями заболевания НХЛ генотипов 3109ТГ+3109GG по сравнению с пациентами с локальными формами, у которых преобладал генотип 3109ТТ ($p < 0,05$).

У пациентов с генотипом 3109GG масса тела была достоверно сниженной ($p < 0,05$) по сравнению с пациентами с генотипами 3109ТГ и 3109ТТ. Было выявлено достоверное увеличение лейкоцитов в периферической крови у пациентов с генотипом 3109GG ($p < 0,05$) по сравнению с пациентами с генотипами 3109ТГ и 3109ТТ (табл. 5). У больных с генотипом 3109GG реже встречался один из токсических эффектов, а чаще выявляли три вида токсических эффектов (табл. 5). Два вида токсических эффектов чаще выявляли при генотипе 3109ТГ, а при генотипе 3109ТТ выявляли в основном одно из токсических проявлений. В табл. 6 приведены результаты влияния изученного полиморфизма на общий риск появления токсических эффектов у больных при проведении ПХТ. Как видно из представленных в таблице частот, достоверных различий выявлено не было.

Таблица 4

Частота распространения полиморфных вариантов гена *L-myc* (Т3109G) в группах сравнения

Ген / Полиморфизм	Генотип	Группы сравнения				Значимость различий			
		Больные с ДККЛ (n=34)		Больные с МКЛ (n=29)		χ^2	p	OR	95 % CI
		n	%	n	%				
L-myc T3109G	TT	11	32,35	6	20,69	0,57	0,45	1,83	0,58–5,79
	TG	13	38,24	21	72,41	4,86	0,036	0,32	0,11–0,89
	GG	10	29,41	2	6,90	5,14	0,028	4,26	1,12–17,9

Таблица 5

Распределение генотипов у пациентов по гену *L-мус* (Т3109G) при различных клинико-лабораторных показателях (n, M±m, %)

Клинико-лабораторные параметры	Генотипы по гену <i>L-мус</i> (Т3109G)		
	3109TT	3109TG	3109GG
Пол			
Мужчины (n=41)	10 (24,39±4,94 %)	21 (51,22±7,15 %)	10 (24,39±4,93 %)
Женщины (n=22)	5 (22,73±4,76 %)	15 (68,18±8,25 %)	2 (9,09±3,01 %)
Возраст, годы	62,28±13,13	60,58±7,69	56,27±13,64
<u>Антропометрические показатели</u>			
Вес, кг	80,00±6,71	77,36±5,12	65,17±3,15
Рост, см	174,53±7,27	174,00±5,34	171,22±7,74
Площадь поверхности тела, м ²	1,96±0,11	1,93±0,16	1,83±0,10
<u>Стадия заболевания</u>			
I (n=4)	2 (50±7,07 %)	1 (25±5,0 %)	1 (25±5,0 %)
II (n=16)	3 (12,50±3,53 %)	8 (50±7,07 %)	5 (31,25±5,59 %)
III (n=15)	4 (26,67±5,16 %)	8 (53,33±7,30 %)	3 (20±4,47 %)
IV (n=28)	6 (21,43±4,62 %)	19 (67,86±8,23 %)	3 (10,71±3,27 %)
Эритроциты, 10 ⁹	3,96±0,70	3,97±0,85	3,98±0,69
Гемоглобин, г/л	115,18±20,60	115,27±40,96	120,31±21,76
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	12,93±13,10	26,15±4,26	32,05±5,6
Лимфоциты, %	37±24,53	38,95±22,41	49,41±28,64
Нейтрофилы, %	51,52±24,73	50,22±22,39	39,00±25,17
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	258,36±159,35	245,80±123,92	238,34±71,64
Глюкоза, мм	4,17±0,90	4,29±0,65	4,63±1,07
Мочевина, г/моль	6,61±1,97	6,94±1,97	7,75±1,41
Креатинин, мкмоль/л	94,74±24,31	86,44±14,50	82,39±9,33
АЛТ ед/л	20,36±10,38	22,05±15,35	25,93±26,13
АСТ ед/л	25,69±10,63	25,54±16,14	23,07±14,68
ЛДГ ед/л	289,20±167,96	286,92±150,29	261,21±102,69
<u>Число токсических эффектов</u>			
Один вид токсичности (n=23)	5 (21,74±4,66 %)	15 (65,21±8,07 %)	3 (13,04±3,61 %)
Два вида токсичности (n=16)	1 (6,25±2,5 %)	10 (62,50±7,9 %)	5 (31,25±5,59 %)
Три вида токсичности (n=3)	1 (3,33±1,82 %)	1 (3,33±1,82 %)	1 (3,33±1,82 %)
<u>Ответ на курсы ПХТ</u>			
Полный (n=28)	5 (17,86±4,22 %)	16 (57,14±7,55 %)	7 (25±5,0 %)
Частичный (n=15)	5 (33,33±5,77 %)	7 (46,67±6,83 %)	3 (20±4,47 %)
Отсутствие (n=20)	0 (0 %)	15 (75±8,66 %)	5 (25±5,0%)

