

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ВИСОКИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Завідувач кафедри нанофізики конденсованих середовищ

проф. Валерій Антонович Скришевський

Протокол № ____ засідання кафедри

від “ ____ ” _____ 20__ р.

**ПРИЧИНИ НЕСТАБІЛЬНОСТІ ГЕНОМУ
ПРИ ГОСТРОМУ ЛІМФОБЛАСТНОМУ ЛЕЙКОЗИ**

Випускна кваліфікаційна робота бакалавра
студента спеціальності 091 ОП «Біологія»

Тітко Максим Андрійович

Науковий керівник від кафедри
асистент кафедри молекулярної біотехнології та біоінформатики

к.ф.-м.н. **Войтешенко Іван Сергійович**

Робота виконана на кафедрі біології та екології

Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника під
керівництвом к.б.н. **А. Г. Сіренко**

Оцінка захисту роботи

Київ – 2023 р.

Тези

Тітко М. А. Причини нестабільності геному при гострому лімфобластному лейкозі

Науковий керівник: кандидат біологічних наук, доцент кафедри біології та екології Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника Сіренко А. Г.

У дипломній роботі наведені результати наукових досліджень причин нестабільності геному ракових клітин та їх попередників у хворих на гострий лімфобластний лейкоз. Проведено дослідження феномену передчасного розділення центромер (ПРЦ) у хворих на гострий лімфобластний лейкоз (ГЛЛ). Продемонстровано, що рівень цього феномену в перший гострий період статистично достовірно відрізняється від рівнів цього феномену в контрольній групі і в період ремісії у хворих на цю ж патологію. Це дозволяє припустити, що феномен ПРЦ є діагностичним критерієм діагностики та перебігу гострого лімфобластного лейкозу. Було продемонстрована висока позитивна кореляція між рівнем бластів в периферійній крові хворих на ГЛЛ та рівнем ПРЦ в клітинах як периферійної крові так і клітин червоного кісткового мозку хворих на ГЛЛ. На основі цього можна припустити, що цей феномен в більшій мірі притаманний раковим бластним клітинам, аніж нормальним клітинам крові і кровотворної системи людини. Було виявлено високу позитивну кореляцію між рівнем ПРЦ та рівнем анеуплоїдії в клітинах периферійної крові та червоного кісткового мозку у хворих на ГЛЛ. Це свідчить про те, що феномен ПРЦ і поведінка центромери взагалі є однією з причин нестабільності геному та підвищеної мутабельності клітин у хворих на гострий лімфобластний лейкоз.

Зміст

Вступ	4
1. Огляд літератури. Дослідженість зв'язку патогенезу гострого лімфобластного лейкозу та функціональності центромери.	6
1.1. Історія дослідження гострого лімфобластного лейкозу.	6
1.2. Загальна характеристика гострого лімфобластного лейкозу.	12
1.3. Центромера та її функції	33
1.4. Феномен передчасного розділення центромер (ПРЦ)	47
2. Матеріали і методи.	51
2.1. Контингент хворих	51
2.2. Методи дослідження	61
3. Результати і обговорення.	67
3.1. Контрольна група.	67
3.2. Феномени ПРЦ та С-анафази у хворих на гострий лімфобластний лейкоз	67
3.3. Зв'язок феномену передчасного розділення центромер метафазних хромосом з патогенезом і перебігом гострого лімфобластного лейкозу	68
Висновки	105
Список використаних джерел	106

