

УДК 616.158.392:616-01.28-085:577.21

І. В. Дмитренко✉, В. Г. Федоренко, Т. Ю. Шляхтиченко, В. В. Шолойко, Т. Ф. Любарець,
Т. В. Малінкіна, О. О. Дмитренко, В. В. Балан, С. М. Кравченко, З. В. Мартіна,
А. О. Товстоган, Ж. М. Мінченко, І. С. Дягіль

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

ЕФЕКТИВНІСТЬ ТЕРАПІЇ ІНГІБІТОРАМИ ТИРОЗИНКІНАЗ ПАЦІЄНТІВ З ХРОНІЧНОЮ МІЄЛОЇДНОЮ ЛЕЙКЕМІЄЮ, ЯКІ ЗАЗНАЛИ ВПЛИВУ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ ВНАСЛІДОК АВАРІЇ НА ЧОРНОБИЛЬСЬКІЙ АЕС

Мета. Вивчити ефективність терапії інгібіторами тирозинкіназ (ІТК) пацієнтів з хронічною мієлоїдною лейкемією (ХМЛ), які зазнали дії іонізуючого випромінювання внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС, на підставі даних цитогенетичного і молекулярного моніторингу.

Матеріали і методи. Обстежено 29 хворих на ХМЛ, у яких було документально підтверджено наявність радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС. З них 20 пацієнтів отримували терапію імаїнібом. Групу порівняння склали 103 пацієнти з ХМЛ без радіаційного анамнезу, які отримували терапію ІТК. Досліджували цитогенетичні та молекулярно-генетичні порушення в дебюті захворювання та на різних етапах терапії ІТК.

Результати. У пацієнтів з ХМЛ, що зазнали впливу іонізуючого опромінення, в дебюті захворювання не було виявлено збільшення частоти появи додаткових хромосомних порушень та особливостей розподілу за типами BCR/ABL транскриптів. Повну цитогенетичну відповідь (ПЦВ) реєстрували у 50 та 48,5 % пацієнтів в групі спостереження та контрольній групі, відповідно. Велику молекулярну відповідь (ВМВ) визначали у 20 % хворих на ХМЛ, які мали в анамнезі радіаційне опромінення і у 27,6 % випадків пацієнтів групи порівняння. Найкращі результати досягнення ПЦВ і ВМВ виявлені у пацієнтів з терміном передлікованості до 6 міс, у яких імаїніб використовувався як терапія першої лінії. У пацієнтів з ХМЛ (опромінених і неопромінених), яким імаїніб було призначено не пізніше 6 міс від початку захворювання, виявлено вірогідно меншу кількість випадків первинної резистентності до імаїнібу. У пацієнтів з ХМЛ, які в анамнезі мали радіаційний вплив, вторинна резистентність розвивалася частіше порівняно з групою порівняння і становила 25 %.

Висновки. Клініко-лабораторний моніторинг з урахуванням частоти досягнення ПЦВ і ВМВ показав високу ефективність ІТК в лікуванні хворих на ХМЛ, які зазнали впливу іонізуючого випромінювання внаслідок аварії на ЧАЕС. Подовження строку передлікованості призводить до зниження ефективності терапії ІТК та підвищення ймовірності розвитку первинної резистентності. Пацієнти з ХМЛ, які в анамнезі мають радіаційний вплив, характеризуються більш частим розвитком вторинної резистентності.

Ключові слова: хронічна мієлоїдна лейкемія, іонізуюче випромінювання, інгібітори тирозинкінази, цитогенетична та молекулярна відповідь, ефективність лікування.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2014. Вип. 19. С. 241–255.

I. V. Dmytrenko✉, V. G. Fedorenko, T. Y. Shlyakhtychenko, V. V. Sholoyko, T. F. Lyubarets, T. V. Malinkina, O. O. Dmytrenko, V. V. Balan, S. M. Kravchenko, Z. V. Martina, A. O. Tovstogan, J. M. Minchenko, I. S. Dyagil

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

The efficiency of tyrosine kinase inhibitor therapy in patients with chronic myeloid leukemia exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl nuclear power plant accident

Objective. To study the efficiency of tyrosine kinase inhibitors (TKI) therapy in patients with chronic myeloid leukemia (CML) exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl NPP accident, based on the data of cytogenetic and molecular monitoring.

Material and methods. 29 CML patients with confirmed radiation exposure due to Chernobyl NPP accident were examined. Of these, 20 patients were treated with imatinib; 103 patients with CML without radiation history treated with TKI were a comparison group. Cytogenetic and molecular genetic disturbances before and on the different stage of TKI therapy were analysed.

Results. Additional chromosomal abnormalities as well as special pattern of BCR/ABL transcripts were not revealed in CML patients exposed to ionizing radiation. Complete cytogenetic response (CCR) was shown in 50 and 48.5 % of patients from study and comparison group, respectively. Major molecular response (MMR) was achieved in 20 % of patients with radiation exposure in anamnesis and in 27.6 % of patients from comparison group. The vast majority of CCR and MMR was reached in patients with the pretreatment term up to 6 months, when imatinib was used as a first line therapy. There were less cases of primary imatinib resistance in the same group of patients. In CML patients who had a history of radiation exposure, secondary resistance developed more frequently than in the comparison group and was 25 %.

Conclusion. Laboratory monitoring based on the registration of CCR and MMR demonstrated high efficiency of TKI in the CML treatment of patients, exposed due to Chernobyl accident. Extension of pretreatment term leads to the loss of TKI therapy efficiency and increases the likelihood of primary resistance. CML patients exposed to ionizing radiation develop secondary resistance more often than CML patients without radiation exposure in anamnesis.

Key words: chronic myeloid leukemia, ionizing radiation, tyrosine kinase inhibitors, cytogenetic and molecular response, treatment efficiency.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2014;19:241-255.

ВСТУП

Хронічна мієлоїдна лейкемія (ХМЛ) — захворювання, яке супроводжується порушенням дозрівання гранулоцитів і виходом молодих форм у периферичну кров. Головною патогенетичною подією, що призводить до розвитку ХМЛ, є поява транслокації між 9-ю та 22-ю хромосомами і, як наслідок, формування дериватної 22-ї хромосоми (так званої Філадельфійської або Ph-хромосоми) та злиття генів *BCR* та *ABL* з появою химерного гена *BCR/ABL*. В дебюті захворювання характерною є наявність Ph-хромосоми у 90–100 % клітин кісткового мозку і/або висока експресія химерного гена *BCR/ABL* [1]. Білок *BCR/ABL* є активною тирозинкіназою, що випадає з-під впливу механізмів, які контролюють в нормі активність *ABL*-тирозинкінази. Такі клітини, що вийшли з-під контролю, підвищують свою проліфе-

INTRODUCTION

Chronic myeloid leukemia (CML) is a disease with damage of granulocytes maturation and release of young forms in the peripheral blood. The main pathogenetic event leading to the development of CML is the appearance of translocation between chromosome 9 and chromosome 22 and, consequently the formation of derivative chromosome 22 (the so-called Philadelphia chromosome or Ph-chromosome) and junction of genes *BCR* and *ABL* with the advent of fusion gene *BCR/ABL*. The presence of Ph-chromosome in 90–100 % of bone marrow cells and/or high expression of the fusion gene *BCR/ABL* is typical for the disease debut [1]. Protein *BCR/ABL* is an active tyrosine kinase, escaped the influence of the mechanisms that control activity of normal *ABL*-tyrosine kinase. These

ративну активність, при цьому пригнічується апоптоз, зменшується їх залежність від цитокінів, знижується клітинна адгезія.

