



КАЗНАЧЕЕВ К.С., СМЕТАННИКОВА Н.А.

УДК 575.174.015.3:616.155.392.2-053.2

Новосибирский государственный медицинский университет, г. Новосибирск

Полиморфизм XRCC1, p53, CCR5 и уровень спонтанного апоптоза опухолевых клеток у детей, страдающих острым лимфобластным лейкозом

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) является самым частым онкологическим заболеванием детского возраста и составляет приблизительно 25% от всех злокачественных новообразований в педиатрии. Чувствительность к заболеванию может обуславливаться генетическими факторами, в том числе межиндивидуальным различием в экспрессии генов, контролирующих апоптоз и репарацию ДНК. Целью данной работы явилось изучение связи полиморфизма генов XRCC1, CCR5, p53 и апоптоза опухолевых клеток с развитием и прогнозом заболевания при ОЛЛ у детей.

Изучение спонтанного апоптоза лейкозных клеток проведено у 72 детей с ОЛЛ, возраст от 2 месяцев до 14 лет, находившихся на лечении по протоколу MB-2002, из них 7 больных с Т-линейным ОЛЛ. Все дети проходили обследование и лечение по протоколу ALL-MB2002. Уровень спонтанного апоптоза бластных клеток до начала терапии не зависел от инициального лейкоцитоза. Так, в группах пациентов с лейкоцитозом $>50 \times 10^9/\text{л}$ и $<50 \times 10^9/\text{л}$ уровень спонтанного апоптоза не различался.

Важным и независимым прогностическим фактором при ОЛЛ у детей является ранний ответ на терапию. Оценка проводится по эффективности преднизолоновой профазы — содержание бластных клеток в периферической крови (ПК) на 8-й день, а также раннему ответу костного мозга (КМ) на терапию — количество бластов в КМ на 15-й день индукционной терапии.

К 8-му дню отмечалось значительное увеличение показателей спонтанного апоптоза клеток ПК и КМ (исходный уровень — $4,91 \pm 0,37\%$, через 8 дней — $34,7 \pm 0,62\%$). По результатам индукционной терапии больные были разделены на 2 группы: I — количество бластных клеток в ПК ниже 1000 в 1 мкл на 8 сутки и II — количество бластных клеток более 1000. Уровень спонтанного апоптоза в сопоставляемых группах статистически не различался. У пациентов с содержанием в 1 мкл ПК менее 1000 лейкоэмических клеток на 8-й день терапии наблюдалась тенденция к более высокому уровню спонтанного апоптоза бластных клеток до начала терапии.

Сравнение уровней спонтанного апоптоза лейкоэмических клеток у больных из I и II групп на 15-й день не выявило достоверной разницы. У больных, имеющих неблагоприятные цитогенетические признаки, так же как у детей с рецидивом заболевания, отмечалось наибольшее снижение доли апоптотических клеток *in vitro* ($p < 0,01$).

Определение полиморфизма XRCC1 (Arg399Gln), p53 (Arg72Pro по экзону 4, dup16 bp по интрону 3 and MspI по интрону 6), а также CCR5 проводилось посредством PCR-RFLP-анализа в образцах ПК детей, страдающих ОЛЛ до начала проведения химиотерапии и 192 здоровых детей (группа контроля).

У детей, страдающих ОЛЛ, доля гетерозиготной группы Arg/Gln значительно снижена (3,36%), что составляет достоверную разницу по сравнению с контролем (52,8% Arg/Gln).

Сравнительный анализ частоты встречаемости гаплотипа p53 W-W — M (Arg по кодону 72 экзона 4, отсутствие dup16 bp по интрону 3, отсутствие MspI restriction site по интрону 6), показал статистически значимое накопление данного гаплотипа среди больных ОЛЛ по сравнению с контролем (OR=4,7, 95%CI=1,95-7,8).

Не было получено корреляционной связи между исходом инициальной терапии и вариантами гаплотипа p53 (98% больных достигли ремиссии). На текущий момент большинство детей находится на этапе консолидации ремиссии.

Группа детей, больных ОЛЛ, характеризуется статистически значимым снижением частоты гетерозиготного (w/del) варианта гена CCR5 в 5,7 раза по сравнению со здоровыми детьми ($p=0,03$). Одновременно в данной группе отмечается значимое повышение доли гомозиготного дикого (w/w) варианта в 1,2 раза по сравнению с контролем ($p=0,02$).

Отмечено увеличение доли лиц с комбинацией Gln/Gln (XRCC1) и Pro/Pro (p53 codon 72) по сравнению с популяцией (OR=10,23, 95% CI 6,93-13,61); увеличение доли лиц с комбинацией Gln/Gln (XRCC1) и M/M (p53) по сравнению с популяцией (OR=9,85, 95% CI=6,66-13,1); увеличение доли лиц с комбинациями M/M — W/M — W/M p53, положительно ассоциированной с наличием генотипа Arg/Gln XRCC1, (OR=9,54, 95%CI=6,46-12,69).

Данные изменения генома не оказывали значимого влияния на уровень спонтанного апоптоза как на этапе до начала химиотерапии, так и на более поздних сроках.

Полученные результаты показывают, что полиморфизмы p53, CCR5 и XRCC1 могут быть ассоциированы с развитием ОЛЛ у детей. Уровень спонтанного апоптоза может быть ассоциирован с динамикой течения заболевания и использоваться в качестве самостоятельного фактора прогноза результата индукционной фазы терапии.