Вступ

Актуальність роботи полягає в тому, що гострий лімфобластний лейкоз (ГЛЛ) – важке онкологічне захворювання, що трапляється найчастіше з усіх онкологічних захворювань у дітей віком 0 – 14 років, досі є складною медичною проблемою, багато аспектів його патогенезу на молекулярному рівні потребують подальшого і глибшого дослідження, зокрема, важливим аспектом патогенезу ГЛЛ є нестабільність геному бластних ракових клітин – лімфобластів периферійної крові, подальші мутації яких – як генні так і хромосомні призводять до подальшої малігнізації клонів і виникнення більш злоякісних клонів клітин, що ускладнює лікування та обтяжує перебіг захворювання, призводить до швидкого рецидиву захворювання і високого рівня смертності хворих на ГЛЛ. Вияснення причин нестабільності геному при різних онкологічних захворюваннях, в тому числі при ГЛЛ, дозволить в майбутньому знайти новий підхід стратегії лікування і профілактики онкологічних захворювань. Крім того гостро стоїть проблема ранньої діагностики гострого лімфобластного лейкозу. Дослідження поведінки центромери дозволяє знайти нові, додаткові критерії діагностики, перебігу та прогнозу захворювання.

Наукова новизна роботи полягає в тому, що вперше було продемонстровано на великій вибірці пацієнтів діагностичне та прогностичне значення феномену передчасного розділення центромер (ПРЦ) та продемонстровано, що цей феномен є причиною нестабільності геному при ГЛЛ.

Метою роботи було дослідити причини нестабільності геному при гострому лімфобластному лейкозі. Цій меті були підпорядковані завдання:

1. Дослідити рівні передчасного розділення центромер у хворих на ГЛЛ.
2. Дослідити можливість використання феномену ПРЦ в якості додаткового діагностичного критерію ГЛЛ.
3. Дослідити феномен ПРЦ як причину нестабільності геному при ГЛЛ.
4. Дослідити можливість використання феномену ПРЦ в якості критерію оцінки перебігу ГЛЛ.

5. Дослідити можливість використання ПРЦ в якості прогностичного критерію перебігу ГЛЛ.

Об'єктом дослідження були ракові клітини хворих на гострий лімфобластний лейкоз.

Предметом дослідження були процеси онкогенезу та мутагенезу в людини.

Особистий внесок автора полягав аналізі хромосомних препаратів хворих на ГЛЛ, статистичній обробці результатів дослідження, в написанні та оформленні роботи.

Подяки. Автор приносить глибоку подяку своєму науковому керівнику кандидату біологічних наук доценту кафедри біології та екології Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника за ідею наукових досліджень, за надані хромосомні препарати, допомогу в пошуку літератури та матеріалів дослідження. Автор приносить щирю подяку співробітникам Львівської обласної дитячої спеціалізованої лікарні за можливість проводити наукову роботу і надані архівні матеріали.

1. Огляд літератури. Дослідженість зв'язку патогенезу гострого лімфобластного лейкозу та функціональності центромери.

1.1. Історія дослідження гострого лімфобластного лейкозу.

Перше повідомлення у науковій літературі про лейкоз, цілком імовірно, що це був саме гострий лімфобластний лейкоз (хоча тоді ще не існувало диференційної діагностики і ми не можемо нічого сказати про форму лейкозу в перших описаних з цією хворобою пацієнтів) як новоописану хворобу, датується 1827 роком. У цьому році французький лікар Альфред-Арман-Луї-Марі Вельпо (фр. – Alfred-Armand-Louis-Marie Velpeau) описав хворобу 63-ти річного квітникаря, у якого розвинулась хвороба, що супроводжувалась лихоманкою, слабкістю, сечовипусканням, сильним збільшенням печінки та селезінки. Вельпо зазначив, що кров цієї людини мала консистенцію «кашеподібну», і припускав, що такий стан крові хворого пояснюється збільшенням кількості білих кров'яних тілець [46].

У 1845 році про низку пацієнтів, що померли із збільшеною селезінкою та зміною «кольору та консистенції крові», повідомив шотландський патологоанатом Джон Х'ю Беннетт (англ. – John Hughes Bennett) (1812 – 1875), що працював в Единбурзі. Він використовував термін «лейкоцитемія» для опису цього патологічного стану – безумовно, що він зіштовхнувся з лейкозами, в тому числі з гострим лімфобластним лейкозом. Результати досліджень лейкозів він опублікував у праці «Гіпертрофія селезінки та печінки» [72].