Таблица 6

Частота полиморфных вариантов гена *L-мус* (Т3109G) у больных НХЛ в зависимости от наличия токсических эффектов

Токсические проявления	Генотипы по гену <i>L-мус</i> (Т3109G)					
	TT	P±Sp,%	TG	P±Sp, %	GG	P±Sp, %
Были (n=42)	10	23,81±4,87	24	57,14±7,55	8	19,05±4,36
Отсутствовали (n=21)	8	38,09±6,17	10	47,62±6,90	3	14,28±3,77

У обследованных пациентов с НХЛ выявляли сочетанные токсические проявления при проведении ПХТ (табл. 7). У 23 пациентов (54,76 %) из 42 пациентов с клиническими проявлениями токсичности были выявлены проявления одного из ее видов: у 10 (43,48 %) из 23 пациентов – гематологической токсичности; у 5 (21,17 %) из 23 пациентов – гепатологической токсичности; а у 8 (34,78 %) из 23 пациентов – нефрологической токсичности. 70 % пациентов с гематологической токсичностью, 100 % пациентов с гепатологической токсичностью, 87,5 % с нефрологической токсичностью имели аллель 3109G в

гомозиготном или гетерозиготном состоянии. В табл. 7 приведены результаты сравнительного анализа, построенного по принципу сравнения одного или более двух видов токсичности в сравнении с отсутствием токсических эффектов.

У пациентов с отсутствием токсических проявлений была выявлена наибольшая частота распространения генотипа 3109TT (табл. 7), которая была недостоверно повышена в сравнении с частотой распространения генотипа у пациентов с наличием более двух токсических эффектов при проведении ПХТ ($\chi^2=4,84$, $p=0,057$, $OR=0,19$, 95 % CI (0,03–1,06)).

Далее нами было проанализировано риск развития гематологической и негематологической токсичности у больных с НХЛ (табл. 8) в зависимости от полиморфизма гена *L-мус* (Т3109G).

При проведении генотипирования у больных с гематологической и гепатологической токсичностью наблюдалась отчетливая тенденция к снижению частоты распространения генотипа 3109ТТ, и повышению частоты распространения генотипов 3109ТG и 3109GG по сравнению с пациентами, у которых не было выявлено клинических проявлений токсичности при проведении ПХТ. У больных с нефрологической токсичностью было выявлено достоверное снижение распространения генотипа 3109ТТ (табл. 8) по сравнению с больными без токсических эффектов, а частота распространения генотипов 3109GG и 3109ТG+3109GG по гену *L-мус*, напротив, была достоверно повышена у пациентов с нефрологической токсичностью.

6. Обсуждение результатов исследования

ДККЛ и МКЛ имеют различное гистогенетическое происхождение и иммуноморфологические особенности опухолевого процесса, но курсы и схемы проведения ПХТ при этих частых нозологических формах НХЛ во многом сходны [23, 24].

Рядом экспериментальных исследований было показано, что наличие токсических эффектов ухудшает прогноз, особенно в случае сочетания с высокой агрессивностью опухолевого процесса и преобладанием экспрессии протоонкогенных генов, среди которых в последнее время широко изучают гены семейства *L-мус* [4–7]. Несмотря на растущий интерес к изучению влияния протоонкогенов семейства *L-мус* на процессы онкологической трансформации в лимфоидных клетках и их анализ в экспериментальных работах, распространение полиморфных вариантов гена *L-мус* (Т3109G) у больных с различными формами НХЛ остается плохо охарактеризованным [3, 4].

