

¹ГУ «Национальный научный центр радиационной медицины НАМН Украины», Киев

²Национальный институт рака, Киев

ФАКТОРЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАЗВИТИЕМ ПРОГНОСТИЧЕСКИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ МУТАЦИЙ ГЕНОВ *TP53* И *SF3B1* У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ



И.В. Абраменко¹, Н.И. Билоус¹,
И.А. Крячок², З.В. Мартина¹,
И.С. Дягиль¹, А.А. Чумак¹

Адрес:

Абраменко Ирина Викторовна
04050, Киев, ул. Мельникова, 53
ГУ «Национальный научный центр
радиационной медицины НАМН Украины»
Тел.: (044) 452-00-24
E-mail: nbilous@yahoo.com

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз, *TP53*, *SF3B1*, мутации, ген, генотип.

Цель исследования — идентификация факторов, ассоциированных с наличием прогностически неблагоприятных мутаций генов *TP53* и *SF3B1* у больных хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ). Мутации гена *TP53* исследованы у 261 пациента с ХЛЛ, у 244 — в сочетании с определением мутаций гена *SF3B1* методом прямого ДНК-секвенирования в комплексе с другими факторами прогноза (клинико-гематологические, мутационный статус генов переменных участков тяжелых цепей иммуноглобулинов (*IGHV*), полиморфизм генов *CD38*, регуляции апоптоза и репарации ДНК). Из проанализированных факторов на частоту мутаций генов *TP53* и *SF3B1* влияли мутационный статус *IGHV* генов и полиморфизм rs1042522 *TP53*. При генотипах Arg/Arg и Arg/Pro и экспрессии немутированных (*UM*) *IGHV* генов риск развития мутаций *TP53* и *SF3B1* повышен по сравнению с больными с экспрессией мутированных (*M*) *IGHV* генов (отношение шансов (*ОШ*) 1,182; 95% доверительный интервал (*ДИ*) 1,083–1,290; $p=0,003$). У пациентов с *M IGHV* генами и генотипами Arg/Arg и Arg/Pro риск развития мутаций повышен при экспрессии генов *IGHV4-59*, *IGHV3-30* и *IGHV3-21* по сравнению с больными с экспрессией других *M IGHV* генов (*ОШ* 1,430; 95% *ДИ* 1,026–1,993; $p=0,001$). Пациенты с генотипом Pro/Pro являются группой риска по развитию мутаций *TP53* и *SF3B1* независимо от мутационного статуса и экспрессии отдельных *IGHV* генов. Изучение мутационного статуса, экспрессии отдельных *IGHV* генов и генотипа по полиморфизму rs1042522 гена *TP53* может быть использовано в качестве фактора риска развития мутаций *TP53* и *SF3B1* у больных ХЛЛ.

ВВЕДЕНИЕ

Широкое внедрение методов молекулярной биологии позволило идентифицировать мутации ряда генов, имеющие негативное прогностическое значение при хроническом лимфолейкозе В-клеточной природы (В-ХЛЛ).

Прежде всего, это мутации гена *TP53*. Делеции хромосомы 17p13 в области локализации *TP53* известны давно. Частота их выявления составляет 3–8% у пациентов с впервые диагностированной болезнью и возрастает до 30% в группе больных с резистентностью к терапии, а наличие мутаций приводит к значительному сокращению продолжительности общей (overall survival) и безрецидивной (progression-free survival) выживаемости [1, 2]. Установлено, что делеция одного аллеля гена *TP53* в 75–80% случаев сочетается с появлением мутаций гена *TP53* второго аллеля. В отсутствие

делеции 17p13 мутации гена *TP53* выявляют в 5–10% случаев [3, 4]. Наличие изолированных мутаций *TP53* имеет такое же негативное прогностическое значение, как и делеция 17p13 [5].

В 2011 г. выявлены новые прогностически неблагоприятные мутации, а именно мутации гена *SF3B1*, который кодирует рибонуклеопротеин, в комплексе с другими белками участвующий в образовании зрелой мРНК посредством удаления интронов из предшественников мРНК [6].

Частота выявления указанных мутаций *TP53* и *SF3B1* возрастает по мере прогрессирования заболевания [7]. Более того, для больных с нарушениями *TP53* показано, что наибольшую опасность представляют не делеции 17p, которые определяют при диагностике ХЛЛ, а приобретенные в процессе эволюции клона. Так, медиана общей выживаемости пациентов с делением

17p *de novo* составляет 4–5 лет и только 1–1,5 года — больных с приобретенной делецией (после ее появления) [8]. Поэтому цель нашей работы заключалась в идентификации факторов, ассоциирующихся с появлением прогностически неблагоприятных мутаций генов *TP53* и *SF3B1*, что позволит выделить группу больных повышенного риска относительно их развития.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены у больных В-ХЛЛ, находящихся на лечении в ГУ «Национальный научный центр радиационной медицины НАМН Украины» (ННЦРМ), согласно протоколу, утвержденному комитетом по медицинской этике ННЦРМ. Заболевание диагностировали на основании клинико-гематологических данных и иммунофенотипирования лимфоцитов периферической крови. Стадию заболевания устанавливали по классификациям Rai и Vinet.