Слід зазначити, що деякі історики науки вважають першовідкривачем лейкозів Альфреда Франсуа Донне (1801 – 1878) – французького бактеріолога і лікаря. Донне народився в місті Нойон, Франція, а працював і помер у Парижі. Його внесок у дослідження лейкозів вагомий – він першим почав досліджувати лейкози на цитологічному рівні. Крім цього він першим відкрив вагінальні трихомонади, першим винайшов мікрофотографію.

Термін «лейкемія», що нині є синонімом слова «лейкоз» вперше запропонував німецький патологоанатом, лікар, цитолог, онколог, антрополог Рудольф Людвіг

Карл Вірхов (нім. – Rudolf Ludwig Carl Virchow) (1821 – 1902) у 1845 році. Він же запропонував виділити лейкози як окрему групу захворювань, вперше відмітив збільшення числа лейкоцитів у крові, як основний клінічний симптом захворювання [94].

Подальший прогрес у вивченні лейкозів був пов'язаний з розвитком медичних, діагностичних та біологічних технологій.

У 1877 році Пауль Ерліх (нім. – Paul Ehrlich) (1854 – 1915) розробив методіку фарбування препаратів крові, що дозволило йому детально описати нормальні та патологічні лейкоцити. Він став лауреатом Нобелівської премії, він відомий працями в галузях гематології та імунології. Був першим розробником методів антимікробної хіміотерапії.

У 1889 році Вільгельм Ебштейн (нім. – Wilhelm Ebstein) (1836 – 1912) запропонував термін «гострий лейкоз» для диференціації швидко прогресуючих та смертельних лейкемій, відрізняючи їх від повільнопрогресуючих форм лейкозів, які потім назвали хронічними лейкозами. Ебштейн був родом з міста Явора (Польща), навчався в Берліні, був учнем Рудольфа Вірхова і працював у Бреслау (Вроцлаві). Відомий своїми працями в галузях дієтології. Крім лейкозів досліджував цукровий діабет, подагру, ожиріння.

Термін «мієлоїдна лейкемія» був запропонований Францом Ернстом Крістіаном Нейманом (нім. – Franz Ernst Christian Neumann) (1834 – 1918) в 1869 році. Нейман першим виявив, що білі кров'яні клітини утворюються в червоному кістковому мозку (грецьке: μυελός, myelos – кістковий мозок), а не в селезінці, як це вважалося раніше. Нейман був учнем Вірхова, працював в Альбертінському університеті (Кенігсберг), де здобув ступінь доктора. Досліджував гемопоез, еритропоез, лейкопоез, анемії. Відкрив стовбурову клітину червоного кісткового мозку, як клітину, яка започатковує утворення всіх клітин крові. Під «мієлоїдною лейкемією» він розумів (з сучасної точки зору) як лімфобласний лейкоз так і мієлобласний лейкоз – як хронічні так і гострі форми цих патологій.

Методика обстеження червоного кісткового мозку для діагностики лейкозу вперше була запропонована в 1879 році Ф. Мослером (нім. – Mosler F.).

У 1900 році швейцарський гематолог Отто Негелі (нім. – Otto Naegeli) (1871 – 1938) описав клітину мієлобласт як злоякісну клітину при гострому мієлобластному лейкозі (ГМЛ). Отто Негелі розділив лейкемії (лейкози) на мієлоїцитарні (мієлоїдні) та лімфоцитарні (лімфоїдні).

Еллерманн (Ellermann) у 1921 році виявив, що при лейкозах відмічається зниження числа зрілих диференційованих лейкоцитів і переважання серед лейкоцитів незрілих, недиференційованих елементів. Він же запропонував термін «лейкоз». Думку про те, що лейкоз є онкологічним захворювання вперше висловив ще Бірк Л. М. у 1883 році.