Нами впервые были охарактеризованы частоты полиморфных вариантов гена *L-мус* (Т3109G) у пациентов с ДККЛ и МКЛ в украинской популяции. Получены данные об ассоциации генотипов 3109GG и 3109ТG+3109GG со склонностью к распространению и генерализации процесса, с быстрым вовлечением в процесс нескольких групп лимфатических узлов и появлением экстранодальных очагов, что более характерно для обследованных нами больных с МКЛ.

Таблица 7

Частота распределения полиморфных вариантов гена *L-мус* (Т3109G) в подгруппах пациентов с учетом числа токсических эффектов

Число токсических проявлений	Генотипы по гену <i>L-мус</i> (Т3109G)					
	ТТ	Р±Sp, %	ТG	Р±Sp, %	GG	Р±Sp, %
один (n=23)	5	21,74±4,66	15	65,22±8,07	3	13,04±3,61
≥ двух (n=19)	2	10,53±3,24	11	57,89±7,61	6	31,58±5,61
Отсутствие (n=21)	8	38,09±6,17	10	47,62±6,90	3	14,29±3,78

Таблица 8

Частота распределения полиморфных вариантов гена *L-мус* (Т3109G) у пациентов с НХЛ в зависимости от вида токсических эффектов

Ген / Полиморфизм	Гено тип	Группы сравнения		Результаты статистического анализа			
		Гематотоксичность была (n=26)	Токсичности не было (n=21)	χ^2	p	OR	95%CI
L-мус Т3109G	ТТ	5 (19,23 %)	8 (38,09 %)	1,23	0,267	0,39	0,10–1,44
	ТG	14 (53,85 %)	10 (47,62 %)	0,02	0,896	1,28	0,41–4,06
	GG	7 (26,92 %)	3 (14,29 %)	0,48	0,488	2,21	0,49–9,89
	ТG+GG	21 (80,7 %)	13 (61,91 %)	2,07	0,56	2,58	0,69–9,62
L-мус Т3109G		Гепатотоксичность была (n=16)	Токсичности не было (n=21)	Результаты статистического анализа			
	ТТ	2 (12,50 %)	8 (38,09 %)	1,86	0,173	0,23	0,04–1,30
	ТG	11 (68,75 %)	10 (47,62 %)	0,90	0,034	2,24	0,62–9,43
	GG	3 (18,75 %)	3 (14,29 %)	0,01	0,932	1,38	0,24–7,98
L-мус Т3109G		Нефротоксичность была (n=22)	Токсичности не было (n=21)	Результаты статистического анализа			
	ТТ	2 (9,09 %)	8 (38,09 %)	5,06	0,043	0,16	0,03–0,89
	ТG	13 (59,09 %)	10 (47,62 %)	3,75	0,591	5,2	0,9–30,08
	GG	7 (31,82 %)	3 (14,29 %)	5,05	0,048	9,33	1,19–72,99
	ТG+GG	20 (91,09 %)	13 (61,91 %)	5,06	0,033	6,154	1,125–33,672

Из предыдущего нашего клинико-лабораторного анализа [20] известно, что у больных с МКЛ наблюдалась тенденция к увеличению показателей лейкоцитов, лимфоцитов и трансаминаз по сравнению с больными с ДККЛ и преобладание генерализованных форм, с более частым вовлечением в патологический процесс костного мозга, печени и селезенки. Данные особенности косвенно свидетельствуют о склонности к генерализации процесса при наличии генотипов 3109TG+3109GG вследствие агрессивного течения опухолевого процесса, который сопровождается накоплением большей опухолевой массы. Известно, что токсические эффекты усиливаются при распаде опухолевой массы [7].

Полученные результаты со всей очевидностью демонстрируют, что возрастающий риск нефрологической токсичности обусловлен не только проводимой терапией, но и агрессивностью, а также массой опухолевой ткани, и как показано в ряде публикаций [7] – увеличением продуктов распада, которые образуют в почках нерастворимые соединения, ухудшающие состояние больного, и возможность проведения дальнейшей химиотерапии. Поэтому пациенты с генотипами 3109TG и 3109GG, особенно при наличии повышенного количества лейкоцитов и сниженной массы тела, нуждаются в лечебно-профилактических мероприятиях, направленных на снижение риска развития нефрологической токсичности.