Определение мутаций обоих генов (*TP53* и *SF3B1*) проведено у 244 больных В-ХЛЛ. Кроме этого, у 17 пациентов исследованы только мутации гена *TP53*.

Генетические исследования проводили с использованием венозной крови, собранной в пробирки с антикоагулянт. ДНК получали с помощью наборов QIAamp Blood Mini Kit (Qiagen, Великобритания) согласно инструкциям производителя.

Мутации *TP53* (экзоны 3–10) и *SF3B1* (экзоны 14–16) определяли методом прямого ДНК-секвенирования на автоматическом секвенаторе ABI Prism 3100 (Applied Biosystems). Выбор участков генов для исследования был обусловлен сведениями о более частом развитии мутаций в указанных экзонах.

Мутационный статус генов вариабельных участков тяжелых цепей иммуноглобулинов (immunoglobulin heavy-chain variable — *IGHV*) изучали методом полимеразной цепной реакции, как описано ранее [9].

В качестве возможных факторов, влияющих на частоту появления прогностически неблагоприятных мутаций, исследовали полиморфизмы замены одного нуклеотида (single nucleotide polymorphisms — SNP), для которых ранее была показана функциональная значимость и ассоциация с клиническими параметрами больных ХЛЛ.

Изучали следующие полиморфизмы генов:

- участвующих в процессах репарации ДНК (*XRCC1*, rs25487; *XPD*, rs13181; *XRCC3*, rs861539) [10];
- ассоциированных с развитием апоптоза (rs1042522 *TP53*, rs1801270 *p21*, rs2279744 (SNP309) *MDM2*) [11];

- полиморфизм rs6449182 гена *CD38*, влияющий на эффективность передачи сигналов пролиферации в лейкоэмических клетках [12].

Статистическую обработку полученных данных проводили в программе SPSS 17.0 software package (SPSS, США). Частоту мутаций анализировали в зависимости от клинико-гематологических параметров пациентов и фазы заболевания на момент исследования мутаций (первичные пациенты, в динамике развития заболевания), мутационного статуса *IGHV* генов, полиморфных вариантов отдельных генов. Критическим значением вероятности различий считали $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Частота мутаций генов TP53 и SF3B1 у обследованных больных ХЛЛ и их прогностическое значение.

Мутации гена *TP53* были выявлены у 28 (10,7%) из 261 пациента. Частота мутаций была минимальной при диагностике заболевания (5 (3,9%) из 129 пациентов) и возрастала у больных, обследованных в динамике опухолевого процесса (23 (21,1%) из 109; $p = 0,001$).

Мутации гена *SF3B1* присутствовали у 23 (9,4%) из 244 обследованных больных, достоверных различий в частоте при диагностике заболевания (у 8 (6,6%) из 122) и в динамике процесса (у 15 (12,3%) из 122) не выявлено ($p = 0,125$).

У пациентов с впервые выявленным заболеванием мутации *TP53* и *SF3B1* встречались изолированно, но у 5 больных, обследованных позднее, мутации обоих генов были определены одновременно.

Наличие мутаций генов *TP53* и *SF3B1* имело негативное влияние на продолжительность общей и безрецидивной выживаемости больных (рис. 1, 2).

Частота мутаций генов TP53 и SF3B1 у обследованных больных ХЛЛ в зависимости от клинико-гематологических данных. Частота мутаций *TP53* и *SF3B1*, выявленных при диагностике ХЛЛ и позднее в динамике процесса (анализ проведен отдельно), была одинаковой у мужчин и женщин, не зависела от возраста, в котором возникло заболевание, и показателей инициального лейкоцитоза (табл. 1). Большинство пациентов с впервые выявленным заболеванием, у которых присутствовали мутации *TP53* и *SF3B1*, имели ранние стадии опухолевого процесса и не отличались по этому показателю от больных, у которых мутации развились позже или не развились на протяжении времени наблюдения.