Загальноприйнятою терапією ХМЛ з 2000-х років стало використання специфічних інгібіторів тирозинкіназ (ІТК), яка отримала назву цілеспрямованої, чи таргетної. Дія ІТК пов'язана з тим, що імаїніб мезилат (ІМ), представник ІТК 1-го покоління, вбудовується замість АТФ в АТФ-зв'язуючу кишеню кіназного домена білка BCR/ABL, внаслідок чого BCR/ABL-тирозинкіназа залишається в неактивному стані і блокується сигнальний шлях проліферації злоякісних клітин [2]. Ефективність терапії ІМ дуже висока – у більшості пацієнтів вдається досягти цитогенетичної ремісії, а у частини – отримати повну молекулярну відповідь (ПМВ)..Непереносимість ІМ зустрічається рідко і зазвичай не пов'язана з серйозними, загрожуючими життю побічними ефектами. Показана надзвичайно висока ефективність імаїнібу в низці багаточентрових масштабних досліджень. Так, після 5 років терапії імаїнібом елімінація Ph-позитивних клітин у кістковому мозку (повна цитогенетична відповідь – ПЦВ) була досягнута у 87 % пацієнтів, а 5-річне виживання без прогресії захворювання склало 93 % [3].

Однак, у частини хворих з ХМЛ відмічається первинна резистентність до ІМ, тобто відсутність чутливості до препарату. Також в ході лікування в силу різних причин може розвиватися вторинна резистентність, що різко знижує результати цієї терапії.

У таких випадках, існує пряме показання для призначення ІТК 2-го покоління – нілотинібу, який активніший за імаїніб у десятки разів і в разі його застосування може підвищити результати лікування у пацієнтів з резистентністю до імаїнібу.

У клініці ННЦРМ з 2005 року було започатковане використання ІТК (імаїніб) для терапії ХМЛ у осіб, потерпілих внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС. Клітини гемопоєзу вважаються критичними популяціями для дії іонізуючої радіації, тому дослідження захворювань кровотворної системи у осіб, що зазнали впливу іонізуючого випромінювання, представляє особливий інтерес. Дані проведеного спільного міжнародного дослідження між Національним інститутом раку (США) і ННЦРМ показали, що опромінення учасників ліквідації наслідків аварії у низьких дозах, які характерні для Чорнобильської аварії, асоціюється із суттєвим ризиком зростання кількості випадків лейкемії лімфоїдної та нелімфоїдної природи [4]. Крім того, в ряді робіт показані особливості патогенезу і перебігу онкогематологічних захворювань у осіб даної когорти [5, 6].

cells being out of control, increase their proliferative activity, reduce their dependence on cytokines, reduce cell adhesion, and apoptosis is inhibited.

The use of specific tyrosine kinases inhibitors (TKI) is a conventional therapy of CML since 2000s. It is known as focused or targeted. TKI effect is caused by the fact that imatinib mesylate (IM), a representative of 1st generation TKI, builds into the ATP-binding pocket of BCR/ABL kinase domain instead of ATP. As a result, BCR/ABL-tyrosine kinase remains inactive and signaling pathway of malignant cells proliferation is blocked [2]. The efficiency of IM treatment is very high – the majority of patients achieve cytogenetic remission, and some – get complete molecular response (CMR). IM intolerance is rare and usually not related to serious life threatening side effects. Extremely high efficiency of imatinib is shown in a number of large-scale multicenter studies. So, after 5 years of imatinib therapy elimination of Ph-positive cells in the bone marrow (complete cytogenetic response – CCR) was achieved in 87 % of patients, and 5-year survival without disease progression was 93 % [3].

However, in some CML patients lack of sensitivity to the drug or primary resistance to IM is observed. Also for various reasons the secondary resistance may develop during treatment. It reduces the results of this therapy drastically.

In such cases, there is direct evidence for the use of TKI of the 2nd generation – nilotinib. It is more active than imatinib and can improve treatment outcomes in patients with resistance to imatinib.

Using TKI (imatinib) for the treatment of CML in patients exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl NPP accident was initiated in NRCRM in 2005. Since hematopoietic cells are considered to be critical populations for the influence of ionizing radiation, the study of hematopoietic system diseases in individuals exposed to ionizing radiation is of particular interest. The data of international joint research between the National Cancer Institute (USA) and NRCRM (Ukraine) showed that exposure of the clean-up workers of Chernobyl NPP at low doses that were the features of the Chernobyl accident, is associated with a significant risk of increased incidence of lymphoid and non-lymphoid leukemias [4]. In addition, a number of studies show specifics of pathogenesis and course of hematologic disease in patients from this cohort [5, 6].

МЕТА

Метою нашої роботи було вивчення ефективності терапії ІТК пацієнтів з ХМЛ, які зазнали дії іонізуючого випромінювання внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС, на підставі даних цитогенетичного і молекулярного моніторингу.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ**Об'єкт дослідження**

Обстежено 29 пацієнтів, у яких було встановлено діагноз ХМЛ і документально підтверджено наявність радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС. Серед обстежених 16 осіб були учасниками ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС у 1986–1988 рр., 6 – евакуйовані у 1986 р. і 7 – жителі зони посиленого радіоекологічного контролю. Діагноз було встановлено у відділенні радіаційної онкогематології і трансплантації стовбурових клітин Інституту клінічної радіології ННЦРМ, базуючись на результатах клініко-гематологічних, а також цитогенетичних і молекулярно-генетичних досліджень. Медіана віку пацієнтів складала 45 років (від 29 до 69 років). Із них 16 чоловіків (55 %) і 13 жінок (45 %). У 26 пацієнтів на момент обстеження встановлено хронічну фазу захворювання, у 1 пацієнта – фазу акселерації і у 2 – фазу бластної кризи за мієлоїдним типом.

Серед 29 обстежених пацієнтів з ХМЛ, які зазнали дії іонізуючого випромінювання, 20 пацієнтів отримували терапію ІТК в рамках програми “Право жити”, інші альтернативну терапію. Стартова стандартна доза іматинібу складала 400 мг на добу. У випадку відсутності відповіді, субоптимальної відповіді або втрати досягнутої цитогенетичної чи молекулярної відповідей на 6–12-му місяці лікування, дозу препарату збільшували до 600–800 мг на добу. У 10 осіб іматиніб виявився неефективним і вони були переведені на лікування ІТК 2-го покоління – нілотиніб у дозі 800 мг на добу.

Групу порівняння склали 103 пацієнти з ХМЛ без радіаційного анамнезу, які отримували терапію ІТК і знаходились під наглядом у відділенні радіаційної онкогематології і трансплантації стовбурових клітин Інституту клінічної радіології ННЦРМ.

Цитогенетичний аналіз

Для цитогенетичного дослідження аналізували по 20 метафазних пластинок, отриманих у 24-годинній нестимульованій культурі клітин кісткового мозку з подальшим диференціальним G-зabarвленням. Ідентифікацію хромосом проводили згідно з критеріями “Міжнародної системи для номенклатури у цитогене-

OBJECTIVE

The purpose of our study was to investigate the efficiency of TKI therapy for patients with CML exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl accident, on the basis of cytogenetic and molecular monitoring data.

MATERIALS AND METHODS**The object of the study**

The study involved 29 patients who were diagnosed with CML and confirmed presence of radiation exposure due to the Chernobyl accident. Among the patients, 16 persons were clean-up workers in 1986–1988, 6 persons were evacuated in 1986 and 7 were the inhabitants of the zone with enhanced radiation control. The diagnosis was established in the Department of Radiation Hematology and Stem Cell Transplantation of NRCRM on the results of clinical, hematological, cytogenetic and molecular genetic examinations. The median age of patients was 45 years (from 29 to 69 years). Of these, there were 16 men (55 %) and 13 women (45 %). At the time of the survey 26 patients had chronic phase of the disease, 1 patient – the acceleration phase and 2 – myeloid blast crisis.

Among the 29 studied patients with CML exposed to ionizing radiation, 20 patients were treated with TKI within the framework of the program “The Right to Live” and others used alternative therapy. Starting standard dose of imatinib was 400 mg per day. If there was no response, suboptimal response or loss achieved cytogenetic or molecular responses in 6–12 months of treatment, the dose was increased to 600–800 mg per day. In 10 people imatinib was ineffective and they were shifted to the treatment with 2nd generation TKI – nilotinib at a dose 800 mg per day.