У ХХ столітті висловлювались різні гіпотези про механізми патогенезу лейкозів і тільки в 80-тих роках ХХ століття було доведено, що мутації протоонкогенів є причиною онкотрансформації попередників клітин крові в червоному кістковому мозку і виникнення злоякісних клонів в периферійній крові хворих на різні форми лейкозів. Була розроблена детальна класифікація лейкозів не тільки за морфологією, але і за імунологічними характеристиками трансформованих бластних клітин. Було виділено і досліджено протоонкогени і їх мутантні форми – онкогени, що викликають онкотрансформацію клітин при лейкозах, а також були виявлені хромосомні мутації, що зачіпають протоонкогени, і можуть бути причиною розвитку різних форм лейкозів.

Хайхоу (Hayhoe) у 1960 році на основі цитологічних досліджень розділив лейкози на наступні групи: лімфобластний, мієлобластний, монобластний, еритробластний. При цьому кожна форма лейкозу може зустрічатися у вигляді хронічного і гострого лейкозу щодо темпів перебігу розвитку патологічних процесів.

У 2008 році був повністю секвенований геном бластної клітини хворого на гострий мієлобластний лейкоз. Це був перший в історії науки випадок повного секвенування геному ракової клітини.

Нині загально визнаною першопричиною патогенезу гострих лейкозів є утворення або привнесення в клітину онкогена з подальшою трансформацією клітин у

результаті роботи цього онкогена. Але ця ідея народжувалась довго і мала свою історію.

Онкоген – це ген, експресія якого в клітині перетворює цю клітину з нормальної на ракову. У клітинах наявні чисельні нормальні гени – протоонкогени, мутації яких чи мутації їх регуляторних елементів перетворюють їх на онкогени. Нормальні клітини зазнають апоптозу – запрограмованої загибелі клітин, якщо їх функції змінені або припинені. Онкогени можуть бути причиною виживання клітин, що були призначені для апоптозу. Більшість відомих протоонкогенів – це гени, що контролюють проліферацію клітин та апоптоз. Якщо ген, що є фактором проліферації мутує, це може призвести до посилення його функції, і клітини починають ділитися невинно і неконтрольовано. Множинні онкогени разом з мутованими генами апоптозу та генами супресії проліферації можуть діяти узгоджено, викликаючи онкотрансформацію.

Вперше гіпотезу про існування онкогенів висловив німецький цитолог Теодор Гайнріх Бовері (1862 – 1915) в роботі «Zur Frage der Entstehung Maligner Tumoren» («До питання про походження злоякісних пухлин») у 1914 році.

Але термін онкоген отримав загальне визнання і поширення тільки в 1969 році після публікації робіт Джорджа Тодаро та Роберта Хюбнера, що працювали в Національному інституті раку (США). Першим онкогеном, існування якого було реально доведено був онкоген SRC – онкоген, що викликає розвиток саркоми і міститься в одному з ретровірусів курей. Відбулося це в 1970 році. Експерименти доктора Джорджа Стіва Мартіна довели, що ген SRC справді викликає онкотрансформацію клітин. Нуклеотидна послідовність цього онкогена (*v-Src*) була розшифрована в 1980 році. Здійснив це Чернілофські А. П. (Czernilofsky A. P.). У 1976 році Домінік Штехелін, Дж. Майкл Бішоп та Гарольд Е. Вармус з Каліфорнійського університету (Сан-Франциско) продемонстрували, що онкогени можуть утворюватись з протоонкогенів, які є в геномах багатьох організмів, включаючи людину. За це їм була присуджена Нобелівська премія в 1989 році.

Загалом, як видно з вищевикладеного, попри те, що гострі лейкози та лімфоми були відкриті та виділені як окремі захворювання ще в середині XIX століття,

розуміння суті захворювання та чітка класифікація лейкозів прийшли в медичну науку досить пізно. По суті тільки в 1948 році утвердилася в наукових колах думка, що лейкози – це онкологічні захворювання і були здійснені перші спроби лікування лейкозів методами хіміотерапії.