Так, из 5 первичных пациентов с мутациями *TP53* у 4 опухолевый процесс выявлен в стадии А, у 1 — в стадии В; из 8 первичных больных с мутациями *SF3B1* у 7 установлена стадия А, 1 — стадия В. Таким образом, по кли-

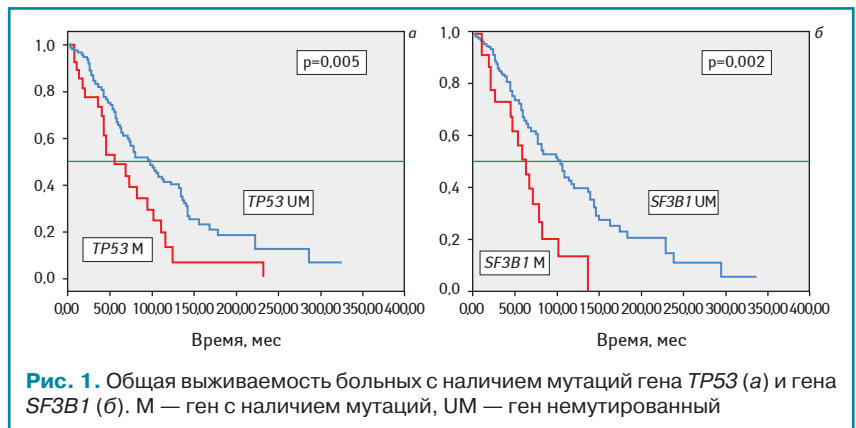


Рис. 1. Общая выживаемость больных с наличием мутаций гена *TP53* (а) и гена *SF3B1* (б). М — ген с наличием мутаций, UM — ген немутированный

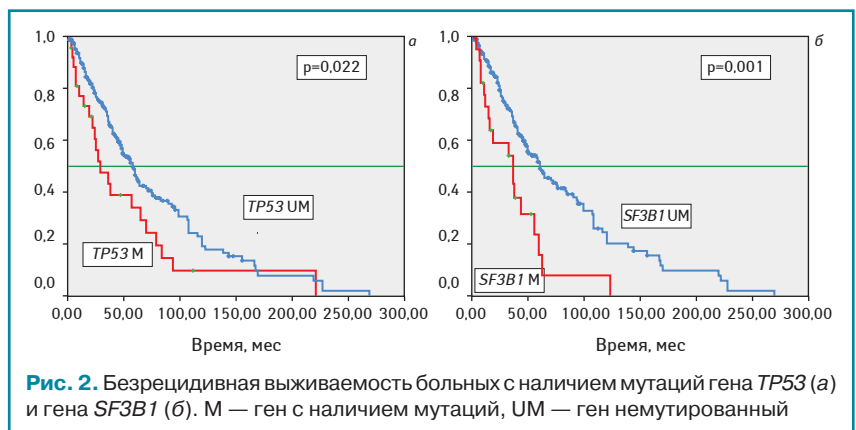


Рис. 2. Безрецидивная выживаемость больных с наличием мутаций гена *TP53* (а) и гена *SF3B1* (б). М — ген с наличием мутаций, UM — ген немутированный

ническим параметрам при обследовании (стадия, возраст, пол, инициальный лейкоцитоз) невозможно было прогнозировать, какие пациенты имеют прогностически неблагоприятные мутации.

Мутационный статус *IGHV* генов был определен у 239 (97,9%) из 244 больных, у которых исследовались мутации двух генов (*TP53* и *SF3B1*). У пациентов с немутированным статусом (UM) *IGHV* генов по сравнению с экспрессией мутированных (М) *IGHV* генов несколько чаще развивались мутации *TP53* и/или *SF3B1*: 21,9 и 11,4% соответственно; $p=0,042$ (отдельно частота мутации гена *TP53* — 12,3% против 6,5%; $p=0,138$; частота мутаций гена *SF3B1* — 11,3% против 5,7%; $p=0,149$). Однако это касалось исключительно частоты мутаций *SF3B1* у первичных пациентов, которые были выявлены в этой подгруппе только при UM *IGHV* генах в 12,1%

случаев и отсутствовали при экспрессии М *IGHV* генов ($p=0,005$). Частота мутаций гена *TP53* у больных с впервые выявленным патологическим процессом при М и UM *IGHV* генах не различалась: 4,5 и 3,3% соответственно ($p=0,714$).

У пациентов, обследованных в динамике заболевания, различий в частоте мутаций генов *TP53* (11,1 и 17,6%; $p=0,413$) и *SF3B1* (19,2 и 10,8%; $p=0,250$) при М и UM *IGHV* генах не выявлено.

Частота мутаций генов *TP53* и *SF3B1* у обследованных больных ХЛЛ в зависимости от изученных полиморфизмов генов репарации ДНК, *CD38* и регуляторов процессов апоптоза. Из всех проанализированных полиморфизмов влияние на частоту мутаций генов *TP53* и *SF3B1* имел только полиморфизм rs1042522 гена *TP53* (табл. 2).