Comparison group was created from 103 patients with CML without radiation history who were treated with TKI and were under the observation in the Department of Radiation Hematology and Stem Cells Transplantation of NRCRM.

Cytogenetic analysis

For cytogenetic study 20 metaphase plates obtained from 24-hour unstimulated culture of bone marrow cells were analyzed and followed by G-banding. The identification of chromosomes was performed according to the criteria of the “International System for the range of human

тиці людини – 2013” (ISCN). Враховували тільки клональні порушення – ті, котрі повторюються більше двох разів на 10 проаналізованих пластинок. Клон із втратою чи додатковою хромосомою враховували тільки за наявності мінімум трьох клітин з однаковими кількісними порушеннями з 10 проаналізованих [7].

МОЛЕКУЛЯРНИЙ АНАЛІЗ

Молекулярно-генетичне дослідження проводили методом якісної і кількісної зворотнотранскриптажної полімеразної ланцюгової реакції (ЗТ-ПЛР). Якісну ЗТ-ПЛР виконували на клітинах кісткового мозку і периферичної крові на етапі первинної діагностики для визначення типу транскрипта *BCR/ABL*. РНК виділяли за методикою Хомчинського з використанням гуанідинтіоціанату, фенолу і хлороформу. Для зворотної транскрипції використовували гексамерні праймери і M-MuLV ревертазу (Fermentas, Латвія). Режимми інкубації відповідали рекомендаціям фірми-виробника. Контроль отриманої кДНК здійснювали методом ПЛР з праймерами до гену *ABL*. Зразки кДНК, які були негативними в контрольному тесті, виключались з подальшого аналізу. Гніздову ЗТ-ПЛР проводили з праймерами до гену *BCR/ABLp210* і *BCR/ABLp190* у відповідності до протоколу, рекомендованого Європейською програмою BIOMED-1 “Дослідження мінімальної резидуальної хвороби при гострих лейкеміях: міжнародна стандартизація і клінічна оцінка”. ПЛР-продукт візуалізували у 2 % агарозному гелі [8–9].

Молекулярний моніторинг проводили методом кількісної ЗТ-ПЛР у пацієнтів з ХМЛ, які отримували терапію ІТК. Виділення РНК з клітин периферичної крові і синтез кДНК здійснювали вищеписаним способом. Для кількісної ЗТ-ПЛР використовували комерційний набір для визначення рівня експресії гену *BCR/ABLp210* (Nanogen, Італія). Молекулярну відповідь оцінювали за співвідношенням кількості копій гену *BCR/ABL* до кількості копій гену *ABL*, вираженим у відсотках. Результат вважали достовірним, якщо кількість копій контрольного гену *ABL* була не менше 10 000 [10].

Оцінка відповіді

Відповідь на терапію визначали згідно з критеріями, рекомендованими Європейською групою LeukemiaNet (ELN): гематологічну, цитогенетичну і молекулярну відповіді. Повною гематологічною відповіддю (ПГВ) вважали нормалізацію показників крові і відсутність ознак екстрамедулярного уражен-

cytogenetics-2013” (ISCN). Only clonal alterations – repeated more than twice in 10 analyzed plates – were taken into account. Clone with loss or extra chromosome was recorded only if at least three cells with the same numerical alteration of the 10 analyzed were present [7].

THE MOLECULAR ANALYSIS

Molecular genetic examination was carried out using qualitative and quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). Qualitative RT-PCR was performed on bone marrow and peripheral blood at the stage of initial diagnosis to determine the type of transcript *BCR/ABL*. RNA was isolated by the Homchynskiy method using guanidynthiocyanat, phenol and chloroform. For reverse transcription using hexamer primers and M-MuLV revertase (Fermentas, Latvia). The incubation regimen meet the requirements of the manufacturer. Control of cDNA was obtained by PCR performed with primers to the gene *ABL*. DNA samples that were negative in the control test, were excluded from further analysis. Nested RT-PCR was performed with primers to the gene *BCR/ABLp210* and *BCR/ABLp190* according to the protocol of the European BIOMED-1 program “Investigation of minimal residual disease in acute leukemia: international standardization and clinical evaluation.” The PCR product was visualized in 2 % agarose gels [8–9].

Molecular monitoring was performed by quantitative RT-PCR in patients with CML who were treated with TKI. RNA isolation from peripheral blood cells and the synthesis of cDNA was carried out by the method described above. A commercial kit for determining the level of expression of the gene *BCR/ABLp210* (Nanogen, Italy) was used for quantitative RT-PCR. The molecular response was assessed by the ratio between the number of copies of the gene *BCR/ABL* and gene copy number of *ABL*, expressed as a percentage. The result was considered significant if the number of copies of the control gene *ABL* was 10,000 [10].

Assessment of response

Therapy response was determined according to the European Group Leukemia Net (ELN) recommendation: hematologic, cytogenetic and molecular responses. The complete hematological response (CHR) is the normalization of blood and no evidence of extramedullary lesion.

ня. Відсутність Ph-позитивних клітин у кістковому мозку розцінювали як повну цитогенетичну відповідь (ПЦВ). Великою молекулярною відповіддю (ВМВ) вважали, згідно з рекомендаціями LeukemiaNet, рівень експресії *BCR/ABL* менше 0,1 %. Цитогенетичне дослідження проводили під час встановлення діагнозу, а також на 6, 12, 18, 24-му місяцях терапії ІТК, а в подальшому обстеження проводилося кожні 12 місяців. Молекулярну відповідь оцінювали через кожні 3 місяці після досягнення повної цитогенетичної відповіді [11].

Первинну резистентність визначали через 6 місяців як відсутність великої цитогенетичної відповіді та/або рівень транскрипту *BCR/ABL* > 10 %, через 12 місяців – як відсутність ПЦВ та/або рівень транскрипту *BCR/ABL* > 1 %. Вторинною резистентністю вважали втрату досягнутої повної гематологічної, цитогенетичної і/або великої молекулярної відповіді чи прогресію захворювання під час лікування ІТК [11].

Статистичний аналіз

У зв'язку з невеликою основною групою спостереження, відсутністю випадків смерті і прогресування захворювання за час лікування ІТК, показники загального виживання і виживання без прогресії не аналізували. Різницю між перемінними оцінювали за допомогою χ^2 -тесту. Статистичну обробку даних проводили з використанням статистичного пакету STATISTICA 6.0 та таблиць Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Загальна клінічна характеристика групи пацієнтів на момент діагностики ХМЛ наведена в табл.1.

У всіх пацієнтів в результаті цитогенетичного дослідження було виявлено специфічну для ХМЛ транслокацію t(9;22)(q34;q11) (Ph-хромосому). Кількість Ph+ клітин коливалась від 42 до 100 %. У переважного числа пацієнтів (90 %) кількість Ph+ метафаз перевищувала 75 %. У 3 пацієнтів (10 %) на фоні транслокації t(9;22) були виявлені додаткові клональні хромосомні порушення.

Один з пацієнтів мав численні порушення каріотипу – дериватну 9-ту хромосому, делецію короткого плеча 10-ї хромосоми на рівні сегменту p11.2, додаткові 8-му і 15-ту хромосоми. Каріотип: 46~48,XY,der(9)t(q21;?)[19],del(10)(p11.2)[19],t(9;22)(q34;q11)[8],+8[3],+15[9][cp19].

Ще у одного пацієнта 50 % метафаз зі стандартною транслокацією t(9;22)(q34;q11) мали додаткову структурну аномалію у вигляді делеції довгого плеча

Lack of Ph-positive cells in bone marrow was considered as a complete cytogenetic response (CCR). Major molecular response (MMR) according to LeukemiaNet recommendation is the ratio of *BCR/ABL* less than 0.1 %. Cytogenetic examinations were performed at diagnosis and at 6, 12, 18 and 24 months of TKI therapy, and further examination was carried out every 12 months. The molecular response was assessed every 3 months after achieving complete cytogenetic response [11].

