

УДК 616.155.392:575.113:615.1:614.876

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

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

ОЦІНКА ВІДПОВІДІ НА ТЕРАПІЮ ІМАТИНІБОМ У ПАЦІЄНТІВ З ХРОНІЧНОЮ МІЄЛОЇДНОЮ ЛЕЙКЕМІЄЮ З e13a2 ТА e14a2 ТРАНСКРИПТАМИ ГЕНА *BCR/ABL1*

Мета – дослідження впливу e13a2 та e14a2 транскриптів гена *BCR/ABL1* на ефективність терапії іматинібом у хворих на хронічну мієлоїдну лейкемію.

Матеріали і методи. Обстежено 508 пацієнтів з хронічною фазою хронічної мієлоїдної лейкемії без радіаційного анамнезу, а також 13 пацієнтів з таким же діагнозом, у яких було документально підтверджено наявність радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС.

Результати. Не виявлено значущих розбіжностей у гематологічних показниках, рівні додаткових хромосомних аберацій та частоті варіантних транслокацій між пацієнтами, у яких експресувалися транскрипти e13a2 та e14a2. Кумулятивна вірогідність повної цитогенетичної відповіді не відрізнялась у пацієнтів з e13a2 та e14a2 транскриптом і складала 76 та 80 %, відповідно ($p = 0,981$). Медіана часу досягнення повної цитогенетичної відповіді – 20 місяців у обох групах. Серед пацієнтів з e14a2 вірогідно більша частина до 12-го місяця терапії отримала велику молекулярну відповідь (61,5 % проти 23,0 %, $p = 0,016$). А до 24-го місяця саме в цій групі пацієнтів реєструвалося більше випадків глибокої молекулярної відповіді (38,7 % проти 6,25 %, $p = 0,018$). Не виявлено статистично значущих відмінностей у загальній виживаності та у виживаності без прогресії у пацієнтів з різними типами транскриптів. Безподійна виживаність у пацієнтів з e13a2 транскриптом була вірогідно нижча порівняно з пацієнтами з e14a2 транскриптом (52 % проти 61,0 %, $p = 0,039$). Кількість первинно резистентних пацієнтів не залежала від типу транскрипту і складала понад 40 %. У пацієнтів з e13a2 транскриптом було виявлено статистично вірогідне переважання випадків втрати досягнутої повної цитогенетичної відповіді або недосягання великої молекулярної відповіді (43,5 % проти 24,8 %, $p = 0,015$).

Висновки. Терапія іматинібом є більш ефективною у хворих на ХМЛ з e14a2 транскриптом порівняно з пацієнтами із e13a2 транскриптом. Транскрипт e13a2 можна розглядати як несприятливий прогностичний фактор при терапії іматинібом у пацієнтів з хронічною фазою хронічної мієлоїдної лейкемії.

Ключові слова: хронічна мієлоїдна лейкемія, транскрипти e13a2 та e14a2, іматиніб, цитогенетична та молекулярна відповідь, ефективність лікування, іонізуюче випромінювання.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2015. Вип. 20. С. 328–340.

✉ Дмитренко Ірина Віталіївна, e-mail: iryna.v.dmytrenko@gmail.com

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 National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Melnikova str., 53, Kyiv, 04050, Ukraine

Assessment of response to imatinib therapy in patients with chronic myeloid leukemia with e13a2 and e14a2 transcripts of *BCR/ABL1* gene

Objective. Assess the influence of e13a2 and e14a2 transcripts of *BCR/ABL1* gene on the efficiency of imatinib therapy in patients with chronic myeloid leukemia.

Materials and methods. We examined 508 patients with the chronic phase of chronic myeloid leukemia without radiation in anamnesis as well as 13 patients with the similar diagnosis and with confirmed presence of radiation exposure due to the Chernobyl Nuclear Power Plant accident.

Results. No significant differences in hematologic parameters, rate of additional chromosomal aberrations and variant translocations were observed between patients with e13a2 and e14a2 transcript. Cumulative probability of complete cytogenetic response did not differ in patients with e13a2 and e14a2 transcript and was 76 and 80 % respectively ($p = 0.981$). Median of achieving a complete cytogenetic response was 20 months in both patient groups. Significantly more patients with e14a2 transcript compared to patients with e13a2 achieved major molecular response by 12 month of therapy (61.5 % versus 23.0 %, $p = 0.016$). The higher incidence of deep molecular response by 24 month of therapy was revealed in this group (38.7 % versus 6.25 %, $p = 0.018$). The overall survival and progression-free survival rates were not statistically different between two groups with different transcripts. However, the rate of event-free survival was statistically lower for the patients with e13a2 transcript compared to the ones with e14a2 transcript (51 % versus 62.0 %, $p = 0.039$). The number of primary resistant patients was 40 % regardless of the transcript expressed. A significant prevalence in incidence either of lost complete cytogenetic response or failure of the major molecular response was shown in patients with e13a2 transcript compared to patients with e14a2 transcripts (43.5 % versus 24.8 %, $p = 0.015$).

Conclusion. Imatinib therapy is more effective for CML patients with e14a2 transcript compared to patients with e13a2 transcript expression. The transcript e13a2 can be viewed as a adverse prognostic factor for imatinib therapy of chronic myeloid leukemia.

Key words: chronic myeloid leukemia, e13a2 and e14a2 transcripts, imatinib, cytogenetic and molecular response, therapy efficiency, ionizing radiation.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2015;20:328-340.

ВСТУП

В основі патогенезу хронічної мієлоїдної лейкемії (ХМЛ) лежить поява реципрокної транслокації між 9-ю і 22-ю хромосомами. Внаслідок цього частина протоонкогену *ABL1*, розташованого на хромосомі 9, розміщується поруч з ділянкою гена *BCR* на хромосомі 22, що призводить до утворення химерного гена *BCR/ABL1* на хромосомі 22 [1]. Залежно від місця розриву можливе утворення декількох форм онкобілка *BCR/ABL1*, які асоціюються з різними типами лейкемії. Якщо розрив у гені *BCR* відбувається у головному кластері (M-bcr), що містить екзони 13 та 14 (b2 та b3), залежно від сайту розриву в результаті альтернативного сплайсингу можуть утворюватися транскрипти b2a2 (e13a2) або b3a2 (e14a2). Обидва кодують білок *BCR/ABL1* з молекулярною масою 210 кДа і виявляються у 90 % ви-

INTRODUCTION

Reciprocal translocation between chromosome 9 and chromosome 22 is the underlying cause for pathogenesis of chronic myeloid leukemia (CML). As a result of such translocation, a portion of the proto-oncogene *ABL1* from chromosome 9 becomes adjacent to the portion of gene *BCR* from chromosome 22, which causes formation of a new fusion gene *BCR/ABL1* on chromosome 22 [1]. Depending on the breakpoint location, multiple forms of oncoprotein *BCR/ABL1* can be produced. Different forms of this protein are associated with different types of leukemia. If breakpoint is in the major cluster of *BCR* (M-bcr) which contains exons 13 and 14 (b2 and b3), transcripts b2a2 (e13a2) or b3a2 (e14a2) can be produced depending on the outcome of alternative splicing. Both transcripts encode the

падків ХМЛ. Якщо точка розриву знаходиться в мінорному кластері гена *BCR* (m-bcr), утворюється e1a2 транскрипт, який транслюється у химерний білок з молекулярною масою 190 кДа. Такий варіант *BCR/ABL1* транскрипту є характерним для гострої лімфобластної лейкемії, але в зрідка виявляється також при ХМЛ. Описані також інші унікальні транскрипти і випадки одночасної коекспресії двох різних транскриптів [2].