При генотипе Pro/Pro при сравнении с носителями других генотипов частота

развития неблагоприятных мутаций возрастала как у пациентов с впервые диагностированным опухолевым процессом ($p=0,007$), так и у больных, обследованных в динамике заболевания ($p=0,027$) (рис. 3).

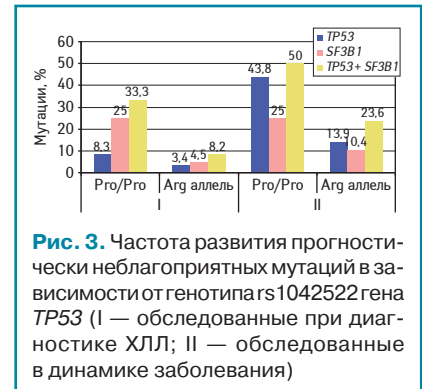


Рис. 3. Частота развития прогностически неблагоприятных мутаций в зависимости от генотипа rs1042522 гена *TP53* (I — обследованные при диагностике ХЛЛ; II — обследованные в динамике заболевания)

Таблица 1. Характеристика обследованных пациентов с наличием/отсутствием мутации генов *TP53* и *SF3B1*

Показатель	Наличие мутаций генов <i>TP53</i> и <i>SF3B1</i>			
	Пациенты, обследованные при диагностике, n (%)		Пациенты, обследованные в динамике заболевания, n (%)	
	есть (n=13)	нет (n=109)	есть (n=33)	нет (n=89)
Мужчины	9 (69,2)	75 (68,8)	28 (84,8)	70 (78,7)
Женщины	4 (30,8)	34 (31,2)	5 (15,2)	19 (21,3)
Вероятность	0,975		0,44	
Возраст, лет	61,84±2,27	59,16±0,94	57,63±1,66	55,73±0,98
Вероятность	0,347		0,322	
Стадия по Binet				
A	11 (84,6)	80 (73,4)	10 (30,3)	26 (29,2)
B	2 (15,4)	25 (22,9)	19 (57,6)	40 (44,9)
C	0	4 (3,7)	4 (12,1)	23 (25,9)
Вероятность	0,615		0,240	
Лейкоциты, Г/л	28,54±7,82	28,88±2,83	71,61±13,62	61,74±8,18
Вероятность	0,968		0,534	
М <i>IGHV</i> гены	3 (25,0)	59 (54,6)	7 (22,2)	19 (21,6)
UM <i>IGHV</i> гены	9 (75,0)	49 (45,4)	24 (77,4)	69 (78,4)
Вероятность	0,051		0,909	

Таблица 2. Частота мутаций генов *TP53* и *SF3B1* у носителей различных генотипов по исследованным полиморфизмам

Мутации генов при разных генотипах	Количество пациентов с генотипами, n (%)			P
	Arg/Arg	Arg/Pro	Pro/Pro	
Генотип rs1042522 <i>TP53</i>				
<i>TP53</i>	9 (7,3) из 124	11 (10,2) из 108	8 (28,6) из 28	0,002
<i>SF3B1</i>	12 (10,1) из 119	4 (4,1) из 97	7 (25,0) из 28	0,004
<i>TP53</i> и <i>SF3B1</i>	19 (16,0) из 119	15 (15,5) из 97	12 (42,9) из 28	0,003
Генотип rs1801270 <i>p21</i>				
<i>TP53</i>	1 (50,0) из 2	2 (5,6) из 36	23 (11,6) из 199	0,211
<i>SF3B1</i>	0 из 2	1 (3,3) из 30	21 (11,1) из 190	0,438
<i>TP53</i> и <i>SF3B1</i>	1 (50,0) из 2	3 (10,0) из 30	33 (20,5) из 190	0,315
Генотип MDM2 <i>SNP309</i>				
<i>TP53</i>	7 (6,2) из 113	12 (12,2) из 98	4 (17,4) из 23	0,342
<i>SF3B1</i>	9 (8,7) из 103	10 (10,8) из 93	3 (14,3) из 21	0,601
<i>TP53</i> и <i>SF3B1</i>	14 (13,6) из 103	20 (21,5) из 93	6 (28,6) из 21	0,285
Генотип rs6449182 <i>CD38</i>				
<i>TP53</i>	15 (12,0) из 125	10 (10,6) из 94	2 (7,7) из 26	0,856
<i>SF3B1</i>	8 (6,9) из 116	10 (11,4) из 88	4 (16,7) из 24	0,404
<i>TP53</i> и <i>SF3B1</i>	21 (18,1) из 116	18 (20,5) из 88	5 (20,8) из 24	0,879
Генотип rs25487 <i>XRCC1</i>				
<i>TP53</i>	6 (10,9) из 55	9 (13,2) из 68	3 (13,0) из 23	0,784
<i>SF3B1</i>	4 (7,4) из 54	6 (10,0) из 60	3 (13,0) из 23	0,889
<i>TP53</i> и <i>SF3B1</i>	7 (13,0) из 54	14 (23,3) из 60	5 (21,7) из 23	0,544
Генотип rs13188 <i>XPB</i>				
<i>TP53</i>	7 (14,9) из 47	7 (9,5) из 74	2 (10,0) из 20	0,788
<i>SF3B1</i>	4 (9,3) из 43	7 (9,9) из 71	1 (5,6) из 18	0,950
<i>TP53</i> и <i>SF3B1</i>	10 (23,3) из 43	12 (16,9) из 71	2 (11,1) из 18	0,689
Генотип rs861539 <i>XRCC3</i>				
<i>TP53</i>	7 (11,3) из 62	9 (15,8) из 57	1 (5,0) из 20	0,457
<i>SF3B1</i>	5 (8,5) из 59	7 (13,5) из 52	1 (5,3) из 18	0,683
<i>TP53</i> и <i>SF3B1</i>	11 (18,6) из 59	13 (25,0) из 52	1 (5,3) из 18	0,309