Сама хіміотерапія онкологічних захворювань і гострих лейкозів, зокрема, має свою історію. Вперше ідею хіміотерапії лейкозів висловили після проведення досліджень наслідків застосування хімічної зброї. Під час Першої світової війни крім різних інших токсичних речовин застосовували під час військових дій таку сполуку як «гірчичний газ» (іприт, 2,2'-дихлордиетиловий тіоефір). Хоча застосування хімічної зброї і цієї сполуки, зокрема, було заборонено міжнародним договором 1925 року, але всі усвідомлювали, що небезпека застосування хімічної зброї існує і дослідження наслідків дії цієї речовини на людський організм тривали.

Фармакологи Єльської школи Луїс С. Гудман та Альфред Гілман виявили, що сполуки подібні до «гірчичного газу», діють на ракові клітини і запропонували модифікувати сполуку з метою зробити її менш леткою для проведення подальших досліджень. Доктор Старт Френсіс Олександр, досліджуючи наслідки враження людей «гірчичним газом» під час Другої світової війни, виявив, що ця сполука пригнічує ріст лімфоїдної та мієлоїдної ліній клітин крові, майже не впливає на певні типи нормальних клітин, але водночас пригнічує певні типи ракових клітин.

Опираючись на ці дані Гудман та Гілман запропонували застосовувати сполуки аналогічні «гірчичному газу» для лікування в онкологічних захворювань, в тому числі лейкозів. Вперше позитивний результат було досягнуто при дії цих сполук на лімфоми мишей. Далі в співпраці з хірургом Густавом Ліндскогом вони спробували застосувати ці сполуки для лікування негоджкінської лімфоми людини і спостерігали різке зниження маси пухлини в результаті терапії. Повідомлення про перші клінічні випробування цих перших засобів хіміотерапії датується 1946 роком.

У той же час – після Другої світової війни Сідні Фарбер з Гарвардської медичної школи дослідила вплив фолієвої кислоти на патогенез лейкозів і виявила, що ця речовина стимулює ріст числа лімфобластів у хворих на гострий лімфобластний лейкоз (ГЛЛ). Вона запропонувала застосовувати аналоги фолатів – антагоністів фолієвої кислоти для блокади ферментів, що потребують фолатів і, таким чином, здійснювати хіміотерапію ГЛЛ. Цими першими аналогами були аміноптерин та метотрексат. Цими методами вперше вдалося досягти ремісії у хворих на ГЛЛ у 1948 році. Ці перші випадки ремісії були короткочасними, але це вселяло надію на успіх подальших досліджень. Ці дослідження викликали опір і спротив у тодішніх медичних наукових колах – у той час вважалося, що гострі лейкози принципово невиліковні.

У 1951 році Джейн К. Райт успішно використала метотрексат для лікування солідних пухлин – раку молочної залози. А в 1956 році Рой Герц успішно використав метотрексат для лікування хоріокарциноми та хоріоаденоми.

У 1955 році був створений Національний центр хіміотерапії раку в США завдяки зусиллям доктора Джона Р. Геллера-молодшого.

У 1965 році Джеймс Ф. Голланд, Еміль Фрейрейх та Еміль Фрей запропонували комбіновану хіміотерапію для лікування онкологічних захворювань, припустивши, що раковим клітинам буде складніше протистояти дії комбінації різних хімічних засобів. Завдяки цим технологіям вдалося досягти тривалої ремісії в дітей хворих на гострий лімфобластний лейкоз (ГЛЛ). Були розроблені перші протоколи комбінованої хіміотерапії, завдяки яким ГЛЛ став нарешті виліковним, хоча не в усіх випадках вдається досягти бажаного результату – тривалої ремісії у пацієнта хворого на ГЛЛ, що вважається рівнозначним повному видужанню.