На сьогодні питання про прогностичне значення найбільш поширених при ХМЛ транскриптів b2a2 (e13a2) або b3a2 (e14a2) залишається відкритим. З одного боку, *in vivo* на мишачій моделі була показана схожа лейкемогенна активність обох транскриптів (оцінювали частоту розвитку лейкемій, кількість лейкоцитів, виживаність без лейкемії) [3]. З іншого боку, існує низка досліджень, результати яких досить суперечливі щодо перебігу захворювання та відповіді на терапію інгібіторами тирозинкінази (ІТК) у хворих на ХМЛ з різними типами транскрипту *BCR/ABL1* [4–6].

Не менш цікавим, на наш погляд, є вивчення впливу типу транскрипту химерного гена *BCR/ABL1* на ефективність терапії ІТК у пацієнтів з ХМЛ, які зазнали впливу іонізуючого випромінювання внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС (ЧАЕС), оскільки попередні наші дані виявили певні особливості відповіді на терапію ІТК у цього контингенту хворих [7].

МЕТА

Метою роботи було дослідження впливу e13a2 та e14a2 транскриптів гена *BCR/ABL1* на ефективність терапії імаїнібом у хворих на ХМЛ, в тому числі і у пацієнтів з ХМЛ, які зазнали впливу іонізуючого випромінювання внаслідок аварії на ЧАЕС.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Групу 1 складала 508 пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ, які отримували терапію імаїнібом і знаходились під наглядом у відділенні радіаційної онкогематології і трансплантації стовбурових клітин Інституту клінічної радіології ННЦРМ. З них 237 (46,7 %) чоловіків та 271 (53,3 %) – жінка. Медіана віку пацієнтів на час встановлення діагнозу складала 42 роки (від 18 до 71 року). Діагностика лейкемій базувалася на оцінці клінічної симптоматики та результатів морфологічних, цитогенетичних і молекулярно-генетичних досліджень кісткового мозку та периферичної крові. До групи спостереження включали лише пацієнтів, у яких експресувалися e13a2 або

BCR/ABL1 protein (210 kDa) and are found in 90 % of CML cases. If the breakpoint is in the minor cluster of *BCR* (m-bcr), transcript e1a2 is produced and translated into a fusion protein with molecular mass of 190 kDa. This variant of *BCR/ABL1* is specific for acute lymphoblastic leukemia, but is rarely found in CML patients. Other unique transcripts and cases of coexpression of two different transcripts are also described in the literature [2].

Today the prognostic value of the most common CML transcripts b2a2 (e13a2) and b3a2 (e14a2) is not fully understood. On the one hand, *in vivo* mouse model studies suggest similar leukemogenic activity of both transcripts (frequency of leukemia development, number of leukocytes and survival rates without leukemia were assessed) [3]. On the other hand, there is number of studies with controversial results concerning a disease course and tyrosine kinase inhibitors (TKI) therapy response in CML patients with different *BCR/ABL1* transcript type [4–6].

Another area of potential research is study of the effect of the transcript type of *BCR/ABL1* on the efficiency of TKI therapy in CML patients who were exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl nuclear power plant (NPP) accident. This question is of a special interest for us since our previous studies revealed certain differences in TKI therapy response among these patients [7].

OBJECTIVE

This study focused on the effect of the e13a2 and e14a2 transcripts of *BCR/ABL1* gene on the efficiency of imatinib therapy in CML patients, including the patients exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl NPP accident.

MATERIALS AND METHODS

Group 1 was comprised of 508 patients with chronic phase of CML who were treated with imatinib and were under the observation in the Department of Radiation Hematology and Stem Cells Transplantation of NRCRM NAMS of Ukraine. The group included 237 male (46.7 %) and 271 female (53.3 %). Median age of the patient at the time of diagnosis was 42 years (ranged from 18 to 71 years). Leukemia was diagnosed based on assessment of the clinical symptoms and results of morphologic, cytogenetic, and molecular tests on bone marrow and peripheral blood. Only the patients who expressed either e13a2 or e14a2 transcripts of *BCR/ABL1* gene

e14a2 BCR/ABL1-транскрипти. Пацієнтів з рідкісними типами транскриптів та коекспресією декількох транскриптів із дослідження було виключено.

Більша частина пацієнтів отримували попереднє лікування різними препаратами (гідроксисечовина, бусульфан, інтерферон). Тривалість передлікованості становила від 1 до 238 місяців (медіана 12 міс.). У 189 пацієнтів (37,2 %) імаїніб було призначено протягом перших 6 місяців від дати встановлення діагнозу, у 218 (42,9 %) – протягом 6-36 місяців та у 101 пацієнтів (19,9 %) період передлікованості перевищував 36 місяців.

Стартова стандартна доза імаїнібу складала 400 мг на добу. У випадку втрати досягнутої цитогенетичної чи молекулярної відповіді дозу препарату збільшували до 600–800 мг на добу. 110 пацієнтів у зв'язку з неефективністю імаїнібу були переведені на лікування ІТК 2-го покоління – нілотинібом у дозі 800 мг на добу.

Групу 2 складала 13 пацієнтів, які зазнали дії іонізуючого опромінення внаслідок аварії на ЧАЕС. Серед них 8 осіб були учасниками ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС у 1986–1988 рр., 1 – евакуйований у 1986 р. і 4 – жителі зони посиленого радіоекологічного контролю. Медіана віку пацієнтів цієї групи на час встановлення діагнозу складала 43 роки (від 29 до 69 років). Медіана часу від встановлення діагнозу до призначення імаїнібу складала 11 місяців (від 1 до 66 міс.). Розподіл за статтю був таким: 6 чоловіків та 7 жінок. За статтю, віком, клініко-гематологічними характеристиками на момент встановлення діагнозу та тривалістю передлікованості група 2 була подібною до групи 1. При встановленні діагнозу виконували цитогенетичне дослідження методом каріотипування хромосом з диференційним G-зabarвленням, не менше 20 метафаз на зразок, як описано раніше [8]. Цитогенетичний моніторинг пацієнтів проводили згідно з рекомендаціями ELN 2013 кожні 3 місяці до досягнення повної цитогенетичної відповіді, а потім 1 раз на рік [9]. Для молекулярного моніторингу використовували метод кількісної полімеразно-ланцюгової реакції у реальному часі. Аналізували співвідношення кількості копій гена *BCR/ABL1* до кількості копій гена *ABL1*, виражене у відсотках. Дослідження проводили з інтервалом 3-6 місяців до досягнення великої молекулярної відповіді (ВМВ), а потім 1 раз на рік [9].

Оцінку відповіді на терапію проводили згідно з критеріями ELN 2013 [9, 10]. Повною цитогенетичною відповіддю (ПЦВ) вважали відсутність Ph-позитивних клітин у кістковому мозку. Критерієм ВМВ був рівень експресії *BCR/ABL1* менше 0,1 %. Глибока

were included in the group. Patients with rare transcript expression or coexpression of multiple transcripts were excluded from the study.

The majority of the patients were pre-treated with various drugs (hydroxyurea, busulfan, interferon) prior to the starting of imatinib therapy. The length of the pre-treatment stage was from 1 to 238 months (median 12 months). 189 patients (37.2 %) received imatinib within 6 months after diagnosis of CML. Another 218 patients (42.9 %) had a pre-treatment period of 6 to 36 months and 101 patients (19.9 %) were pre-treated for over 36 months.

Start standard imatinib dose was 400 mg/day. In case of loss of the previously achieved cytogenetic or molecular response the dose was escalated to 600–800 mg/day. 110 patients were switched to the second-generation TKI (nilotinib) at 800 mg/day due to inefficiency of the imatinib treatment.