При этом у первичных больных при генотипе Pro/Pro по сравнению с другими генотипами была выше частота мутаций гена *SF3B1* (25 и 4,5%; $p=0,007$), но не гена *TP53* (8,3 и 3,4%; $p=0,401$). У больных с генотипом Pro/Pro, обследованных в динамике ХЛЛ, преимущественно повышалась частота мутаций гена *TP53* (43,8 и 13,9%; $p=0,003$) и в меньшей степени — частота мутаций гена *SF3B1* (25,0 и 10,3%; $p=0,097$).

При совместном анализе влияния мутационного статуса *IGHV* генов и генотипов пациентов по полиморфизму rs1042522 установлено, что повышение частоты мутаций генов *TP53* и *SF3B1* у носителей генотипа Pro/Pro выражалось независимо от экспрессии М или UM *IGHV* генов ($p=0,637$ — при анализе мутаций *TP53*; $p=0,535$ — при анализе мутаций *SF3B1*; $p=0,484$ — при анализе мутаций обоих генов одновременно). Не выявлено также влияния экспрессии отдельных *IGHV* генов на частоту появления прогностически неблагоприятных мутаций у носителей генотипа Pro/Pro ($p=0,543$).

Напротив, у носителей аллеля Arg (генотипы Arg/Arg и Arg/Pro) частота прогностически неблагоприятных мутаций была повышена при UM *IGHV* генах ($p=0,029$ — при анализе мутаций обоих генов совместно; $p=0,081$ — при анализе мутаций *TP53*; $p=0,138$ — при анализе мутаций *SF3B1*) (рис. 4).

Кроме того, у носителей Arg аллеля при М *IGHV* генах (группа составила 76 пациентов) мутации генов *TP53* и *SF3B1* были выявлены преимущественно при экспрессии генов *IGHV3-21*, *IGHV3-30* и *IGHV4-59*: 5 (31,3%) больных с мутациями из 16 пациентов с экспрессией указанных генов по сравнению с 1 (1,7%) пациентом из 60 с экспрессией других М *IGHV* генов ($\chi^2=15,203$; $p=0,001$). Эти различия проявлялись как у первичных пациентов (20 и 0%; $p=0,002$), так и у больных, обследован-

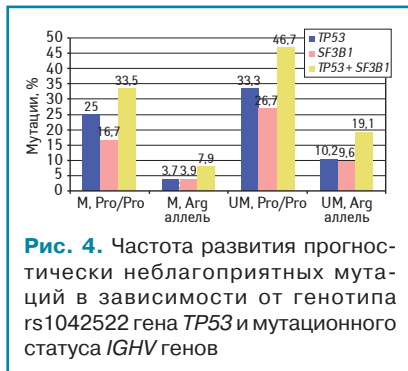


Рис. 4. Частота развития прогностически неблагоприятных мутаций в зависимости от генотипа rs1042522 гена TP53 и мутационного статуса IGHV генов

ных в динамике опухолевого процесса (50 и 6,7%; $p=0,022$). При UM IGHV генах отличий в частоте прогностически неблагоприятных мутаций у носителей Arg аллеля в зависимости от экспрессии отдельных IGHV генов не выявлено ($p=0,446$).