Наше исследование лимитировано числом обследованных пациентов, что не позволило в полной мере выяснить возможные ассоциации с риском развития гематологической и гепатологической токсичности, и сделать более убедительной ассоциацию с риском развития нефрологической токсичности. Для дальнейших исследований необходимо консолидировать усилия специалистов многих национальных клиник, в связи с не высокой частотой распространения ДККЛ и МКЛ, путем создания национального консорциума.

7. Выводы

Проведенными исследованиями по влиянию полиморфных вариантов гена *L-myc* (Т3109G) на риск развития гематологической и негематологической токсичности при проведении ПХТ при различных формах НХЛ установлено, что суммарная частота выявления клинических случаев гематологической и негематологической токсичности не различалась у больных с ДККЛ и МКЛ, и не была ассоциирована с полиморфизмом исследованного гена. Полиморфизм гена *L-myc* (Т3109G) определял распространение опухолевого процесса, риск развития II–IV стадии заболевания у пациентов, которые чаще были выявлены при генотипах 3109TG и 3109GG; а наличие генотипа 3109GG было ассоциировано с потерей массы тела и повышением количества лейкоцитов в период манифестации заболевания, перед началом проведения курсов ПХТ. Риск развития нефрологической токсичности при проведении курсов полихимиотерапии у больных с НХЛ был ассоциирован с

генотипами 3109TG и 3109GG по гену *L-myc*. Число токсических эффектов и особенности их сочетания у обследованных пациентов не было связано с полиморфизмом гена *L-myc* (Т3109G).

Таким образом, необходимы дальнейшие исследования с целью разработки лечебно-профилактических мероприятий по снижению риска нефрологической токсичности у больных с НХЛ при проведении курсов полихимиотерапии.

Литература

1. Tansey, W. P. Mammalian MYC Proteins and Cancer [Text] / W. P. Tansey // New Journal of Science. – 2014. – Vol. 2014. – P. 1–27. doi: 10.1155/2014/757534
2. DePinho, R. A. The human myc gene family: structure and activity of L-myc and an L-myc pseudogene [Text] / R. A. DePinho, K. S. Hatton, A. Tesfaye, G. D. Yancopoulos, F. W. Alt // Genes & Development. – 1987. – Vol. 1, Issue 10. – P. 1311–1326. doi: 10.1101/gad.1.10.1311
3. Spinola, M. Meta-Analysis Suggests Association of L-myc EcoRI Polymorphism with Cancer Prognosis [Text] / M. Spinola // Clinical Cancer Research. – 2004. – Vol. 10, Issue 14. – P. 4769–4775. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-04-0055
4. Wasylishen, A. R. New model systems provide insights into Myc-induced transformation [Text] / A. R. Wasylishen, A. Stojanova, S. Oliveri, A. C. Rust, A. D. Schimmer, L. Z. Penn // Oncogene. – 2011. – Vol. 30, Issue 34. – P. 3727–3734. doi: 10.1038/onc.2011.88
5. Dang, C. V. Therapeutic Targeting of Myc-Reprogrammed Cancer Cell Metabolism [Text] / C. V. Dang // Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. – 2011. – Vol. 76, Issue 0. – P. 369–374. doi: 10.1101/sqb.2011.76.011296
6. Wiese, K. The Role of MIZ-1 in MYC-Dependent Tumorigenesis [Text] / K. E. Wiese, S. Walz, B. von Eyss, E. Wolf, D. Athineos, O. Sansom, M. Eilers // Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. – 2013. – Vol. 3, Issue 12. – P. a014290–a014290. doi: 10.1101/cshperspect.a014290
7. Cherenkov, V. T. Vozmojnosti «REMAKSOLA» dlya profilaktiki toksicheskikh gepatitov pri onkologicheskikh bolnyih [Text] / V. T. Cherenkov, A. B. Petrov, T. M. Vasileva, M. M. Strojnikov // Voprosy onkologii. – 2013. – Vol. 59, Issue 3. – P. 12–18. – Available at: <http://medi.ru/doc/a210421.htm>
8. Sharma, R. Inflammatory (B) symptoms are independent predictors of myelosuppression from chemotherapy in Non-Hodgkin Lymphoma (NHL) patients – analysis of data from a British National Lymphoma Investigation phase III trial comparing CHOP to PMitCEBO [Text] / R. Sharma, D. Cunningham, P. Smith, G. Robertson, O. Dent, S. J. Clarke // BMC Cancer – 2009. – Vol. 9, Issue 1. – P. 153. doi: 10.1186/1471-2407-9-153
9. Xu, X. Fludarabine-based versus CHOP-like regimens with or without rituximab in patients with previously untreated indolent lymphoma: a retrospective analysis of safety and efficacy [Text] / X. Xu, Y. Zhang, Z. Wang, X. Wu, Y. Yu, B. Yan // OncoTargets and Therapy. – 2013. – P. 1385. doi: 10.2147/ott.s47764
10. Dotan, E. Impact of Rituximab (Rituxan) on the Treatment of B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma [Text] / E. Dotan, C. Aggarwal, M. Smith // PT. – 2010. – Vol. 35, Issue 3. – P. 148–157.