Group 2 was comprised of 13 patients who were exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl NPP accident. Eight of them were cleanup workers in 1986–88 after Chernobyl accident, one was evacuated in 1986, and four live in the zone with enhanced radiation control. Median age of the patients in this group at the time of diagnosis was 43 years (from 29 to 69 years). Median time from diagnosis to imatinib therapy was 11 months (from 1 to 66 months). The group had 6 males and 7 females. Groups 1 and 2 were similar in age, sex ratio, clinical-hematologic parameters and pre-treatment period at the time of diagnosis. Diagnostic procedures included cytogenetic testing by karyotyping of chromosomes with G-banding, at least 20 metaphases per sample as previously described [8]. Cytogenetic monitoring was performed according to recommendations of ELN 2013: every 3 month until the complete cytogenetic response (CCyR) and then once a year [9]. Molecular monitoring was performed using real-time quantitative PCR. We analyzed percent ratio of the number of copies of *BCR/ABL1* to that of *ABL1*. The tests were performed with 3-6 months intervals until the major molecular response (MMR) was achieved, and then once a year [9].

The therapy response was analyzed according to ELN 2013 criteria [9, 10]. Complete cytogenetic response (CCyR) was defined as absence of Ph-positive cells in the bone marrow. MMR was defined as *BCR/ABL1* expression level lower than 0.1 %.

молекулярна відповідь (МВ4) фіксувалася при рівні експресії *BCR/ABL1* менше 0,01 %, або відсутності експресії *BCR/ABL1* за умови, що кількість копій контрольного гена *ABL1* була не менше 10 000 [9].

Первинну резистентність визначали через 6 місяців, якщо кількість Ph-позитивних клітин перевищувала 35 % та/або рівень транскрипту *BCR/ABL1* був більший за 10 %, через 12 місяців – як відсутність ПЦВ та/або рівень транскрипту *BCR/ABL1* > 1 %. Вторинною резистентністю вважали втрату досягнутої повної гематологічної, цитогенетичної і/або великої молекулярної відповіді чи прогресію захворювання під час лікування ІТК [9].

Прогресією вважали трансформацію до фази акселерації або бластної кризи.

Вірогідність загальної виживаності (OS), виживаності без прогресії (PFS) та безподійної виживаності (EFS) розраховували за методом Kaplan-Meier. PFS визначали як виживаність без ознак фази акселерації або бластної кризи. Подією при розрахунку вірогідності EFS вважали смерть під час лікування за будь-яких причин, прогресію та втрату досягнутої ПЦВ. Розбіжності між підгрупами оцінювали за допомогою log-rank та χ^2 -тесту. Кумулятивну вірогідність ПЦВ, ВМВ та МВ4 оцінювали методом Kaplan-Meier. ПЦВ, ВМВ та МВ4 були подіями, що аналізують, а дані про пацієнтів, які не отримали адекватної відповіді, були переведені на інший ІТК, померли або зпрогресували, цензурували за останньою датою спостереження. Статистичну обробку даних проводили з використанням статистичного пакету SPSS Statistics 21 та таблиць Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ

Серед 508 обстежених пацієнтів з групи 1 у 192 (37,8 %) пацієнтів реєстрували транскрипт e13a2, у 316 (62,2 %) – транскрипт e14a2. Для всіх пацієнтів було проаналізовано взаємозв'язок між типом транскрипту *BCR/ABL1* та клініко-гематологічними даними, а саме віком, статтю, кількістю лейкоцитів, тромбоцитів та концентрацією гемоглобіну на час встановлення діагнозу ХМЛ, а також тривалістю попередньої терапії до призначення імаїнібу.

Загальна клінічна характеристика групи 1 пацієнтів на час встановлення діагнозу ХМЛ наведена в табл. 1.

Підгрупи пацієнтів, у яких експресувалися транскрипти e13a2 і e14a2, не розрізнялися за віком, статтю та часом передлікованості. Аналіз показників крові під час встановлення діагнозу ХМЛ не виявив значущих розбіжностей у рівні лейкоцитів, тромбоцитів та гемоглобіну. Рівень додаткових хромосомних аберацій

Molecular response 4 log (MR4) was defined as *BCR/ABL1* expression level of less than 0.01 % or undetectable *BCR/ABL1*, but only if the number of copies of the control *ABL1* gene exceeded 10,000 [9].

Primary resistance was determined if number of Ph-positive cells exceeded 35 % and/or the level of *BCR/ABL1* transcript was >10 % after 6 months of imatinib treatment; or in case of no CCyR and/or the *BCR/ABL1* transcript level of >1 % after 12 months of imatinib treatment. Secondary resistance was defined as a loss of previously achieved complete hematologic, cytogenetic, and/or major molecular response, or disease progression during TKI therapy [9].

Disease progression was defined as transformation to accelerated phase or blast crisis.

Probability of overall survival (OS), progression-free survival (PFS) and event-free survival (EFS) were calculated using Kaplan-Meier method. PFS was defined as survival without signs of acceleration or blast crisis. During the calculation of EFS an event was defined as death of a patient on treatment for any reason, progression of disease, or loss of CCyR. Differences between groups were assessed using log-rank and χ^2 tests. Cumulative probability of CCyR, MMR, and MR4 was assessed using Kaplan-Meier test. CCyR, MMR, and MR4 were analyzed events, while the data about the patients who did not respond to treatment, were switched to a different TKI, died, or progressed, were censored according to the last date of assessment. Statistical analysis was performed using SPSS Statistics 21 and Microsoft Excel.

RESULTS AND DISCUSSION

Transcript e13a2 was detected in 192 patients (37.8 %) and e14a2 transcript – in 316 patients (62.2 %) among the 508 patients from group 1. Relationship between the type of *BCR/ABL1* transcript and clinical and hematological data, such as age, sex, number of white blood cells, platelets and hemoglobin concentration during CML diagnosis, and treatment duration prior to the appointment of imatinib were analyzed for all patients.

Summary of the patients' characteristics at CML diagnosis (group 1) is presented in table 1.

Subgroups of patients with transcripts e13a2 and e14a2 did not differ in age, sex and pretreatment time. Blood cells examination at the CML diagnosis revealed no significant differences in the rate of white blood cells, platelets and hemoglobin. The rate of additional chromosomal aberrations (ACA)

Таблиця 1
Загальна характеристика пацієнтів групи 1
Table 1
Patients' characteristics at CML diagnosis (group 1)

Показники мієлограми / myelogram indices	e13a2 (n = 192)	e14a2 (n = 316)
Вік на час встановлення діагнозу ХМЛ, медіана, роки (діапазон) Age at the CML diagnosis, median, years (range)	42 (18–70)	42 (18–71)
Стать, чоловіки/жінки Gender, male/female	98/94	139/177
Гемоглобін, г/л Hemoglobin, g/L	110,8 ± 28,2	119,3 ± 23,5
Кількість лейкоцитів, $\times 10^9$ /л (M ± SD) White blood cell count, $\times 10^9$ /L (M ± SD)	118,0 ± 88,58	116,21 ± 89,26
Кількість тромбоцитів, $\times 10^9$ /л (M ± SD) Platelet count, $\times 10^9$ /L (M ± SD)	355,88 ± 114,26	457,37 ± 329,54
Час до початку терапії іматинібом, медіана, міс (діапазон): Duration of pretreatment before imatinib, median, months (range):	12 (1–238)	11 (1–220)
> менше 6 міс., n / <6 month., n	57	111
> 6–36 міс., n / 6-36 month, n	91	144
> більше 36 міс., n / >36 month, n	44	61
Наявність додаткових хромосомних аномалій, n (%) Additional chromosomal abnormalities, n (%)	2 з 173 (1,16 %)	2 з 161 (1,24 %)
Наявність варіантної t(9;V;22), n (%) Variant translocation t(9;V;22), n (%)	3 з 173 (1,73 %)	4 з 161 (2,48 %)

(ДХА) і варіантних транслокацій t(9;V;22) не відрізнявся у пацієнтів з транскриптами e13a2 та e14a2.