1.2. Загальна характеристика гострого лімфобласного лейкозу.

Гострий лімфобластний лейкоз (ГЛЛ) – найпоширеніше онкологічне захворювання у дітей. З усіх форм лейкозу більше 80 % захворювання у дітей припадає на ГЛЛ. Першопричиною захворювання є мутація протоонкогену в лімфоїдній лінії кровотворення у червоному кістковому мозку і виникнення клону онкотрансформованих клітин. Імовірність такої мутації різко зростає у людей, що є гомозиготними за мутаціями генів, що забезпечують процес репарації ДНК (анемія Фанконі, синдром Блума та ін.). У чисельних дослідженнях різних авторів відмічено спадковий характер схильності до захворювання на ГЛЛ.

У процесі розвитку захворювання клон злоякісних лімфобластів (при ГЛЛ) витісняє з кісткового мозку клітини нормального кровотворення і починає заселяти периферійну кров.

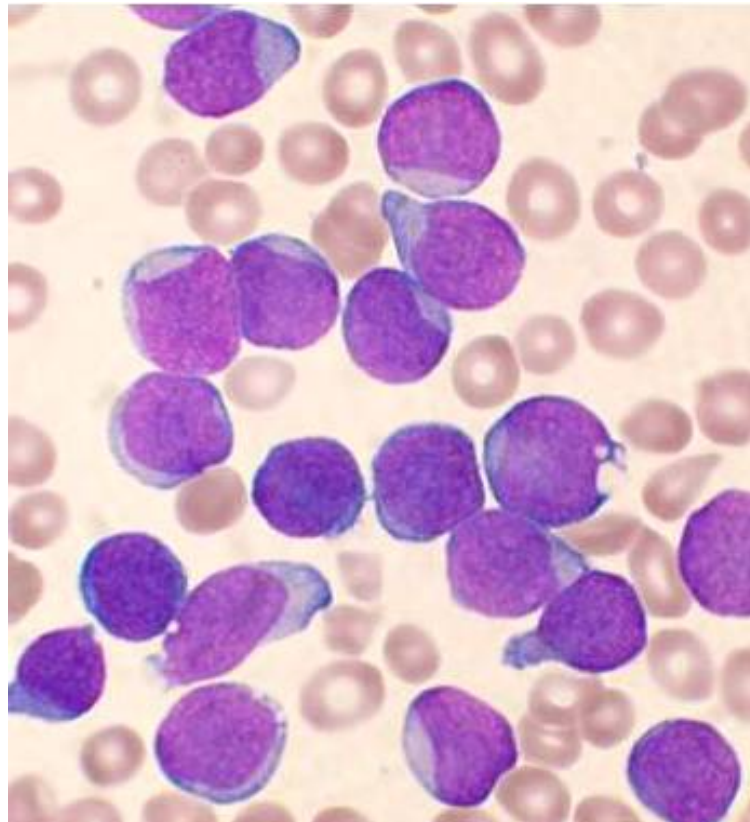


Рис. 1.2.1. Лімфобласти в периферійній крові хворого на ГЛЛ.

Пік захворювання на ГЛЛ у дітей припадає на вік від 1 до 6 років. У дорослих спостерігається пік захворювання на ГЛЛ у похилому віці – після 60 років. Серед ГЛЛ трапляються В-клітинні і Т-клітинні форми. Частка В-клітинних форм складає 80 – 85 % випадків захворювання ГЛЛ, Т-клітинних форм 15 – 20 % захворювань. Згідно різних джерел ГЛЛ частіше трапляється у дітей чоловічої статі – співвідношення складає біля 2:1.

На сьогодні найбільш загальноприйнятою є FAB-класифікація ГЛЛ. Згідно цієї класифікації виділяють наступні різновидності ГЛЛ:

L1 – гострий мікролімфобластний лейкоз – лімфобласти периферійної крові мають малі розміри, ядро не структуроване, ядерця не простежуються. У світовій практиці вважається, що 85 % випадків ГЛЛ належать саме до цього типу ГЛЛ.