У больных — носителей генотипов Arg/Arg и Arg/Pro при отсутствии экспрессии генов IGHV3-21, IGHV3-30 и IGHV4-59 частота прогностически неблагоприятных мутаций зависела от мутационного статуса IGHV генов и была выше при UM, чем при M IGHV генах ($p=0,043$ — при выявлении мутаций TP53; $p=0,021$ — при выявлении мутаций SF3B1 и $p=0,003$ — при выявлении мутаций обоих генов). У пациентов с экспрессией IGHV3-21, IGHV3-30 и IGHV4-59 генов, носителей указанных генотипов, частота развития мутаций TP53 и SF3B1 не зависела от мутационного статуса IGHV генов ($p=0,723$ — при выявлении мутаций TP53; $p=0,935$ — при выявлении мутаций SF3B1 и $p=0,805$ — при выявлении мутаций обоих генов) (рис. 5).

Комплексное влияние генотипов по полиморфизму rs1042522 TP53, мутационного статуса и экспрессии отдельных IGHV генов обобщено в табл. 3.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные нами данные в отношении повышения частоты мутаций гена TP53 у носителей генотипа Pro/Pro совпадают с результатами, представлен-

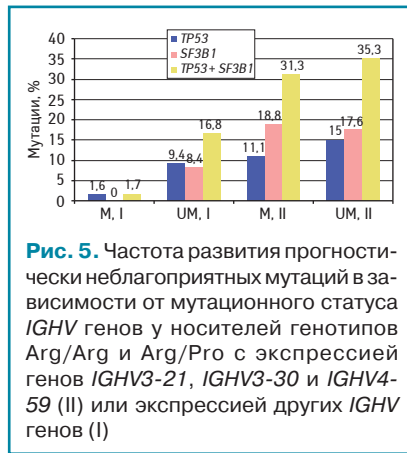


Рис. 5. Частота развития прогностически неблагоприятных мутаций в зависимости от мутационного статуса IGHV генов у носителей генотипов Arg/Arg и Arg/Pro с экспрессией генов IGHV3-21, IGHV3-30 и IGHV4-59 (II) или экспрессией других IGHV генов (I)

ными ранее V. Grossmann и соавторами [13] и H. Dong и соавторами [14]. Повышение частоты мутаций гена SF3B1 у носителей этого генотипа выявлено нами впервые.

Полиморфизм rs1042522 TP53 является функционально значимым и приводит к экспрессии белка p53 с позитивно заряженной боковой цепью (генотип Arg/Arg, экспрессия аргинина) или же с неполярной — алифатической боковой цепью (генотип Pro/Pro, экспрессия пролина). Предполагают, что замещение одной аминокислоты изменяет биохимические характеристики белка и влияет на эффективность связывания с компонентами транскрипционных комплексов [15]. По-видимому, с этим ассоциировано и влияние генотипов rs1042522 TP53 на частоту появления мутаций генов TP53 и SF3B1.

На основании полученных результатов представляется возможным предложить следующий алгоритм определения риска развития прогностически неблагоприятных мутаций генов:

- при обследовании больных ХЛЛ целесообразно проводить определение мутационного статуса IGHV генов, экспрессии отдельных IGHV генов и генотипа по полиморфизму rs1042522 гена TP53;
- при генотипах Arg/Arg и Arg/Pro пациенты с экспрессией UM IGHV

генов по сравнению с больными с экспрессией M IGHV генов являются группой риска по развитию мутаций TP53 и SF3B1 генов (отношение шансов (ОШ) 1,182; 95% доверительный интервал (ДИ) 1,083–1,290; $p=0,003$);