Тривалість лікування іматинібом, у тому числі в дозі 600–800 мг/добу, складала від 3 до 159 міс. (Me 35 міс.).

В групі 2 серед пацієнтів, які в анамнезі мали дію іонізуючого опромінення, також не було виявлено відмінностей між клініко-демографічними особливостями маніфестації ХМЛ. Привертає увагу переважання в цій групі пацієнтів з e14a2 транскриптом (9 проти 4 з e13a2 транскриптом), але розбіжність не мала відповідного рівня статистичної значущості ($p = 0,775$).

Дослідження цитогенетичної відповіді у пацієнтів групи 1 з e13a2 і e14a2 транскриптами не виявило будь-яких відмінностей. Рівень ПЦВ через 12, 18 і 24 місяці спостереження вірогідно не відрізнявся у пацієнтів з e13a2 та e14a2 транскриптами (табл. 2). Кумулятивна вірогідність ПЦВ складала 76 і 80 % у пацієнтів з e13a2 та e14a2 транскриптом відповідно ($p = 0,981$). Медіана часу досягнення ПЦВ була однаковою в обох групах спостережень і складала 20 місяців.

Однак, аналіз рівня молекулярної відповіді показав, що серед пацієнтів з ПЦВ на 12-му місяці терапії іматинібом рівень ВМВ був вірогідно вищий у пацієнтів з e14a2 транскриптом (61,5 % проти 23,0 %,

and variant translocation t (9;V;22) did not differ in patients with e13a2 and e14a2 transcripts.

Duration of imatinib treatment, including a dose of 600-800 mg/day varied from 3 to 159 months (Me = 35 months).

In group 2 among patients who had in anamnesis confirmed presence of radiation exposure due to the Chernobyl accident, also found no difference between the clinical and demographic features of CML. There is the prevalence of patients with e14a2 transcript (9 vs 4 with e13a2 transcript) in this group, but the difference did not have the appropriate level of statistical significance ($p = 0.775$).

Research of cytogenetic response in patients with e13a2 and e14a2 transcripts from group 1 did not show any differences. CCyR rate at 12, 18 and 24 months of observation did not differ significantly in patients with e13a2 and e14a2 transcripts (table 2). Cumulative probability CCyR was 76 and 80 % in patients with e13a2 and e14a2 transcript, respectively ($p = 0.981$). The median of CCyR achievement was similar in both groups and presented 20 months.

However, analysis of the molecular response showed that among patients with CCyR at 12 months of imatinib therapy MMR rate was significantly higher in patients with e14a2 transcript (61,5 %

Таблиця 2

Рівень ПЦВ у пацієнтів з e13a2 та e14a2 транскриптами на 12, 18 та 24-й місяць спостереження

Table 2

CCyR rate in patients with e13a2 and e14a2 transcripts at 12, 18 and 24 months of observation

Тип транскрипту Transcript type	12 місяців/ months		18 місяців / months		24 місяці / months	
	кількість пацієнтів	відсоток пацієнтів з ПЦВ	кількість пацієнтів	відсоток пацієнтів з ПЦВ	кількість пацієнтів	відсоток пацієнтів з ПЦВ
	total patients	% of total patients achieving CCyR	total patients	% of total patients achieving CCyR	total patients	% of total patients achieving CCyR
e13a2	75	42,67	70	55,71	49	57,14
e14a2	152	44,07	121	56,2	73	63,01

$\chi^2 = 5,778$, $p = 0,016$). Щодо глибокої молекулярної відповіді, 38,7 % пацієнтів з e14a2 транскриптом досягли МВ4 до 24-го місяця терапії, що вірогідно більше порівняно з 6,25 % пацієнтів з транскриптом e13a2 ($\chi^2 = 5,557$, $p = 0,018$). Відсотки наведені відносно кількості пацієнтів, які мали повну цитогенетичну відповідь на 12-й та 24-й місяці терапії відповідно.

Kaplan-Meier аналіз швидкості досягнення ВМВ виявив тренд до збільшення часу до досягнення ВМВ у пацієнтів з e13a2 транскриптом порівняно з пацієнтами з e14a2 транскриптом (Me = 60 міс. проти Me = 57 міс., відповідно), однак різниця не була статистично значущою ($p = 0,066$). Кумулятивна вірогідність досягнення глибокої молекулярної відповіді МВ4 через 8 років терапії іматинібом у пацієнтів з e13a2 та e14a2 транскриптом не відрізнялась і складала 37,1 та 36,5 %, відповідно ($p = 0,148$). Незважаючи на відсутність розбіжностей у динаміці цитогенетичної відповіді, пацієнти з транскриптами e13a2 та e14a2 значно відрізняються динамікою становлення молекулярної відповіді. Серед пацієнтів з e14a2 вірогідно більша частина до 12-го місяця терапії мала редукцію пухлинного клону до рівня ВМВ. А до 24-го місяця саме в цій групі пацієнтів реєструвалося більше випадків зниження пухлинного клону до рівня МВ4 (менше 0,01 %) порівняно з пацієнтами з e13a2 транскриптом. Отримані результати свідчать про більш ефективну відповідь на терапію іматинібом у пацієнтів з e14a2 транскриптом порівняно з пацієнтами з e13a2 транскриптом.

Не було виявлено статистично значущих відмінностей у загальній виживаності (91 та 92,4 %, відповідно, $p = 0,606$, $\chi^2 = 0,266$) та у виживаності без прогресії (88,1 та 91 %, відповідно, $p = 0,239$, $\chi^2 = 1,386$) між пацієнтами з ХМЛ, у яких експресувався e13a2 або e14a2 транскрипт. В той же час безподійна виживаність у пацієнтів з e13a2 транскриптом була вірогідно нижчою порівняно з пацієнтами з e14a2 транскриптом (52 % проти 61,0 %, $p = 0,039$, $\chi^2 = 4,258$)

versus 23,0 %, $\chi^2 = 5,778$, $p = 0,016$). 38.7% of patients with e14a2 transcript achieved MR4 till the 24th month of treatment. It was significantly more in comparison with 6.25 % patients with e13a2 transcript ($\chi^2 = 5,557$, $p = 0,018$). Percentages are done concerning the number of patients who had a complete cytogenetic response after 12 (for MMR) and 24 months (for MR4) of therapy, respectively.

Kaplan-Meier analysis showed a prolongation of MMR achievement in patients with e13a2 transcript compared to patients with e14a2 transcript (Me = 60 months versus Me = 57 months, respectively). However, the difference was not statistically significant ($p = 0,066$). The cumulative probability of MR4 after 8 years of imatinib therapy did not differ between patients with e13a2 and e14a2 transcript and was 37.1 and 36.5 %, respectively ($p = 0,148$). Despite the lack of differences in the pattern of cytogenetic response the patients with e13a2 and e14a2 transcripts are significantly different in the course of molecular response formation. However, most of the patients with e14a2 had a reduction of tumor clone to the level of MMR by 12 months of therapy. And by the 24th month more cases of reduced tumor clone to the level of MV4 (less than 0.01%) were registered in that patient group vs. patients with e13a2 transcript. The results suggest a more effective response to imatinib therapy in patients with e14a2 transcript compared to patients with e13a2 transcript.