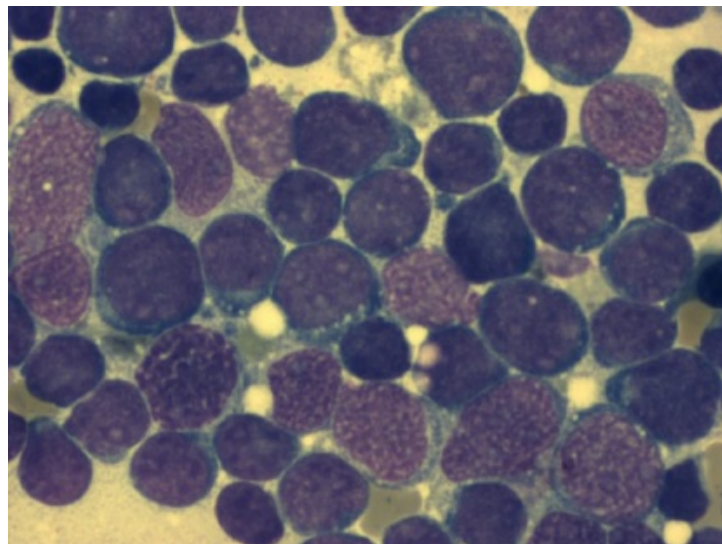


Рис. 1.2.2. Препарат червоного кісткового мозку хворого на ГЛЛ.

L2 – лімфобласти периферійної крові мають великі розміри зі структурованим ядром, вираженими 1 або 2 чіткими ядерцями (нуклеолами).

L3 – гострий макролімфобластний або пролімфобластний лейкоз – простежуються у периферійній крові специфічні крупні лімфобласти з ніжно сітчастим хроматином ядра, крупними нуклеолами та базофільною цитоплазмою. Подібні клітини характерні також для лімфоми Беркетта.

Крім FAB-класифікації застосовується імунологічна система класифікації ГЛЛ. Розрізняють: В-лімфобласти, пре-В-лімфобласти, пре-пре-В-лімфобласти, про-Т-лімфобласти, пре-Т-лімфобласти, кортикальні Т-лімфобласти, зрілі $\alpha\beta$ Т-лімфобласти, зрілі $\gamma\delta$ Т-лімфобласти. Виділяють ще 0-лімфобластний лейкоз або ні-В-ні-Т- лімфобластний лейкоз.

Симптоми перебігу ГЛЛ пов'язані з зменшенням утворення нормальних клітин крові в червоному кістковому мозку. При цьому ресурси використовуються для проліферації ракових клітин замість нормальних функціональних клітин. Симптоми проявляються у вигляді гарячки, підвищеного ризику інфікування (особливо бактеріальними інфекціями, в тому числі пневмонією), простежується біль у грудях, кашель, блювання, порушення згортання крові (внаслідок тромбоцитопенії), ознаки анемії, в тому числі блідість, тахікардія, втома, головні болі.

У США щорічно фіксується більше 6000 випадків нових захворювань на ГЛЛ. Серед європеїдної раси захворювання діагностується частіше, ніж серед негроїдів чи метисів Латинської Америки. Серед дітей сучасними методами лікування (хіміотерапія + опромінення) вдається досягти тривалої ремісії у 80 % випадків захворювання. Щодо дорослих, то лише 20 % хворих на ГЛЛ досягають тривалої ремісії. Термін «гострий» щодо лімфобластного лейкозу застосовується у випадках, коли більше 20 % клітин червоного кісткового мозку є онкотрансформованими лімфобластами.