- при генотипах Arg/Arg и Arg/Pro риск развития мутаций TP53 и SF3B1 генов для больных с M IGHV генами повышен только при экспрессии генов IGHV4-59, IGHV3-30 и IGHV3-21 по сравнению с пациентами с экспрессией других M IGHV генов (ОШ 1,430; 95% ДИ 1,026–1,993; $p=0,001$);
- больные с генотипом Pro/Pro по полиморфизму rs1042522 гена TP53 являются группой риска по развитию мутаций TP53 и SF3B1 генов независимо от мутационного статуса IGHV генов и экспрессии отдельных IGHV генов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wawrzyniak E., Kotkowska A., Blonski J.Z. et al. (2014) Clonal evolution in CLL patients as detected by FISH versus chromosome banding analysis, and its clinical significance. Eur. J. Haemat., 92(2): 91–101.
2. Rossi D., Rasi S., Spina V. et al. (2013) Integrated mutational and cytogenetic analysis identifies new prognostic subgroups in chronic lymphocytic leukemia. Blood, 121(8): 1403–1412.
3. Dicker F., Herholz H., Schnittger S. et al. (2009) The detection of TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia independently predicts rapid disease progression and is highly correlated with a complex aberrant karyotype. Leukemia, 23(1): 117–124.
4. Gonzalez D., Martinez P., Wade R. et al. (2011) Mutational status of the TP53 gene as a predictor of response and survival in patients with chronic lymphocytic leukemia: results from the LRF CLL4 trial. J. Clin. Oncol., 29(10): 2223–2229.
5. Malcikova J., Pavlova S., Rozubik K.S. et al. (2014) TP53 mutation analysis in clinical practice: lessons from chronic lymphocytic leukemia. Hum. Mutat., 35(6): 663–671.
6. Wang L., Lawrence M.S., Wan Y. et al. (2011) SF3B1 and other novel cancer genes in chronic lymphocytic leukemia. N. Engl. J. Med., 365: 2497–2506.
7. Rossi D., Fangazio M., Gaidano G. (2012) The spectrum of genetic defects in chronic lymphocytic leukemia. Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis., 4(1): e2012076.
8. Tam C.S., Shanafelt T.D., Wierda W.G. et al. (2009) De novo deletion 17p13.1 chronic lymphocytic leukemia shows significant clinical heterogeneity: the M.D. Anderson and Mayo Clinic experience. Blood, 114(5): 957–964.
9. Kryachok I., Abramenko I., Bilous N. et al. (2012) IGHV gene rearrangements as outcome predictors for CLL patients: experience of Ukrainian group. Med. Oncol., 29(2): 1093–1101.
10. Abramenko I., Bilous N., Chumak A. et al. (2012) DNA repair polymorphisms in B-cell chronic lymphocytic leukemia in sufferers of Chernobyl nuclear power plant accident. J. Rad. Res., 53(3): 497–503.
11. Abramenko I.V., Bilous N.I., Chumak A.A. et al. (2014) Gene polymorphisms of p53-mediated apoptosis in chronic lymphocytic leukemia patients: features of distribution depending on radiation factor in anamnesis. Probl. Radiac. Med. Radiobiol., 19: 223–230.
12. Abramenko I.V., Bilous N.I., Pleskach G.V. et al. (2012) CD38 gene polymorphism and risk of chronic lymphocytic leukemia. Leuk. Res., 36(10): 1237–1240.
13. Grossmann V., Artusi V., Schnittger S. et al. (2011) The TP53 codon72 polymorphism is associated with TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia. ASH-2011, 641: 1178.
14. Dong H., Fang C., Wang L. et al. (2014) TP53 Pro72 allele potentially increases the poor prognostic significance of TP53 mutation in chronic lymphocytic leukemia. Med. Oncol., 31: 908–911.
15. Grochola L.F., Zeron-Medina J., Meriaux S., Bond G.L. (2010) Single-nucleotide polymorphisms in the p53 signaling pathway. Cold Spring Harb. Perspect. Biol., 13(5): a001032.

Таблица 3. Частота мутаций генов TP53 и SF3B1 у больных ХЛЛ – носителей отдельных генотипов гена TP53 по полиморфизму rs1042522 с учетом мутационного статуса и экспрессии отдельных IGHV генов

Генотипы TP53 по полиморфизму rs1042522	Частота мутаций генов TP53 и SF3B1							
	Без учета мутационного статуса IGHV генов	Мутационный статус IGHV генов						
		<table border="1"> <thead> <tr> <th>мутированные (M)</th> <th>немутированные (UM)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>33,3% против 7,9% при других генотипах; $p=0,010$</td> <td>46,7% против 19,1% при других генотипах; $p=0,014$</td> </tr> <tr> <td>Влияния экспрессии отдельных IGHV генов не выявлено</td> <td>Влияния экспрессии отдельных IGHV генов не выявлено</td> </tr> </tbody> </table>	мутированные (M)	немутированные (UM)	33,3% против 7,9% при других генотипах; $p=0,010$	46,7% против 19,1% при других генотипах; $p=0,014$	Влияния экспрессии отдельных IGHV генов не выявлено	Влияния экспрессии отдельных IGHV генов не выявлено
мутированные (M)	немутированные (UM)							
33,3% против 7,9% при других генотипах; $p=0,010$	46,7% против 19,1% при других генотипах; $p=0,014$							
Влияния экспрессии отдельных IGHV генов не выявлено	Влияния экспрессии отдельных IGHV генов не выявлено							
Pro/Pro (n=28)	42,9%							
Arg/Arg и Arg/Pro (n=216)	15,7% (достоверно ниже по сравнению с генотипом Pro/Pro; $p=0,001$)	7,9% (Риск повышен при экспрессии IGHV4-59, IGHV3-30 и IGHV3-21 по сравнению с экспрессией других IGHV генов (31,3 и 1,7%; $p=0,001$))						