There were no significant differences in overall survival (91 and 92.4 % respectively, $p = 0,606$, $\chi^2 = 0,266$) and in progression-free survival (88.1 and 91 % respectively, $p = 0,239$, $\chi^2 = 1,386$) between patients with CML with e13a2 or e14a2 transcript. At the same time, event-free survival in patients with e13a2 transcript was significantly lower as compared to e14a2 patients (52 % vs. 61.0 %, $p = 0,039$, $\chi^2 = 4,258$) (Fig. 2). To calcu-

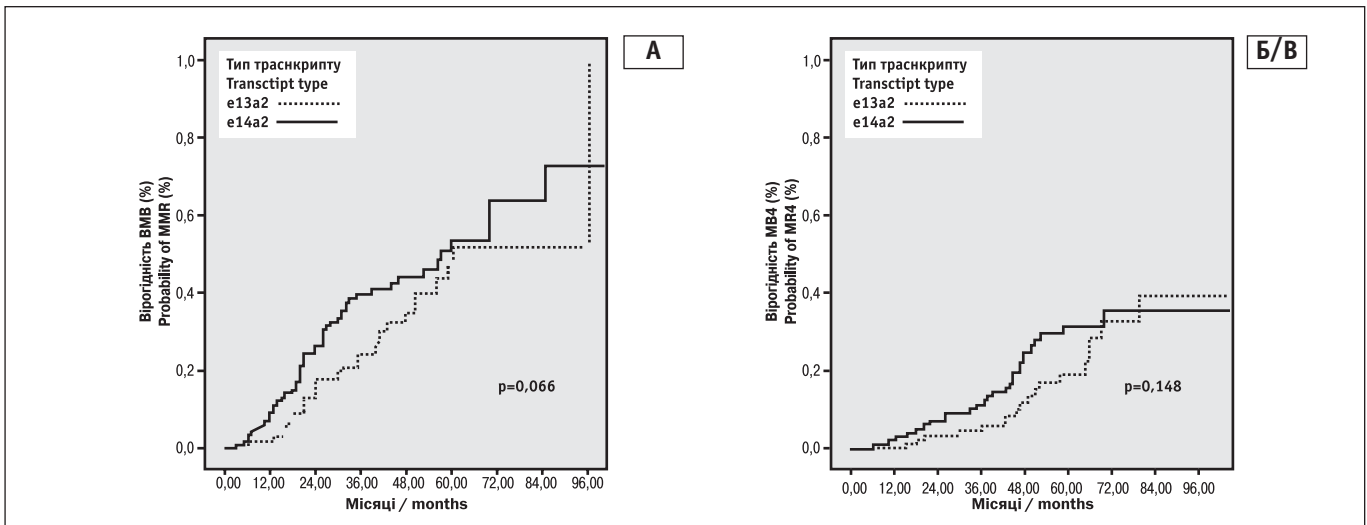


Рисунок 1. Оцінка методом Карпан-Меєр часу досягнення великої молекулярної відповіді (А) та часу досягнення глибокої молекулярної відповіді (Б) у пацієнтів з e13a2 та e14a2 BCR/ABL1-транскриптами

Figure 1. Kaplan-Meier plots: A – Kaplan Meier estimate of time to achievement of major molecular response for patients with the e13a2 and e14a2 BCR/ABL transcripts; B – Kaplan Meier estimate of time to achievement of molecular response MR4 for patients with the e13a2 and e14a2 BCR/ABL transcripts

(рис. 2). Для розрахунку безподійної виживаності враховували не тільки смерть і прогресію, але й втрату досягнутої відповіді (ми враховували лише втрату ПЦВ). Тобто, зниження вірогідності безподійного виживання у пацієнтів з e13a2 транскриптом може свідчити також про частішу втрату ПЦВ в цій групі пацієнтів, тобто збільшення випадків розвитку вторинної резистентності.

Для порівняння частоти розвитку резистентності, в групах пацієнтів з e13a2 та e14a2 типом транскрип-

late event-free survival we took into consideration not only death and progression, but also the loss of the achieved response (we recorded only the loss of CCyR). By this means, reduction of the event-free survival probability in patients with e13a2 transcript may also indicate more frequent loss of CCyR and increase the rate of secondary resistance in these patients.

To compare the incidence rate of resistance in patients with e13a2 and e14a2 transcripts we ana-

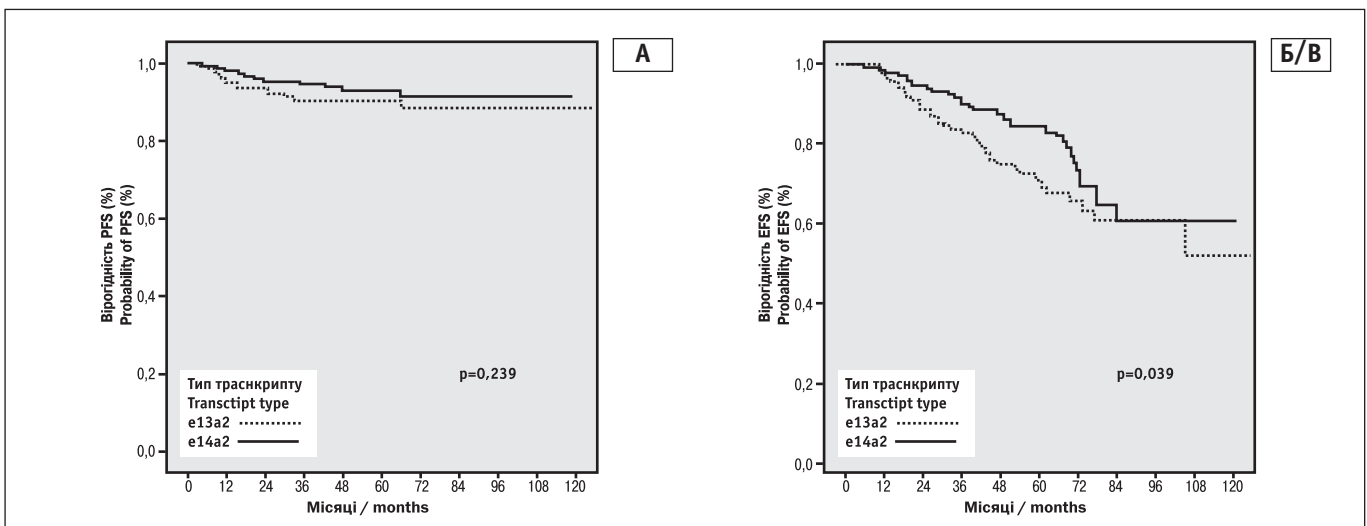


Рисунок 2. Результати Карпан-Меєр аналізу: А – вірогідність виживаності без прогресії у пацієнтів з e13a2 та e14a2 типами транскрипту, статистично значущих розбіжностей не виявлено ($p = 0,239$); Б – вірогідність безподійної виживаності у пацієнтів з e13a2 та e14a2 типами транскрипту ($p = 0,039$)

Figure 2. Kaplan-Meier analysis: A – the probability of progression-free survival in patients with e13a2 and e14a2 transcripts, no statistically significant differences were observed ($p = 0.239$); B – probability of event-free survival in patients with e13a2 and e14a2 transcripts ($p = 0.039$)

Таблиця 3

Відповідь на терапію іматинібом у пацієнтів з ХМЛ з e13a2 та e14a2 транскриптами

Table 3

Imatinib therapy response in CML patients with e13a2 and e14a2 transcripts

	Загальна кількість пацієнтів	Кількість резистентних пацієнтів відносно загальної кількості, %	χ^2	p
	Total patients	% of total patients		
Первинна резистентність / primary resistance				
e13a2	155	41,3	0,017	0,895
e14a2	267	41,9		
Вторинна резистентність / secondary resistance				
e13a2	124	24,2	2,754	0,252
e14a2	230	15,7		
Недосягнення ВМВ / failure of MMR				
e13a2	138	12,3	3,368	0,066
e14a2	251	6,4		
Вторинна резистентність або недосягнення ВМВ / secondary resistance or failure of MMR				
e13a2	108	43,5	5,948	0,015**
e14a2	214	24,8		

ту аналізували кількість випадків з первинною резистентністю, вторинною резистентністю, а також кількість випадків недосягнення ВМВ протягом більше ніж 2 роки. Результати наведені у таблиці 3.