11. Rossini, F. Long-Term Follow-Up of Patients with Intermediate or High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Treated with a Combination of Cyclophosphamide, Epirubicin, Vincristine, and Prednisone [Text] / F. Rossini, E. Terruzzi, D. Perego, I. Miccolis, F. Rivolta, E. Manca, E. M. Pogliani // *Cancer*. – 2004. – Vol. 100, Issue 2. – P. 350–355. doi: 10.1002/cncr.11907

12. Bichakjian, C. K. NCCN Clinical Practice Guidelines in oncology [Text] / C. K. Bichakjian, T. Olencki, S. Z. Aasi, M. Alam // *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. – 2016. – Vol. 14, Issue 5. – P. 574–597.

13. Wunderlich, A. Practicability and acute hematological toxicity of 2- and 3-weekly CHOP and CHOEP chemotherapy for aggressive non-Hodgkin's lymphoma: results from the NHL-B trial of the German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group (DSHNHL) [Text] / A. Wunderlich // *Annals of Oncology*. – 2003. – Vol. 14, Issue 6. – P. 881–893. doi: 10.1093/annonc/mdg249

14. McCloskey, J. K. Safe and Effective Treatment of Aggressive Non-Hodgkin Lymphoma With Rituximab and Bendamustine in Patients With Severe Liver Impairment [Text] / J. K. McCloskey, C. M. Broome, B. D. Cheson // *Clinical Advances Hematology Oncology*. – 2013. – Vol. 11, Issue 3. – P. 184–189.

15. Nastoupil, L. J. Management Strategies for Elderly Patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma [Text] / L. J. Nastoupil, R. Sinha, C. R. Flowers // *Oncology & Hematology Review (US)*. – 2012. – Vol. 08, Issue 01. – P. 71. doi: 10.17925/ohr.2012.08.1.71

16. Overdeest, J. Utilizing the molecular gateway: the path to personalized cancer management [Text] / J. B. Overdeest, D. Theodorescu, J. K. Lee // *Clinical Chemistry*. – 2009. – Vol. 55, Issue 4. – P. 684–697. doi: 10.1373/clinchem.2008.118554

17. Human Gene Data Base [Electronic resource]. – Available at: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MYCL>

18. Tilly, H. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up [Text] / H. Tilly, U. Vitolo, J. Walewski, M. G. da Silva, O. Shpilberg, M. Andre et. al // *Annals of Oncology*. – 2012. – Vol. 23. – P. vii78–vii82. doi: 10.1093/annonc/mds273

19. Stewart, D. Non-Hodgkin lymphoma [Text] / D. Stewart // *Landmarks*. – 2013. – Vol. 12, Issue 1. – P. 43–45.

20. Абушанаб, С. Влияние генетических факторов на развитие клинических проявлений токсичности у больных неходжкинскими лимфомами [Текст] / С. Абушанаб, С. В. Выдыборец, Н. Г. Горовенко, И. Р. Гортовская, С. П. Кирьяченко, З. И. Россоха // *Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа*. – 2015. – № 3. – С. 48–61.

21. Yaylim-Eraltan, I. L-myc gene polymorphism and risk of thyroid cancer [Text] / I. Yaylim-Eraltan, N. Bozkurt, A. Ergen, U. Zeybek et. al // *Experimental Oncology*. – 2008. – Vol. 30, Issue 2. – P. 117–120.

22. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) [Electronic resource]. – Available at: <https://www.eortc.be/services/doc/ctc>

23. Алексеева, Ю. А. Современная терапия неходжкинских лимфом [Текст] / Ю. А. Алексеева // *Фарматека*. – 2013. – № 8. – С. 23–29.