Initial resistance was determined after 6 months of therapy as the absence of major cytogenetic response and/or the level of transcript *BCR/ABL* > 10 %, after 12 months – a lack of CCR and / or level of transcript *BCR/ABL* > 1 %. Loss of hematologic, cytogenetic and / or major molecular response or disease progression during TKI treatment was considered to be the secondary resistance [11].

Statistical Analysis

Due to the small main group, lack of cases of deaths and no disease progression during the TKI treatment, data of overall survival and progression-free survival was not analysed. The difference between variables was assessed using χ^2 -test. Statistical analysis was performed with Statistical Package STATISTICA 6.0 and tables Excel.

RESULTS AND DISCUSSION

General clinical characteristic of the patient group at the time of CML diagnosis is summarized in Table 1.

As a result of cytogenetic analysis, CML-specific translocation t(9;22)(q34;q11) was found in all patients. The number of Ph+ cells varied from 42 % to 100 %. The vast majority of the patients (90 %) had Ph+ metaphases in over 75 %. Three patients (10 %) had other clonal chromosomal aberrations in addition to the t(9;22) translocation.

One of the patients had numerous karyotype aberrations including derivat chromosome 9, deletion of the p-arm in the chromosome 10 at the segment p11.2, additional chromosomes 8 and 15. Karyotype: 6~48,XY,der(9)t(q21;?)[19],del(10)(p11.2)[19],t(9;22)(q34;q11)[8],+8[3],+15[9][cp19].

Another patient had an additional structural abnormality like q-arm deletion in chromosome 11 at the segment q14 in 50 % of metaphases.

11-ї хромосоми на рівні сегмента q14. Каріотип: 46,XY,t(9;22)(q34;q11)[10]/idem, del(11)(q14)[10].

В одному випадку у пацієнта були присутні клітини з додатковою Ph-хромосомою і його каріотип виглядав так: 46,XX,t(9;22)(q34;q11)[18]/idem,+der(22)t(9;22)[2].

Проведений аналіз показав відсутність достовірної різниці за частотою додаткових хромосомних порушень в досліджуваній і контрольній групах (3 з 29 випадків і 6 зі 103 випадків відповідно).

Молекулярне дослідження у 21 пацієнта (74 %) з групи спостереження виявило експресію b3a2 *BCR/ABL* транскрипту, а експресію транскрипту b2a2 – у 8 пацієнтів (26 %). Розподіл частоти транскриптів не відрізнявся в досліджуваній та контрольній групах. Переважання транскрипта b3a2 в групі осіб з радіаційним анамнезом (74 % проти 67 % в контрольній групі) не є статистично значущим і ймовірно пов'язане з невеликим числом спостережень.

20 пацієнтів з групи спостереження, котрі знаходилися на терапії іматинібом, в якості попереднього лікування отримували гідроксисечовину, інтерферон. Медіана передлікованості складала 12 місяців (від 0,5 до 118 місяців). Тільки у 6 пацієнтів іматиніб було призначено протягом перших 6 місяців від моменту встановлення захворювання, відповідно до вимог стандартів терапії. Половина пацієнтів мала період передлікованості від 6 до 36 місяців. У чотирьох пацієнтів попереднє лікування з включенням гідрооксисечовини, інтерферону тривало від 49 до 118 місяців.

Контрольна група відповідала досліджуваній за статтю, віком, клініко-гематологічними характеристиками на момент встановлення діагнозу. Враховуючи те, що на ефективність терапії ІТК великий вплив має група ризику за критеріями Sokal під час встановлення діагнозу та тривалість передлікованості, контрольна група була сформована подібно до досліджуваної групи (табл.1).

Максимальна тривалість спостереження за пацієнтами, що отримують ІТК, склала 101 міс (група спостереження) при медіані тривалості лікування 40 міс. Тривалість лікування іматинібом, у тому числі в дозі 600–800 мг/добу, складала від 5 до 94 міс (Me 29 міс). Десять пацієнтів (50 %) досліджуваної групи були переведені на лікування ІТК 2-го покоління (нілотиніб) у зв'язку з розвитком резистентності до іматинібу. Медіана тривалості попередньої терапії іматинібом у цій групі пацієнтів склала 36 міс (від 5 до 94 міс). Пацієнти, які отримували нілотиніб, знаходились під наглядом від 4 до

Karyotype: 46,XY,t(9;22)(q34;q11)[10]/idem, del(11)(q14)[10].

In one case there were cells with additional Ph-chromosome. The patient's karyotype was: 46,XX,t(9;22)(q34;q11)[18]/idem,+der(22)t(9;22)[2].

Statistical analysis revealed absence of statistical significance in the rate of additional chromosomal anomalies between the studied and control groups (3 out of 29 cases and 6 out of 103 cases respectively).

Molecular analysis demonstrated expression of b3a2 *BCR/ABL* transcript in 21 patients (74 %) and expression of b2a2 transcript in 8 patients (26 %) of the studied group. The distribution of transcript does not differ between the studied and control groups. Higher rate of b3a2 transcript expression in the group with radiation anamnesis (74 % against 67 % in control group) is not statistically significant and is most likely related to the low number of observations.

Twenty patients from the study group, treated with imatinib, were pre-treated with hydroxyurea, interferon. The median of the pre-treatment period was 12 months (from 0.5 to 118 months). Only 6 patients had imatinib prescribed within first 6 months after CML diagnosis, which is the time interval according to the therapy standard. Half of the patients had a pre-treatment period from 6 to 36 months. Four patients were pre-treated with hydroxyurea, interferon for 49 to 118 months.

Comparison (control) group was matched to the studied group by sex and age as well as clinical and hematologic characteristics at the time of diagnosis. Considering the fact that the risk group according to Sokal criteria and the length of pre-treatment both have a significant effect on the efficiency of TKI therapy, control group was formed to be similar to the studied group (Table 1).

Maximum time of the follow-up for patients with TKI treatment was 101 months (study group) with the median length of treatment of 40 months. Duration of imatinib treatment including treatment with doses 600–800 mg/day was from 5 to 94 months with the median of 29 months. Ten patients of the study group (50 %) were transferred into the second generation TKI (nilotinib) therapy due to the development of resistance to imatinib. The median of imatinib pre-treatment in this group was 36 months (range from 5 to 94 months). The patients with nilotinib therapy were observed

Таблиця 1
Площі під кривими з 95 % довірчими інтервалами

Table 1
Загальна характеристика пацієнтів з ХМЛ

Характеристика Characteristics	Пацієнти з ХМЛ / patients with CML	
	які зазнали впливу іонізуючого опромінення в результаті аварії на ЧАЕС exposed to ionizing radiation after Chornobyl NPP accident (study group)	без радіаційного анамнезу (контрольна група) no exposure to ionizing radiation (control group)
Всього / total (n)	29	103
Кількість пацієнтів, що отримують терапію ІТК (n) Number of patients treated with TKI (n)	20	103
Стать / gender, n (%)		
Чоловіки / male	16 (55)	52 (50)
Жінки / female	13 (45)	51 (50)
Вік на момент діагностики захворювання, медіана, роки (діапазон) Age in years at the diagnosis, median (range)	45 (29–69)	42 (17–70)
Спленомегалія / splenomegaly, n (%)	14 (48,27)	91 (88,35)
Гепатомегалія / hepatomegaly, n (%)	12 (41,38)	67 (65,05)
Анемія / anemia, n (%)	13 (44,83)	78 (75,73)
Тромбоцитоз / thrombocytosis, n (%)	15 (51,72)	83 (80,58)
Гіперлейкоцитоз / hyperleukocytose, n (%)	29 (100 %)	103 (100 %)
Sokal		
Низький ризик / low risk	49,5	52,5
Проміжний ризик / intermediate risk	25,5	26,5
Високий ризик / high risk	25,0	21,0
Фаза захворювання / phase of the disease		
Хронічна фаза / chronic phase, n	26	93
Фаза акселерації / acceleration phase, n	1	10
Бластна криза / blast crisis, n	2	–
Наявність додаткових хромосомних аномалій, n (%) Presence of additional chromosomal abnormalities, n (%)	3 (10)	6 (6)
BCR/ABL транскрипт / BCR/ABL transcript		
b3a2, n (%)	21 (74)	69 (67)
b2a2, n (%)	8 (26)	34 (33)
Час до початку терапії іматинібом, медіана, міс. (діапазон) Duration of pretreatment before imatinib, months, median (range)	11,9 (0,5–118)	10,6 (0,6–114)
Менше 6 міс / less 6 month, n	6	28
6–36 міс / month, n	10	50
Больше 36 міс / more 36 month, n	4	25

51 міс (Me 16 міс). Тривалість терапії ІТК у контрольній групі була подібна такій у групі спостереження (табл. 2).