Кількість первинно резистентних пацієнтів, у яких не вдалося досягти повної цитогенетичної відповіді протягом всього періоду спостереження, складала понад 40 % в обох досліджуваних групах. Частоти випадків вторинної резистентності та недосягнення ВМВ, розраховані окремо, хоча й були вищими в групі пацієнтів з e13a2 транскриптом, порівняно з групою пацієнтів з e14a2 транскриптом (24,2 та 12,3 % проти 15,7 та 6,4 %, відповідно), але відмінність не досягала рівня статистичної значущості. Разом з тим, у пацієнтів з e13a2 транскриптом було виявлено статистично вірогідне переважання випадків втрати досягнутої відповіді або недосягання ВМВ (43,5 % проти 24,8 %, $p = 0,015$) – так званої “нестабільної відповіді”.

У групі пацієнтів з ХМЛ, які зазнали впливу іонізуючого випромінювання внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС, підтверджувалися тенденції до більш ранньої молекулярної відповіді та кращої безподійної виживаності у пацієнтів з e14a2 транскриптом, але не вдалося провести коректний статистичний аналіз і виявити статистично значущі розбіжності у зв'язку з невеликою групою пацієнтів.

Питання про прогностичне значення e13a2 і e14a2 транскриптів гену *BCR/ABL1* залишається об'єктом дискусій з часів “до іматинібу”. Структурно транскрипт e14a2 більший за e13a2 на 75 нуклеотидів та кодує онкобілок *BCR/ABL1*, більший на 25 амінокислот [11]. Очікувано, що біохімічні зміни білка мо-

lyzed the number of cases of primary resistance, secondary resistance, and failure to achieve MMR for more than 2 years. The results are shown in Table 3.

Number of primary resistant patients who failed to achieve a complete cytogenetic response throughout the observation period, was over 40 % in both study groups. Although incidences of secondary resistance and failure of MMR, calculated separately, were higher in patients with e13a2 transcript in comparison with a group of patients with e14a2 transcript (24.2 and 12.3 % versus 15.7 and 6.4 %, respectively), the difference did not reach the level of statistical significance. However, patients with e13a2 transcript demonstrated significant prevalence of loss of response or failure of MMR (43.5 % vs. 24.8 %, $p = 0.015$) – so-called “unstable response.”

The trend towards earlier molecular response and better event-free survival in patients with e14a2 transcript was confirmed in CML patients who were exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl NPP accident. Unfortunately, appropriate statistical analysis and identification of statistically significant differences were impossible due to the small group size.

The significance of *BCR/ABL1* transcripts e13a2 and e14a2 is the subject of discussions since the “pre-imatinib” time. The transcript e14a2 is 75 nucleotides longer than e13a2. It encodes a larger oncoprotein *BCR/ABL1*, which is 25 amino acids longer than the one translated from e13a2 [11].

жуть обумовити появу його нових властивостей і специфіку клітинних взаємодій. Однак, пошук кореляцій між типом транскрипту та фенотиповим проявом захворювання (кількістю тромбоцитів і лейкоцитів, органомегалією та ін.) не дав однозначного результату. Однією з найбільш частих знахідок є кореляція транскрипту e14a2 з більш високим рівнем тромбоцитів [4, 12]. За даними В. Hanfstein зі співавторами, у пацієнтів з e13a2 транскриптом реєструвався вищий рівень лейкоцитів [4]. S. Polampalli зі співавторами вказують на асоціацію e13a2 транскрипта з розвитком бластної кризи за мієлоїдним типом [12]. Група італійських вчених виявила тільки вірогідно більшу відносну кількість еозинофілів у пацієнтів з e14a2 транскриптом [5]. В той же час інші дослідники не знаходили кореляцій з цими або іншими клініко-гематологічними параметрами під час встановлення діагнозу [6].

В нашому дослідженні 508 пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ не було виявлено статистично значущих розбіжностей між пацієнтами з транскриптами e13a2 та e14a2 у віці, статі, кількості лейкоцитів, тромбоцитів та концентрації гемоглобіну на час встановлення діагнозу ХМЛ. Цитогенетичні дослідження не виявили розбіжностей у кількості пацієнтів з додатковими хромосомними аберациями і варіантними транслокаціями у групах з транскриптами e13a2 та e14a2.

Причини невідповідності в результатах представлених досліджень можуть бути різного походження. Так, на результати можуть впливати критерії відбору пацієнтів та кількість пацієнтів, взятих до аналізу. Крім того, вирішальне значення може належати біологічним факторам. Це припущення узгоджується з результатами G. Balatzenko зі співавторами, які показали, що тип BCR/ABL1 транскрипту (а саме e14a2) корелює з гематологічними параметрами (підвищеною кількістю тромбоцитів) тільки в підгрупах пацієнтів, які характеризуються гіперекспресією гена *MDR1*. *MDR1* кодує мембранний транспортер Р-глікопротеїн (помпа відтоку). Підвищення його експресії автори зареєстрували в 49,5 % обстежених пацієнтів з ХМЛ [13].

Щодо даних про відповідь на терапію ІТК у пацієнтів з різними транскриптами гена *BCR/ABL1*, існує небагато досліджень, але їх результати також досить неоднозначні. В деяких роботах не було виявлено розбіжностей у перебігу захворювання та ефективності терапії ІТК у пацієнтів із різним типом транскрипту. Так, в рамках дослідження німецької робочої групи CML Study IV при обстеженні 1105 пацієнтів з хронічною фазою ХМЛ, у пацієнтів з e14a2 транскриптом хоча й було виявлено кращу молекулярну відповідь, але відмінностей

Protein biochemical changes may cause the appearance of its new features and new specific cellular interactions. However, the search for correlations between the transcript type and phenotypic manifestation of the disease (the number of platelets and leukocytes, organomegaly, etc.) did not provide an unambiguous result. One of the most common findings is the correlation of e14a2 transcript with higher levels of platelets [4, 12]. According to B. Hanfstein et al, higher level of white blood cells was shown in patients with e13a2 transcript [4]. S. Polampalli et al. reported association of e13a2 transcript with the development of myeloid blast crisis [12]. Group of Italian scientists found only significantly higher relative number of eosinophils in patients with e14a2 transcript [5]. At the same time, other researchers found no correlation with these or other clinical and hematological parameters during diagnosis [6].

In our study of 508 patients with chronic phase CML we did not find statistically significant differences in age, sex, number of white blood cells, platelets and hemoglobin concentration at the time of diagnosis of CML between patients with transcripts e13a2 and e14a2. Cytogenetic examination found no differences in the number of additional chromosomal aberrations and variant translocation between two groups.

Reasons for discrepancies in the presented results can be of a different origin. The results may be caused by the patients selection criteria and number of patients taken to the analysis. In addition, biological factors can play a crucial role. This assumption is concordant with the results of G. Balatzenko and colleagues, who showed that the type BCR/ABL1 transcript (namely e14a2) correlated with hematological parameters (high platelet count) only in subgroups of patients characterized by overexpression of *MDR1* gene. *MDR1* encodes a membrane transporter P-glycoprotein (efflux pump). Authors registered increased expression of *MDR1* in 49.5 % of CML patients [13].