24. Джалилов, А. Ф. Неходжкинские лимфомы: основы классификации и иммуноцитохимической диагностики [Текст] / А. Ф. Джалилов // *Онкология*. – 2013. – Т. 15, № 4. – С. 264–272.

References

1. Tansey, W. P. (2014). Mammalian MYC Proteins and Cancer. *New Journal of Science*, 2014, 1–27. doi: 10.1155/2014/757534

2. DePinho, R. A., Hatton, K. S., Tesfaye, A., Yancopoulos, G. D., Alt, F. W. (1987). The human myc gene family: structure and activity of L-myc and an L-myc pseudogene. *Genes & Development*, 1 (10), 1311–1326. doi: 10.1101/gad.1.10.1311

3. Spinola, M. (2004). Meta-Analysis Suggests Association of L-myc EcoRI Polymorphism with Cancer Prognosis. *Clinical Cancer Research*, 10 (14), 4769–4775. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-04-0055

4. Wasylishen, A. R., Stojanova, A., Oliveri, S., Rust, A. C., Schimmer, A. D., Penn, L. Z. (2011). New model systems provide insights into Myc-induced transformation. *Oncogene*, 30 (34), 3727–3734. doi: 10.1038/onc.2011.88

5. Dang, C. V. (2011). Therapeutic Targeting of Myc-Reprogrammed Cancer Cell Metabolism. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 76 (0), 369–374. doi: 10.1101/sqb.2011.76.011296

6. Wiese, K. E., Walz, S., von Eyss, B., Wolf, E., Athineos, D., Sansom, O., Eilers, M. (2013). The Role of MIZ-1 in MYC-Dependent Tumorigenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 3 (12), a014290–a014290. doi: 10.1101/cshperspect.a014290

7. Cherenkov, V. T., Petrov, A. B., Vasileva, T. M., Stozhenkov, M. M. (2013). Vozmozhnosti «REMAKSOLA» dlya profilaktiki toksicheskikh gepatitov pri himioterapii onkologicheskikh bolnyih [Features “remaxol” for the prevention of toxic hepatitis during chemotherapy cancer patients]. *Voprosyi onkologii*, 59 (3). Available at: <http://medi.ru/doc/a210421.htm> [in Russia]

8. Sharma, R., Cunningham, D., Smith, P., Robertson, G., Dent, O., Clarke, S. J. (2009). Inflammatory (B) symptoms are independent predictors of myelosuppression from chemotherapy in Non-Hodgkin Lymphoma (NHL) patients – analysis of data from a British National Lymphoma Investigation phase III trial comparing CHOP to PMitCEBO. *BMC Cancer*, 9 (1), 153. doi: 10.1186/1471-2407-9-153

9. Xu, X., Zhang, Y., Wang, Z., Wu, X., Yu, Y., Yan, B. (2013). Fludarabine-based versus CHOP-like regimens with or without rituximab in patients with previously untreated indolent lymphoma: a retrospective analysis of safety and efficacy. *Oncotargets and Therapy*, 1385. doi: 10.2147/ott.s47764

10. Dotan, E., Aggarwal, C., Smith, M. (2010). Impact of Rituximab (Rituxan) on the Treatment of B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma. *PT*, 35 (3), 148–157.

11. Rossini, F., Terruzzi, E., Perego, D., Miccolis, I., Rivolta, F., Manca, E., Pogliani, E. M. (2004). Long-term follow-up of patients with intermediate or high-grade non-Hodgkin lymphoma treated with a combination of cyclophosphamide, epirubicin, vincristine, and prednisone. *Cancer*, 100 (2), 350–355. doi: 10.1002/cncr.11907

12. Bichakjian, C. K., Olencki, T., Aasi, S. Z., Alam, M. (2016). NCCN Clinical Practice Guidelines in oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 14 (5), 574–597.

13. Wunderlich, A. (2003). Practicability and acute hematological toxicity of 2- and 3-weekly CHOP and CHOEP chemotherapy for aggressive non-Hodgkin's lymphoma: results from the NHL-B trial of the German High-Grade Non-Hod-

gkin's Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Annals of Oncology*, 14 (6), 881–893. doi: 10.1093/annonc/mdg249

14. McCloskey, J. K., Broome, C. M., Cheson, B. D. (2013). Safe and Effective Treatment of Aggressive Non-Hodgkin Lymphoma With Rituximab and Bendamustine in Patients With Severe Liver Impairment. *Clinical Advances Hematology Oncology*, 11 (3), 184–189.