Аналіз результатів терапії іматинібом за частотою досягнення гематологічної, цитогенетичної і молекулярної відповідей показав однакову закономірність як в досліджуваній, так і в контрольній групах (табл. 3).

В групі пацієнтів, які зазнали впливу іонізуючого випромінювання внаслідок аварії на ЧАЕС, а також в контрольній групі повної гематологічної відповіді було досягнуто на 3-й місяць від початку терапії іматинібом у 100 і 98 % випадків відповідно.

for 4 to 51 months with the median follow-up of 16 months. The time of TKI therapy in control group was similar to that of the study group (Table 2).

Analysis of the imatinib therapy results by the frequency of hematologic, cytogenetic and molecular responses demonstrated the same patterns in both studied and the control groups (Table 3).

In group of patients exposed to ionizing radiation and in control group a full hematologic response was reached during the three months of imatinib therapy in 100 and 98 % of patients respectively.

Таблиця 2

Тривалість спостереження за пацієнтами, які отримують терапію ІТК

Table 2

Time of the follow-up of patients with TKI therapy

Характеристика Characteristics	Пацієнти з ХМЛ / patients with CML	
	які зазнали впливу іонізуючого опромінення в результаті аварії на ЧАЕС exposed to ionizing radiation after Chornobyl NPP accident (study group)	без радіаційного анамнезу (контрольна група) no exposure to ionizing radiation (control group)
	Медіана тривалості терапії ІТК, міс (діапазон) Median length of TKI therapy, month (range)	40 (6–101)
Медіана тривалості терапії іматинібом, міс (діапазон) Median length of imatinib therapy, month (range)	29 (5–94)	33 (6–82)
Медіана тривалості терапії нілотинібом, міс (діапазон) Median length of nilotinib therapy, month (range)	16 (4–51)	18 (3–45)

Повну цитогенетичну відповідь реєстрували у 50 та 48,5 % пацієнтів в групі спостереження і контрольній групі відповідно. Велику молекулярну відповідь визначали у 20 % випадків у хворих на ХМЛ, які мали в анамнезі радіаційне опромінення і у 27,6 % випадків пацієнтів контрольної групи (відмінності не є статистично значущими). Найкращі результати досягнення ПЦВ і ВМВ виявлені у пацієнтів зі строком передлікованості до 6 міс (тих, у котрих іматиніб застосовували як терапію першої лінії). В контрольній групі статистична значущість відмінностей мала місце як при порівнянні з групою пацієнтів, які отримували попереднє лікування протягом 6–36 місяців, так і з групою, що мала історію передлікування більше ніж 36 місяців. Серед пацієнтів з радіаційним анамнезом, які отримували попередню терапію іншими препаратами менше ніж 6 місяців, вірогідно частіше вдавалося досягти ПЦВ та ВМВ ($p < 0,05$). Однак невелика чисельність досліджуваної групи не дозволила отримати статистично значущі результати у підгрупах.

Для порівняння динаміки досягнення оптимальної відповіді в обох групах аналізували ПЦВ через 6 та 12 місяців терапії іматинібом та ВМВ через 12 та 18 місяців терапії. Було виявлено, що в групі пацієнтів, які мали в анамнезі радіаційне опромінення, частота ПЦВ до 6-го місяця терапії іматинібом була вірогідно вища – 8 з 20 осіб (40 %) порівняно з контрольною групою (12,6 %). Переваги можуть бути випадковими та пов'язаними з невеликою кількістю спостережень. На користь цієї думки свідчить той факт, що вже до 12-го місяця частота ПЦВ зрівнялася в обох групах та складала 35,7 та 43,5 %, відповідно. Не було виявлено розбіжностей у досягненні ВМВ до 12-го

CCR was registered in 50 and 48.5 % of patients in the study group and control group respectively. MMR was determined in 20 % of patients with radiation exposure and in 27.6 % of patients in control group (the difference is not statistically significant). The best results of CCR and MMR were observed in the patients who were pretreated for less than 6 month (those for whom imatinib was used as the first line therapy) in study group as well as in comparison group. For the control group the difference was statistically significant both in comparison with the group of patients pretreated for 6–36 months and with the group of patients that had a pretreatment history over 36 months. For patients with radiation anamnesis (the study group) pretreated less than 6 months the rate CCR and MMR was significantly higher ($p < 0,05$). However, a small number of patients in the study group did not allow to obtain statistically different results in the subgroups.

CCR after 6 and 12 months of imatinib therapy as well as MMR after 12 and 18 months of therapy were analyzed in order to compare the dynamics of the optimal response in both groups. It was observed that the rate of CCR at 6th month of therapy was significantly higher in patients with radiation exposure in anamnesis – 8 of 20 people (40 %) – than such rate in the control group (12.6 %). We admit that the significance can be caused by chance and may be related to the small group sizes. This hypothesis is supported by the fact that by 12 months of imatinib treatment the rate of CCR has already lost its significant difference between groups (35.7 % in the study group and 43.5 % in comparison group). No differ-

Таблиця 3
Відповідь на терапію іматинібом у пацієнтів з ХМЛ

Table 3
Response to the imatinib therapy in CML patients

Характеристика Characteristics	Пацієнти з ХМЛ / patients with CML	
	які зазнали впливу іонізуючого опромінення в результаті аварії на ЧАЕС exposed to ionizing radiation after Chornobyl NPP accident (study group)	без радіаційного анамнезу (контрольна група) no exposure to ionizing radiation (control group)
Всього / total (n)	20	103
Повна гематологічна відповідь на 3-й місяць терапії іматинібом (%) Complete hematologic response after 3 month of imatinib therapy (%)	100	98,0
Повна цитогенетична відповідь, n (%) Complete cytogenetic response n, (%)	10 (50,0)	50 (48,5)
тривалість передлікування менше 6 міс, n time of pretreatment less than 6 months, n	5 з 6 / 5 from 6	22 з 28 / 22 from 28
тривалість передлікування 6-36 міс, n time of pretreatment 6-36 months, n	4 з 10 / 4 from 10	24 з 50 / 24 from 50
тривалість передлікування більше 36 міс, n time of pretreatment over 36 months, n	1 з 4 / 1 from 4	4 з 25 / 4 from 25
Велика молекулярна відповідь (%) Major molecular response (%)	23,5	27,6
тривалість передлікування менше 6 міс, n time of pretreatment less than 6 months, n	3 з 6 / 3 from 6	13 з 22 / 13 from 22
тривалість передлікування 6-36 міс, n time of pretreatment 6-36 months, n	1 з 8 / 1 from 8	9 з 42 / 9 from 42
тривалість передлікування більше 36 міс, n time of pretreatment over 36 months, n	0 з 4 / 0 from 4	2 з 23 / 2 from 23
Первинна резистентність, n (%) Primary resistance, n (%)	10 (50,0)	52 (50,0)
тривалість передлікування менше 6 міс, n time of pretreatment less than 6 months, n	1 з 6 / 1 from 6	6 з 28 / 6 from 28
тривалість передлікування 6-36 міс, n time of pretreatment 6-36 months, n	6 з 10 / 6 from 10	26 з 50 / 26 from 50
тривалість передлікування більше 36 міс, n time of pretreatment over 36 months, n	3 з 4 / 3 from 4	20 з 24 / 20 from 24
Вторинна резистентність, n (%) Secondary resistance, n (%)	5 (25,0)	10 (10,0)
тривалість передлікування менше 6 міс, n time of pretreatment less than 6 months, n	1 з 6 / 1 from 6	1 з 28 / 1 from 28
тривалість передлікування 6-36 міс, n time of pretreatment 6-36 months, n	3 з 10 / 3 from 10	7 з 50 / 7 from 50
тривалість передлікування більше 36 міс, n time of pretreatment over 36 months, n	1 з 4 / 1 from 4	2 з 24 / 2 from 24