There are a few studies of response to TKI therapy in CML patients with different BCR/ABL1 transcripts, but they present quite controversial results. In some studies differences in clinical outcome and TKI treatment efficiency in patients with different type of transcript were not revealed. Although the German CML Study IV working group found better molecular response in patients with e14a2 transcript while studying 1,105 patients with chronic phase CML, the differences in event-

у безпідйомому та загальному виживанні не спостерігалось [4]. Дослідження індійських пацієнтів ($n = 202$) показали відсутність вірогідних розбіжностей у цитогенетичній і молекулярній відповіді у пацієнтів з e13a2 та e14a2 транскриптами [12].

Група пацієнтів, які увійшли в наше дослідження, характеризувалася досить тривалим строком передлікованості ($Me = 12$ міс.), що обумовило отриманий нижчий рівень та відтермінування як цитогенетичної, так і молекулярної відповіді на терапію імаїнібом, що узгоджується з нашими попередніми дослідженнями [7]. Звертає увагу той факт, що навіть за наявності передлікованості, яка змінює патерн відповіді на терапію ІТК, в нашому дослідженні ми виявили вірогідну різницю у відповіді на терапію імаїнібом між пацієнтами з e13a2 та e14a2 транскриптами гену *BCR/ABL1*.

За результатами нашого дослідження краще відповідали на терапію імаїнібом пацієнти з e14a2 транскриптом. Хоча вони не відрізнялися динамікою ПЦВ, проте вірогідно частіше (порівняно з пацієнтами з e13a2 транскриптом) отримували ВМВ та глибоку молекулярну відповідь вже на 12-й (ВМВ) та 24-й (МВ4) місяці лікування. При аналізі таких довгострокових показників, як загальна виживаність, виживаність без прогресії та безпідйомна виживаність, пацієнти з e13a2 відрізнялись коротшою безпідйомною виживаністю. Ці дані частково узгоджуються з результатами робочої групи GIMEMA ($n = 559$) [5]. Серед наших пацієнтів-носіїв транскрипту e13a2 достовірно переважали випадки втрати досягнутої відповіді або випадки недосягнення ВМВ, що свідчить про асоціацію транскрипту e13a2 з нестабільною відповіддю на терапію імаїнібом.

Висловлюється декілька припущень щодо природи розбіжностей у відповіді на терапію імаїнібом серед пацієнтів з e13a2 та e14a2 транскриптами. С. Lucas зі співавторами вважають, що причиною може бути підвищена тирозинкіназна активність у пацієнтів з e13a2 транскриптом порівняно з пацієнтами з e14a2 транскриптом (критерієм тирозинкінасної активності слугував ступінь фосфорилування CrKL). Висловлено припущення, що стандартна доза імаїнібу недостатньо супресує високу кіназну активність у e13a2 пацієнтів, що призводить до зниження ефективності лікування пацієнтів із даним типом транскрипту [6].

На нашу думку, причиною зниження молекулярної відповіді та переважання випадків втрати отриманої відповіді або недосягання ВМВ у пацієнтів з e13a2 транскриптом може бути вибіркоче зв'язування HLA-молекулами процесованих амінокислотних

free and overall survival were not observed [4]. Research in Indian patients ($n = 202$) showed no significant differences in cytogenetic and molecular responses in patients with e13a2 and e14a2 transcripts [12].

A long-term pretreatment period ($Me = 12$ months) was the main feature of CML patients included in our study. It resulted in delay and decline of the rate of both CCyR and MMR to imatinib therapy, which is consistent with our previous studies [7]. It was noteworthy that we found a significant difference in response to imatinib therapy between patients with e13a2 and e14a2 BCR/ABL1 transcripts even under the condition of long pretreatment period that changes the pattern of response to TKI therapy.

The results of our study showed that patients with e14a2 transcript had better response to imatinib therapy. They were not notable for dynamics of CCyR, but patients with e14a2 transcript were more likely (compared to patients with e13a2 transcript) to achieve MMR and deep molecular response at the 12 (MMR) and 24 (MR4) months of treatment. Analysis of long-term outcomes such as overall survival, progression-free survival and event-free survival revealed that patients with e13a2 demonstrated shorter event-free survival. These data are consistent with the results of the GIMEMA working group ($n = 559$) [5]. Incidence of loss response and failure of MMR was significantly predominated among our patients-carriers of e13a2 transcript. This fact could indicate the association of transcript e13a2 with unstable response to imatinib therapy.

There are some assumptions about the nature of the differences in the imatinib therapy response in patients with e13a2 and e14a2 transcripts. С. Lucas and colleagues consider that the cause can lie in the enhanced tyrosine kinase activity in patients with e13a2 transcript compared to patients with e14a2 transcript (degree of phosphorylation CrKL served as a criterion of tyrosine kinase activity). It was suggested that the standard dose of imatinib was not high enough to suppress high kinase activity in e13a2 patients which ultimately resulted in reduction of the efficiency of treatment in patients with this type of transcript [6].

In our opinion, selective binding of processed amino acid fragments of the chimeric BCR/ABL1 (e14a2) peptide by HLA-molecules compared to the chimeric peptide BCR/ABL1 (e13a2) may cause the decline of molecular responses and the

фрагментів химерного BCR/ABL1 (e14a2) пептиду порівняно з химерним пептидом BCR/ABL1 (e13a2). Це призводить до ініціації імунної відповіді з подальшою переважною елімінацією клітин пухлинного клону з варіантом химерного транскрита e14a2 [14-16], що пояснює переважне носійство гібридного транскрипту e13a2 серед хворих на ХМЛ з вторинною резистентністю до терапії ІТК.

ВИСНОВОК

Таким чином, ми не виявили чітких кореляцій між типом транскрипту та будь-якими демографічними або клініко-гематологічними показниками на час встановлення діагнозу в групах спостереження. Не було виявлено відмінностей у досягненні ПЦВ серед пацієнтів з e13a2 та e14a2 транскриптами. Проте у пацієнтів з e14a2 транскриптом спостерігалась краща молекулярна відповідь вже на 12-му місяці терапії іматинібом. Для пацієнтів з транскриптом e14a2 була характерна краща безподійна виживаність, а також менший відсоток випадків втрати досягнутої цитогенетичної та/або молекулярної відповіді. Ми вважаємо, що e13a2 транскрипт можна розглядати як несприятливий прогностичний фактор при терапії іматинібом. Беручи до уваги, що однією з причин недостатньо глибокої та нестабільної відповіді на терапію іматинібом у пацієнтів з e13a2 транскриптом може бути вибіркоче розпізнавання молекулами HLA чужорідних пухлиноспецифічних антигенів BCR/ABL1, вважаємо за доцільне розглянути питання про застосування комбінації ІТК з імуномодуючими препаратами в терапії пацієнтів з e13a2 транскриптом.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Quintas-Cardama A. Molecular biology of BCR-ABL1-positive chronic myeloid leukemia / A. Quintas-Cardama, J. Cortes // *Blood*. – 2009. – Vol. 113, No. 8. – P. 1619–1630.
2. *Molecular haematology* / edited by D. Provan, J. Gribben. – London : Blackwell Publishing Ltd, 2006. – 324 p.
3. Leukemogenesis of b2a2-type p210 BCR/ABL in a bone marrow transplantation mouse model using a lentiviral vector / N. Uchida, H. Hanawa, K. Dan [et al.] // *J. Nippon. Med. Sch.* – 2009. – Vol. 76, No. 3. – P. 134–147.
4. Distinct characteristics of e13a2 versus e14a2 BCR-ABL1 driven chronic myeloid leukemia under first-line therapy with imatinib / B. Hanfstein, M. Lauseker, R. Hehlmann [et al.] // *Haematologica*. – 2014. – Vol. 99, No. 9. – P. 1441–1447.
5. The e13a2 BCR-ABL1 Fusion Transcript Is a Candidate Adverse Prognostic Factor In Chronic Myeloid Leukemia Patients Treated Frontline With Imatinib Mesylate / F. Castagnetti, G. Gugliotta, M. Breccia [et al.] // *Blood*. – 2013. – Vol. 122, No. 21 – P. 1486.

prevalence of loss of response or failure of MMR in patients with e13a2 transcript. This leads to the initiation of the immune response followed by an overwhelming elimination of tumor clone with chimeric transcript e14a2 [14-16]. This fact explains the transcript e13a2 predominance among CML patients with secondary resistance to TKI therapy.