Фактори, асоційовані з розвитком прогностично несприятливих мутацій генів *TP53* і *SF3B1* у хворих на хронічний лімфолейкоз

I.V. Абраменко¹, Н.І. Білоус¹, І.А. Крячок², З.В. Мартина¹,
І.С. Дягіль¹, А.А. Чумак¹

¹ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України», Київ

²Національний інститут раку, Київ

Резюме. Мета дослідження — ідентифікація факторів, асоційованих з наявністю прогностично несприятливих мутацій генів *TP53* і *SF3B1* у хворих на хронічний лімфолейкоз (ХЛЛ). Мутації гена *TP53* досліджено у 261 пацієнта з ХЛЛ, у 244 — в поєднанні з визначенням мутацій гена *SF3B1* методом прямого ДНК-секвенування у комплексі з іншими факторами прогнозу (клініко-гематологічні, мутаційний статус генів варіабельних ділянок важких ланцюгів імуноглобулінів (*IGHV*), поліморфізм генів *CD38*, регуляції апоптозу та репарації ДНК). Із проаналізованих чинників на частоту мутацій генів *TP53* і *SF3B1* вплив мали мутаційний статус *IGHV* генів і поліморфізм rs1042522 *TP53*. При генотипах Arg/Arg і Arg/Pro та експресії нематованих (UM) *IGHV* генів ризик розвитку мутацій *TP53* і *SF3B1* був підвищений порівняно з хворими з експресією матованих (M) *IGHV* генів (відношення шансів (ВШ) 1,182; 95% довірчий інтервал (ДІ) 1,083–1,290; p=0,003). У пацієнтів із M *IGHV* генами та за генотипів Arg/Arg і Arg/Pro ризик розвитку мутацій підвищувався при експресії генів *IGHV4-59*, *IGHV3-30* та *IGHV3-21* порівняно з хворими з експресією інших M *IGHV* генів (ВШ 1,430; 95% ДІ 1,026–1,993; p=0,001). Пацієнти з генотипом Pro/Pro є групою ризику за розвитком мутацій *TP53* і *SF3B1* незалежно від мутаційного статусу та експресії окремих *IGHV* генів. Вивчення мутаційного статусу, експресії окремих *IGHV* генів і генотипу за поліморфізмом rs1042522 гена *TP53* може бути використано як фактор ризику розвитку мутацій *TP53* і *SF3B1* у хворих на ХЛЛ.

Ключові слова: хронічний лімфолейкоз, *TP53*, *SF3B1*, мутації, ген, генотип.

Factors associated with presence of unfavorable *TP53* and *SF3B1* mutations in chronic lymphocytic leukemia patients

I.V. Abramenko¹, N.I. Bilous¹, I.A. Kriachok², Z.V. Martina¹,
I.S. Dyagil¹, A.A. Chumak¹

¹SI «National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv

²National Cancer Institute, Kyiv

Summary. The aim of the study was to identify factors, associated with the presence of unfavorable *TP53* and *SF3B1* mutations in chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients. *TP53* mutations were studied in 261 CLL patients (together with the study of *SF3B1* mutations in 244 patients) by direct sequencing and with evaluation of some others risk factors (baseline characteristics of patients, mutational status of immunoglobulin heavy chain variable region (*IGHV*) genes, polymorphisms of *CD38* gene, genes of apoptosis regulation and DNA repair system). Only mutational status of *IGHV* genes and rs1042522 *TP53* were associated with an increased incidence of *TP53* and *SF3B1* mutations. In carriers of Arg/Arg and Arg/Pro genotypes risk of incidence of *TP53* and *SF3B1* was increased in UM compared with M *IGHV* genes (OR 1,182; 95% CI 1,083–1,290; p=0,003). In carriers of Arg/Arg and Arg/Pro genotypes and expression of M *IGHV* genes risk of incidence of *TP53* and *SF3B1* was increased under expression of *IGHV4-59*, *IGHV3-30* and *IGHV3-21* genes compared with patients expressed others M *IGHV* genes (OR=1,430; 95% CI 1,026–1,993; p=0,001). The Pro/Pro genotype was associated with an increased incidence of *TP53* and *SF3B1* mutations regardless of mutational status and expression of separate *IGHV* genes. The study of mutational status, expression of separate *IGHV* genes and rs1042522 *TP53* polymorphism may be used as a risk factor for incidence of *TP53* and *SF3B1* mutations in CLL patients.

Key words: chronic lymphocytic leukemia, *TP53*, *SF3B1*, mutations, gene, genotype.