місяця терапії іматинібом (8,3 % – група спостереження та 12,9 % – контрольна група). Однак до 18-го місяця терапії кількість пацієнтів з ВМВ в групі з радіаційним анамнезом практично не змінилася (11 %), тоді як в контрольній групі вона збільшилася більш ніж у 2 рази (31,3 %). Отримані результати не є статистично значущими, хоча не можна виключити, що при збільшенні чисельності групи пацієнтів, які зазнали радіаційного

ences were observed in achievement of MMR by the 12th month of imatinib therapy (8.3 % in the study group and 12.9 % in the comparison group). However, by the 18th month of treatment the number of patients with MMR in the study group has barely changed (11 %), while at the same time it more than doubled in the control group (31.3 %). Although these results are not statistically significant, one cannot be sure that the increase in the size

опромінення, ця тенденція може стати статистично вірогідною.

Аналіз відповіді на терапію показав, що в обох групах у половини пацієнтів за весь період спостереження не було досягнуто ПЦВ і ВМВ. Такі пацієнти були віднесені до первинно резистентних. При цьому в обох групах вірогідно менше число випадків резистентності ($p < 0,05$) реєструвалося у пацієнтів, яким імаїніб було призначено не пізніше 6 місяців від початку захворювання. Частота розвитку первинної резистентності не відрізнялася у досліджуваних групах. У той же час було виявлено статистично вірогідне переважання випадків втрати досягнутої цитогенетичної і/або молекулярної відповіді в процесі лікування ІТК (тобто, вторинної резистентності) у пацієнтів з ХМЛ, які в анамнезі мають радіаційний вплив (25 % проти 10 % в контрольній групі).

Аналіз результатів застосування нілотинібу як терапії 2-ї лінії у пацієнтів, які не мали ПЦВ на терапію імаїнібом, показав, що ефективність зміни ІТК у пацієнтів, які зазнали дії іонізуючого випромінювання, була такою ж, як і в контрольній групі. ПЦВ вдалося досягти відповідно у 37,5 та 31,3 % пацієнтів.

Отримані результати свідчать про те, що в осіб, які зазнали радіаційного впливу в результаті аварії на ЧАЕС, дебют ХМЛ не мав специфічних радіаційно асоційованих діагностичних маркерів. Головним генетичним маркером була транслокація $t(9;22)(q34; q11)$ і експресія химерного гена *BCR/ABL*. Не було виявлено підвищення частоти споріднених клонів і додаткових хромосомних аномалій (так званої клональної еволюції), яку вважають наслідком втрати контролю організму над генною нестабільністю, посилення якої призводить до прогресії захворювання [12]. Частота появи додаткових клональних порушень в Ph-позитивних клітинах (10,3 %) була подібна до результатів масштабних багатоцентрових досліджень пацієнтів з ХМЛ *de novo* без радіаційного анамнезу (від 5 до 10 %) [13].

Клініко-лабораторний моніторинг з урахуванням частоти досягнення ПЦВ і ВМВ підтвердив високу ефективність імаїнібу в лікуванні хворих на ХМЛ, які зазнали впливу іонізуючого опромінення внаслідок аварії на ЧАЕС. При цьому частота досягнення ПЦВ до 12-го місяця терапії ІМ становила 35,7 %, а частота ВМВ – 8,3 %, що відповідає рівню цих показників у контрольній групі. При цьому деякі пацієнти з відсутністю ПЦВ до 12-го місяця терапії

of the group patients with radiation history would not cause statistical significance of this difference.

Analysis of the imatinib therapy response demonstrated that in both groups half of the patients have never reached neither CCR nor MMR throughout the course of treatment. Such patients were qualified as primary resistant. In both groups the number of resistant patients was significantly smaller ($p < 0,05$) among those patients for whom imatinib was prescribed not later than 6 months after disease debut. The frequency of the primary resistance did not differ between the groups. Meanwhile, the frequency of the secondary resistance (loss of cytogenetic and/or molecular response during TKI therapy) was significantly higher in the study group than in comparison group (25 % versus 10 %).

Analysis of the response to nilotinib as a second line therapy for the patients who did not reach CCR with imatinib demonstrated that the efficiency of TKI therapy change was the same in patients from study and comparison groups. CCR was reached in 37.5 % of the patients with radiation exposure and 31.3 % of the control group.

Our results suggest that the debut of CML in the patients who were exposed to ionizing radiation after Chernobyl NPP accident did not have specific radiation-associated markers. The main genetic marker were translocation $t(9;22)(q34; q11)$ and expression of the fusion gene *BCR/ABL*. The frequency of related clones as well as the frequency of additional chromosomal abnormalities (clonal evolution) were not elevated in the study group. They are considered to be a consequence of loss of body's control over genome stability. Its enhancement causes further progression of the disease [12]. The frequency of additional clonal aberrations in Ph+ cells (10.3 %) was close to the results obtained during multicenter studies of therapy CML patients *de novo* without radiation exposure in their anamnesis (from 5 % to 10 %) [13].

The clinical and laboratory monitoring based on the assessment CCR and MMR, confirmed high efficiency of imatinib among CML patients exposed to ionizing radiation after the Chernobyl NPP accident. It was found that in this group 35.7 % of patients reached CCR by 12 months of therapy and the frequency of MMR was 8.3 %. These data matched the frequencies observed in the control group. Moreover, some of the patients (from

при продовженні лікування та підвищенні дози ІМ все ж досягали повної цитогенетичної відповіді і великої молекулярної відповіді в більш пізні терміни, хоча глибина відповіді (тобто досягнення ВМВ) в групі опромінених все ж була нижчою порівняно з контрольною групою.

Наші дані відрізняються від результатів міжнародного рандомізованого дослідження IRIS, в якому у пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ, які отримували терапію імаїнібом, досягнення ПЦВ до 12-го місяця терапії зареєстровано у 69 % пацієнтів, а редукція експресії BCR/ABL транскрипта до рівня ВМВ – у 53 % [14]. Це обумовлено переважанням в групі спостереження передлікованих пацієнтів. У нашій роботі найкращі результати терапії (більша кількість пацієнтів з ПЦВ і ВМВ) були отримані при призначенні ІМ не пізніше 6 місяця після діагностування захворювання. У цій же групі пацієнтів було вірогідно менша кількість випадків первинної резистентності до ІМ.

Ці дані узгоджуються з результатами оцінки ефективності лікування імаїнібом неопромінених пацієнтів з ХМЛ залежно від тривалості передлікованості (гідроксисечовиною, інтерфероном, бусульфаноном) у роботах інших авторів [15, 16] і підтверджують, що ефективність терапії ІТК безпосередньо залежить від часу, що пройшов між встановленням діагнозу ХМЛ і призначенням ІТК.