CONCLUSION

In conclusion, we found no clear correlation between the type of transcript and any demographic, hematologic or clinical factors at the time of diagnosis in observation groups. There were no differences in CCyR achievement among patients with e13a2 and e14a2 transcripts. However, better molecular response at the 12th month of imatinib therapy was observed in patients with e14a2 transcript. Better event-free survival and lower rate of loss achieved cytogenetic and/or molecular response were also found in patients with e14a2 transcript. We think that e13a2 transcript can be considered an adverse prognostic factor for imatinib therapy. We suppose that one of the reasons for frequent absence of deep and stable response to imatinib therapy in patients with e13a2 transcript may be selective recognition of alien leukemia specific antigens BCR/ABL1 by HLA molecules. Therefore we believe that the use of a combination TKI with immunomodulating agents during treatment of patients with e13a2 transcript is appropriate.

REFERENCES

1. Quintas-Cardama A, Cortes J. Molecular biology of BCR-ABL1-positive chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2009;113(8):1619-0.
2. Druker BJ. Chronic myeloid leukemia. In: Provan D, Gribben J, editors. *Molecular haematology*. London: Blackwell Publishing Ltd; 2006. p.72-81.
3. Uchida N, Hanawa H, Dan K, Inokuchi K, Shimada T. Leukemogenesis of b2a2-type p210 BCR/ABL in a bone marrow transplantation mouse model using a lentiviral vector. *J Nippon Med Sch*. 2009;76(3):134-7.
4. Hanfstein B, Lauseker M, Hehlmann R, Saussele S, Erben P, Dietz C, et al. Distinct characteristics of e13a2 versus e14a2 BCR-ABL1 driven chronic myeloid leukemia under first-line therapy with imatinib. *Haematologica*. 2014;99(9):1441-7.
5. Castagnetti F, Gugliotta G, Breccia M. The e13a2 BCR-ABL1 fusion transcript is a candidate adverse prognostic factor in chronic myeloid leukemia patients treated frontline with imatinib mesylate. *Blood*. 2013;122(21):1486.

6. Chronic myeloid leukemia patients with the e13a2 BCR-ABL fusion transcript have inferior responses to imatinib compared to patients with the e14a2 transcript / C. M. Lucas, R. J. Harris, A. Giannoudis [et al.] // *Haematologica*. – 2009. – Vol. 94, No. 10. – P. 1362–1367.
7. 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 / I. V. Dmytrenko, V. G. Fedorenko, T. Y. Shlyakhtychenko [et al.] // *Probl. Radiac. Med. Radiobiol.* – 2014. – Vol. 19. – P. 241–255.
8. Shaffer L. An international system for human cytogenetic, Nomenclature 2013 / L. Shaffer, J. McGowan-Jordan, M. Schmid. – Basel : Karger, 2013. – 140 p.
9. 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.
10. Monitoring the response and course of chronic myeloid leukemia in the modern era of BCRABL 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. The possible influences of B2A2 and B3A2 BCR/ABL protein structure on thrombopoiesis in chronic myeloid leukaemia / R. A. Perego, M. Costantini, G. Cornacchini [et al.] // *Eur. J. Cancer*. – 2000. – Vol. 36, No. 11. – P. 1395–1401.
12. Analysis and comparison of clinicohematological parameters and molecular and cytogenetic response of two Bcr/Abl fusion transcripts / S. Polampalli, A. Choughule, N. Negi [et al.] // *Genet. Mol. Res.* 2008. – Vol. 7, No. 4. – P. 1138–1149.
13. Balatzenko G. Correlation between the type of bcr-abl transcripts and blood cell counts in chronic myeloid leukemia – a possible influence of *mdr1* gene expression / G. Balatzenko, B. R. Vundinti, M. Guenova // *Hematology Reports*. – 2011. – Vol. 3, No. 3. – P. 5–9.
14. Correlation of HLA-A, B, DRB1 genes with leukemia / Y. Du, X. L. Liang, Q. Li, [et al.] // *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. – 2013. – Vol. 21, No. 2. – P. 285–288.
15. Associations of HLA gene with leukemia in 1186 cases / X. J. Wang, Y. Z. Zhang, H. Y. Sun [et al.] // *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. – 2014. – Vol. 22, No. 2. – P. 263–268.
16. Хамаганова Е. Г. Молекулярные механизмы ассоциаций HLA-системы с резистентностью к развитию хронического миелолейкоза / Е. Г. Хамаганова, Ю. М. Зарецкая // *Гематология и трансфузиология*. – 2006. – № 1. – С. 12–17.
6. Lucas CM, Harris RJ, Giannoudis A, Davies A, Knight K, Watmough SJ. Chronic myeloid leukemia patients with the e13a2 BCR-ABL fusion transcript have inferior responses to imatinib compared to patients with the e14a2 transcript. *Haematologica*. 2009;94(10):1362-7.
7. Dmytrenko IV, Fedorenko VG, Shlyakhtychenko TY, Sholyko VV, Lyubarets TF, Malinkina TV, et al. 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. *Probl Radiac Med Radio Biol*. 2014;19:241-55.
8. Shaffer L, McGowan-Jordan J, Schmid M. *ISCN: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature 2013*. Basel, Switzerland: S. Karger, 2013.
9. Baccarani M, Deininger M, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley JF, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2013; 122(6): 872-84.
10. Kantarjian H, Schiffer Ch, Jones D, Cortes J. Monitoring the response and course of chronic myeloid leukemia in the modern era of BCRABL tyrosine kinase inhibitors: Practical advice on the use and interpretation of monitoring methods. *Blood*. 2008;111(4):1774-9.
11. Perego RA, Costantini M, Cornacchini G, Gargantini L, Bianchi C, Pungolino E, et al. The possible influences of B2A2 and B3A2 BCR/ABL protein structure on thrombopoiesis in chronic myeloid leukaemia. *Eur J Cancer*. 2000;36(11):1395-401.
12. Polampalli S, Choughule A, Negi N, Shinde S, Baisane C, Amre P, et al. Analysis and comparison of clinicohematological parameters and molecular and cytogenetic response of two Bcr/Abl fusion transcripts. *Genet Mol Res*. 2008;7(4):1138-49.
13. Balatzenko G, Vundinti BR, Guenova M. Correlation between the type of bcr-abl transcripts and blood cell counts in chronic myeloid leukemia - a possible influence of *mdr1* gene expression. *Hematology Reports*. 2011;3(3):5-9.
14. Du Y, Liang X. L, Li Q, Wu WJ, Liu J, Sun LJ, Qiu LG. Correlation of HLA-A, B, DRB1 genes with leukemia. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2013;21(2):285-8.
15. Wang XJ, Zhang YZ, Sun HYL, QH, Ru K. Associations of HLA gene with leukemia in 1186 cases. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2014;22(2):263-8.
16. Khamaganova EG, Zaretskaya YuM. [Molecular mechanisms of HLA-system associations with the resistance to the development of chronic myeloid leukemia]. *Hematologiya i transfuziologiya*. 2003;1:12-7. Russian.

Стаття надійшла до редакції 29.09.2015

Received: 29.09.2015