15. Nastoupil, L. J., Sinha, R., Flowers, C. R. (2012). Management Strategies for Elderly Patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Oncology & Hematology Review (US)*, 08 (01), 71. doi: 10.17925/ohr.2012.08.1.71

16. Overdeest, J. B., Theodorescu, D., Lee, J. K. (2009). Utilizing the Molecular Gateway: The Path to Personalized Cancer Management. *Clinical Chemistry*, 55 (4), 684–697. doi: 10.1373/clinchem.2008.118554

17. Human Gene Data Base. Available at: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MYCL>

18. Tilly, H., Vitolo, U., Walewski, J., da Silva, M. G., Shpilberg, O., Andre, M. et. al (2012). Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, 23, vii78–vii82. doi: 10.1093/annonc/mds273

19. Stewart, D. (2013). Non-Hodgkin lymphoma. *Landmarks*, 12 (1), 43–45.

20. Abushanab, S., Vydyborec, S. V., Gorovenko, N. G., Gartovskaya, I. P., Kyriachenko, S. P., Rossokha, Z. I. (2015). Vliyaniye geneticheskikh faktorov na razvitie razlichnykh klinicheskikh proyavleniy toksichnosti u bol'nykh nehodzhkinskimi limfomami. [Influence of genetic factors on the development of different clinical manifestations of toxicity in patients with non-Hodgkin's lymphomas]. *Hematology Transfusiology. Eastern Europe*, 3, 48–61.

21. Yaylim-Eraltan, I., Bozkurt, N., Ergen, A., Zeybek, U. et. al (2008). L-myc gene polymorphism and risk of thyroid cancer. *Experimental Oncology*, 30 (2), 117–120.

22. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE). Available at: <https://www.eortc.be/services/doc/ctc>

23. Alekseeva, Yu. A. (2013). Sovremennaya terapiya nehodzhkinskikh limfom [Modern therapy Non-Hodgkin Lymphoma]. *Farmateka*, 8, 23–29.

24. Dzhaliylov, A. F. (2013). Nehodzhkinskie limfomy: osnovyi klassifikatsii i osnovyi klassifikatsii i immunotsitohimicheskoy diagnostiki [Non-Hodgkin's lymphoma: a basis of classification and the basis of classification and immunocytochemical diagnosis]. *Onkologiya*, 15 (4), 264–272.

Дата надходження рукопису 12.04.2016

Абушанаб Салах А. А., аспирант, кафедра гематології і трансфузіології, Національна медична академія післядипломного освіти ім. П. Л. Шупика, ул. Дорогожицька 9, г. Київ, Україна, 04112
E-mail: abushanabsalah71@gmail.com

Выдыборец Станислав Владимирович, доктор медических наук, професор, кафедра гематології і трансфузіології, Національна медична академія післядипломного освіти імені П. Л. Шупика, ул. Дорогожицька 9, г. Київ, Україна, 04112
E-mail: vydyborets@i.ua

Горovenko Наталия Григорьевна, доктор медических наук, професор, член-корреспондент НАМН України, кафедра медическої і лабораторної генетики, Національна медична академія післядипломного освіти імені П. Л. Шупика, ул. Дорогожицька 9, г. Київ, Україна, 04112
E-mail: medgen2010@ukr.net

Гартовская Ирина Радомировна, кандидат медических наук, доцент, кафедра гематології і трансфузіології, Національної медическої академії післядипломного освіти імені П. Л. Шупика, ул. Дорогожицька 9, г. Київ, Україна, 04112
E-mail: gartovska@ukr.net

Кирьяченко Светлана Петровна, кандидат біологічних наук, Центральна науково-дослідницька лабораторія, Національна медична академія післядипломного освіти імені П. Л. Шупика, ул. Дорогожицька 9, г. Київ, Україна, 04112
E-mail: genetic2007@ukr.ru

Россиха Зоя Ивановна, кандидат медических наук, ГУ «Референс-центр по молекулярній діагностиці МЗ України», ул. Дорогожицька 9, г. Київ, Україна, 04112
E-mail: rossokhazoya@mail.ru