Привертає увагу переважання випадків розвитку вторинної резистентності у пацієнтів з ХМЛ, які в анамнезі мають радіаційний вплив (25 % пацієнтів). З одного боку, найбільш частий механізм резистентності пов'язаний з виникнення мутацій кіназного домену гена *BCR/ABL*. При цьому мутуючим фактором є сама *BCR/ABL*-тирозинкіназа. Чим довше клітина знаходиться під її впливом, тим більше шансів на виникнення мутацій в тому числі гена *BCR/ABL*. Цей факт може бути підґрунтям підвищення резистентності до терапії ІТК у пацієнтів, котрі тривало отримували лікування іншими препаратами. Враховуючи те, що радіаційний фактор так або інакше сприяє появі геномної нестабільності [17], можна припустити, що збільшення частоти вторинної резистентності пов'язано з попередньою дестабілізацією геному під впливом іонізуючого випромінювання.

З іншого боку, цитогенетична і молекулярна ремісія є результатом контролю з боку імунної системи над залишковим пухлинним клоном. Якщо цей контроль не збалансований, то резидуальні клітини починають проліферувати, що призводить до наростання пухлинного клону і розвитку рецидиву. Оскільки, кліти-

study group) without CCR by 12 months still got complete cytogenetic response and major molecular response later after the treatment was continued with higher doses of imatinib, although depth of response (reach of MMR) was lower in the irradiated group compared to the control group.

Our results are different from those obtained during the randomized international study IRIS, where 69 % of patients with CML treated with imatinib had reached the CCR by 12 months of therapy and 53 % had demonstrated a reduction of BCR/ABL expression to the level of MMR [14]. Such difference is caused by the prevalence of pretreated patients in our study group. As it was mentioned above, we observed the highest number of CCR and MMR when imatinib was prescribed less than 6 month after the CML diagnosis. Moreover, this group had a significantly lower frequency of primary resistance to imatinib.

Our data align with the analysis of imatinib efficiency in CML patient treatment depending on the length of pretreatment with hydroxyurea, interferon, or bisulphan done by other authors [15,16]. The data provide additional evidence that the efficiency of the therapy is directly dependent on the length of time interval between CML diagnosis and beginning of TKI therapy.

It is worth noting that the cases of the secondary resistance to therapy prevail in CML patients who were previously exposed to ionizing radiation (25 %). On the one hand, the most common mechanism of resistance is related to mutation of *BCR/ABL* kinase domane. *BCR/ABL*-tyrosine kinase itself is a mutating factor. The longer the cell in under its influence, the more probable are mutations in the genetic material, including *BCR/ABL* gene. This mechanism can explain increased resistance to TKI therapy in patients who were pretreated by other medicine for long periods of time. Considering that radiation factor induces genome instability [17], we can assume that the increased rate of the secondary resistance in the studied group is caused by prior genome destabilization under ionizing radiation.

On the other hand, cytogenetic and molecular remissions result from control of the immune system over the residual tumor clones. If this control is not balanced, the residual cells start to proliferate which causes tumor clone growth and relapse. Because immune cells are very sensitive

ни імунної системи є критичними до впливу іонізуючого випромінювання [18], дія радіаційного чинника може призвести до послаблення імунологічного нагляду і, як наслідок, до втрати стабільного контролю над залишковим пухлинним клоном.

Цей факт свідчить про перспективність поглибленого дослідження даної групи пацієнтів в контексті вивчення генетичних та імунологічних механізмів формування резистентності до терапії ІТК. Отримані дані дають також підставу вважати за доцільне застосування комбінації ІТК з імуномодулюючими препаратами для стабілізації ремісії у пацієнтів з ХМЛ, які зазнали радіаційного опромінення в результаті аварії на ЧАЕС. Краще розуміння механізмів регулювання розвитку резистентності, виникнення мутацій, генетичної нестабільності та систем репарації ДНК дозволять розробити нові підходи до підвищення ефективності терапії пацієнтів з ХМЛ.

ВИСНОВКИ

Аналіз ефективності лікування ІТК пацієнтів з хронічною мієлоїдною лейкемією, які постраждали внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС, показав наступне:

1. У пацієнтів з ХМЛ, які зазнали впливу іонізуючого випромінювання, в дебюті захворювання не було виявлено збільшення частоти появи додаткових хромосомних порушень. Розподіл за типами BCR/ABL транскриптів відповідає такому у групі пацієнтів без радіаційного анамнезу.
2. До 12-го місяця терапії іматинібом повна цитогенетична відповідь була отримана у 35,7 % пацієнтів, а велика молекулярна відповідь – у 8,3 %. Найкращі результати досягнення ПЦВ і БМВ виявлені у пацієнтів з терміном предлікованості до 6 місяців, у яких іматиніб використовувався як терапія першої лінії. Тобто раціональна терапія ХМЛ можлива лише при скороченні термінів між діагностикою та призначенням препарату.
3. У пацієнтів з ХМЛ (опромінених і неопромінених), яким іматиніб було призначено не пізніше 6 місяців від початку захворювання, виявлено вірогідно меншу кількість випадків первинної резистентності до іматинібу.
4. У пацієнтів з ХМЛ, які в анамнезі мають радіаційний вплив, вторинна резистентність (втрата досягнутої цитогенетичної і/або молекулярної відповіді в процесі лікування іматинібом) розвивалася частіше порівняно з контрольною групою і становила 25 %.

to ionizing radiation [18], the impact of radiation factor can significantly reduce the immune supervision and as a consequence may cause the loss of stable immune control over the residual tumor clone.

These data suggest new perspectives on advanced studies of the irradiated patients with CML in context of discovery of new genetic and immunologic mechanisms of resistance to TKI therapy. Our data also give reason the use of TKI therapy in combination with immunomodulating medicine to stabilize remission in the patients who were exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl NPP accident. Better understanding of the mechanisms of resistance development, appearance of mutations, genetic instability and DNA repair will allow to develop new approaches in increasing the therapy efficiency for CML patients.

CONCLUSIONS

Analysis of the effectiveness of treatment TKI patients with chronic myeloid leukemia who suffered from the Chernobyl accident showed the following:

1. CML patients with radiation exposure in anamnesis did not have a higher frequency of additional chromosomal aberrations at the time of CML diagnostics. Pattern of the BCR/ABL transcript types was not different from those in patients without radiation exposure.
2. Complete cytogenetic response was achieved in 35.7 % and major molecular response was observed in 8.3 % of patients by 12th month of imatinib therapy. The best results in achieving CCR and MMR were shown in patients who were pretreated for less than 6 months and (imatinib was used as a first line therapy). Therefore, the rational CML therapy is only possible after shortening of the time interval between diagnostics and TKI treatment initiation.
3. Among both irradiated and unirradiated CML patients who received imatinib no later than 6 months after CML diagnostics, a significantly less number of primary imatinib resistant patients were observed.
4. CML patients with exposure to ionizing radiation in the anamnesis developed more often (25 %) the secondary resistance (loss of achieved cytogenetic and/or molecular response during imatinib treatment) than patients of comparison group.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Hehlmann R. Chronic myeloid leukaemia/ R. Hehlmann, A. Hochhaus, M. Baccarani // *Lancet*. – 2007. – Vol. 370. – P. 342–350.
2. Quintas-Cardama A. Molecular biology of BCR-ABL1-positive chronic myeloid leukemia / A. Quintas-Cardama, J. Cortes // *Blood*. – 2009. – Vol. 113. – P. 1619–1630.
3. International randomized study of interferon versus STI571 (IRIS) 7-year follow-up: Sustained survival, low rate of transformation and increased rate of major molecular response (MMR) in patients (pts) with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) treated with imatinib (IM) / S. G. O'Brien [et al.] // *Blood*. – 2008. – Vol. 112. – P. 76.
4. Radiation and the risk of chronic lymphocytic and other leukemias among Chernobyl cleanup workers / L. Zablotska, D. Bazyka, J. Lubin [et al.] // *Environ. Health Perspect.* – 2013. – Vol. 121, No. 1. – P. 59–65.
5. Molecular and clinical features of chronic lymphocytic leukemia with stereotyped B-cell receptors in a Ukrainian cohort / N. Bilous, R. Bomben, M. Dal [et al.] // *Leuk. Lymphoma*. – 2010. – Vol. 51, No. 5. – P. 822–838.
6. Radiation and myeloproliferative disease / V. Bebeshko, I. Dyagil, I. Dmytrenko [et al.] // *Health effects of the Chernobyl accident – a quarter of century aftermath* / editors A. Serdiuk, V. Bebeshko, D. Bazyka [et al.]. – Kyiv : DIA, 2011. – P. 128–139.
7. Shaffer L. An international system for human cytogenetic, Nomenclature 2013 / L. Shaffer, J. McGovan-Jordan, M. Schmid // *Basel : Karger*, 2013. – 140 p.
8. Chomczynski P. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction / P. Chomczynski, N. Sacchi // *Analyt. Biochem.* – 1987. – Vol. 162, No. 1. – P. 156–159.
9. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease / J. M. van Dongen, E. A. Macintyre, J. A. Gabert, [et al.] // *Leukemia*. – 1999. – Vol. 13, No. 12. – P. 1901–1928.
10. Monitoring the response and course of chronic myeloid leukemia in the modern era of BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors: Practical advice on the use and interpretation of monitoring methods / H. Kantarjian, Ch. Schiffer, D. Jones, J. Cortes // *Blood*. – 2008. – Vol. 111, No. 4. – P. 1774–1779.
11. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013 / M. Baccarani, M. Deininger, G. Rosti [et al.] // *Blood*. – 2013. – Vol. 122, No. 6. – P. 872–884.
12. Cytogenetic and molecular responses and outcome in chronic myelogenous leukemia / H. Kantarjian, S. O'Brien, J. Shan [et al.] // *Cancer*. – 2008. – Vol. 112, No. 4. – P. 837–845.
13. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet / M. Baccarani, J. Cortes, F. Pane [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2009. – Vol. 27, No. 35. – P. 6041–6050.
14. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia / B. Druker, F. Guilhot, S. G. O'Brien [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2006. – Vol. 355. – P. 2408–2417.

REFERENCES

1. Hehlmann R, Hochhaus A, Baccarani M; European LeukemiaNet. Chronic myeloid leukaemia. *Lancet*. 2007 Jul 28;370(9584):342-50.
2. Quintas-Cardama A, Cortes J. Molecular biology of BCR-ABL1-positive chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2009;113(8):1619-30.
3. O'Brien SG, Guilhot F, Goldman JM, Rudoltz MS, Richard AL, Jerald PR, et al. International randomized study of interferon versus STI571 (IRIS) 7-year follow-up: Sustained survival, low rate of transformation and increased rate of major molecular response (MMR) in patients (pts) with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) treated with imatinib (IM). *Blood*. 2008;112(11):76. Abstract 186.
4. Zablotska LB, Bazyka D, Lubin JH, Gudzenko N, Little MP, Maureen H, et al. Radiation and the risk of chronic lymphocytic and other leukemias among Chernobyl cleanup workers. *Environ Health Perspect*. 2013 Jan;121(1):59-65.
5. Bilous N, Bomben R, Dal BM, Capello D, Forconi F, Laurenti L, et al. Molecular and clinical features of chronic lymphocytic leukemia with stereotyped B-cell receptors in a Ukrainian cohort. *Leuk. Lymphoma*. 2010;51(5):822-38.
6. Bebeshko V, Dyagil I, Dmytrenko I, Sholoyko V, Fedorenko V, Misharina Zh, et al. Radiation and Myeloproliferative disease. In: Serdiuk A, Bebeshko V, Bazyka D, et al., editors. *Health effects of the Chernobyl accident – a quarter of century aftermath*. Kyiv: DIA; 2011. p. 128-139.
7. Shaffer L, McGovan-Jordan J, Schmid M. An international system for human cytogenetic, Nomenclature 2013. Basel: Karger; 2013. 140 p.
8. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*. 1987 Apr;162(1):156-9.
9. Van Dongen JM, Macintyre EA, Gabert JA, Delabesse E, Rossi V, Saglio G, et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. *Leukemia*. 1999 Dec;13(12):1901-28.
10. Kantarjian H, Schiffer Ch, Jones D, Cortes J. Monitoring the response and course of chronic myeloid leukemia in the modern era of BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors: Practical advice on the use and interpretation of monitoring methods. *Blood*. 2008;111(4):1774-9.
11. Baccarani M, Deininger M, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood*. 2013;122(6):872-84.
12. Kantarjian H, O'Brien S, Shan J, Huang X, Garcia-Manero G, Faderl S, et al. Cytogenetic and molecular responses and outcome in chronic myelogenous leukemia. *Cancer*. 2008;112(4):837-45.
13. Baccarani M, Cortes J, Pane F, Niederwieser D, Saglio G, Apperley J, et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts

15. Busulfan exposure decrease CCyR rate on imatinib therapy – impact on recent pretreatment / I. Dyagil, E. Lomaia, K. Abdulkadirov [et al.] // Blood (ASH Annual Meeting Abstracts). – 2011. – Vol. 118. – Abstract 4452.
16. Вивчення ефективності лікування хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію іматинібом / Т. П. Перехрестенко, І. С. Дягіль, Н. М. Третяк. [та ін.] // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. – 2013. – Вип. 22, кн. 2. – С. 297–302.
17. Цитогенетичні ефекти / М. А. Пілінська, С. С. Дибський, О. В. Шеметун // Медичні наслідки Чорнобильської катастрофи: 1986-2011 : монографія / за ред. А. М. Сердюка, В. Г. Бебешка, Д. А. Базики. – Тернопіль : ТДМУ, Укрмедкнига, 2011. – С. 248–269.
18. Імунологічні ефекти / Д. А. Базика, А. А. Чумак, І. М. Ільєнко [та ін.] // Медичні наслідки Чорнобильської катастрофи: 1986-2011 : монографія / за ред. А. М. Сердюка, В. Г. Бебешка, Д. А. Базики. – Тернопіль : ТДМУ, Укрмедкнига, 2011. – С. 270–343.
- and management recommendations of European LeukemiaNet. J Clin Oncol. 2009 Dec 10;27(35):6041-51.
14. Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, Gathmann I, Kantarjian H, Gattermann N, et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. N Engl J Med. 2006 Dec 7;355(23):2408-17.
15. Dyagil I, Lomaia E, Abdulkadirov K, Goryunova E, Lazorko N, Romanova E, et al. Busulfan Exposure Decrease CCyR Rate On Imatinib Therapy – Impact On Recent Pretreatment. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts). 2011;118:Abstract 4452.
16. Perekhrestenko TP, Dyagil IS, Tretyak NM, Dmytrenko IV. [Study of imatinib treatment efficiency in patients with chronic myeloid leukemia]. Zbirnyk naukovykh prats NMAAE by P. L. Shupik. 2013;22 (book 2):297-302. Ukrainian.
17. Pilinska MA, Dybsky SS, Shemetun OV. [Cytogenetic effects]. In: Serdiuk AM, Bebeshko VG, Bazyka DA, editors. [Medical consequences of the Chornobyl catastrophe: 1986-2011]. Ternopil: TDMU, Ukrmedknyha; 2011. p. 248-69. Ukrainian.
18. Bazyka DA, Chumak AA, Illenko IM, Golyarnik NA, Pleskach OY, Abramenko IV, et al. [Immunologic effects]. In: Serdiuk AM, Bebeshko VG, Bazyka DA, editors. [Medical consequences of the Chornobyl catastrophe: 1986-2011]. Ternopil: TDMU, Ukrmedknyha; 2011. p. 270-343. Ukrainian.

Стаття надійшла до редакції 4.08.2014

Received: 4.08.2014