ГЛЛ був першим онкологічним захворюванням щодо якого було розроблене високоефективне лікування методом хіміотерапії. Антифолати типу аміноптерину та метотрексату були розроблені ще наприкінці 40-х років Сідні Фарбер. У ті часи лікар ще не потребував згоди пацієнта чи його батьків на хіміотерапію, оскільки Нюрнберзький протокол ще не був прийнятий. Спочатку при лікуванні ГЛЛ спробували використовувати фолієву кислоту, що мало катастрофічні наслідки для пацієнтів і прискорювало їх смерть.

Мутація протоонкогену в клітинах лімфобластів призводить до неконтрольованого росту популяції клітин лімфобластів, що поширюються по

всьому тілу хворого. Активна проліферація клітин відбувається за рахунок порушення міжклітинної сигналізації, або шляхом неадекватного реагування на хімічні сигнали, що контролюють ріст. У результаті мутації може утворитися так званий химерний ген, що складається з частин різних генів, або може порушитись регуляція активності протоонкогену, привнесення його в область роботи іншого промотора. Мутагенами можуть бути хімічні речовини, радіація, різні фізичні процеси на рівні стресу, процеси порушення мітозу чи порушення інших процесів в клітині (механізмів репарації ДНК та ін.), віруси, чужорідна ДНК.

Високий рівень опромінення іонізуючою радіацією є відомим фактором ризику виникнення ГЛЛ. Це було продемонстровано під час досліджень наслідків ядерних вибухів в Хіросімі та Нагасакі. Є дані, які свідчать, що причинами мутацій, що спричинили ГЛЛ є хімічні речовини, які використовували при лікуванні інших онкологічних захворювань.

Початкові прояви ГЛЛ не є характерними і виникають як порушення нормального кровотворення, зменшення кількості еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів в периферійній крові. Для діагностики необхідні лабораторні дослідження, в тому числі клінічні аналізи крові, цитологічні, біохімічні, пункція кісткового мозку. При ГЛЛ простежується симптоматика, що може змінюватись з перебігом захворювання:

- Загальна слабкість
- Втома
- Запаморочення
- Анемія
- Часті підвищення температури
- Часті інфекції
- Втрата ваги і апетиту
- Надмірні безпричинні гематоми
- Біль у кістках і суглобах
- Задишка

- Збільшені лімфовузли
- Збільшена печінка
- Збільшена селезінка
- набряки кінцівок та/або живота
- Червоні плями та лінії на шкірі

Діагностика ГЛЛ починається з огляду пацієнта, клінічного аналізу крові. Першою підставою для діагнозу ГЛЛ є лейкоцитоз за рахунок лімфоцитозу, «лейкемічний провал» та наявність бластних клітин у препараті периферійної крові. Не слід виключати інших захворювань, що мають ті ж прояви, що ГЛЛ. Переважно, чим вищий рівень лейкоцитозу, тим гірший прогноз. У більшості випадків ГЛЛ бластні клітини спостерігаються в периферійній крові хворих. Переконливий доказ діагнозу ГЛЛ дає біопсія червоного кісткового мозку з подальшим цитологічним та імунологічним аналізом. Пункція рідини спинного мозку дає можливість встановити, чи відбулось вторгнення бластних клітин у центральну нервову систему.

Імунофенотипування та цитогенетичні дослідження бластних клітин (виявлення характерних хромосомних аномалій) дозволяє встановити: онкотрансформація клітин якої лінії відбулась — мієлобластної чи лімфобластної. РНК-тести дозволяють встановити – наскільки агресивним є захворювання. Різні мутації мають різний прогноз щодо перебігу захворювання. Імуногістохімічні тести дозволяють виявити антигени TdT або CALLA на поверхні лейкозних клітин. TdT — це білок, що експресується в пре-Т та в пре-В клітинах, тоді як CALLA є антигеном, що виявляється в 80 % ГЛЛ та в кризовому піку ХМЛ.

Ультразвукове обстеження може виявити вогнища лімфобластів, що проникли в різні органи: легені, печінку, селезінку тощо.

Завдяки розвитку методів лікування, зокрема хіміотерапії, радіотерапії, методів трансплантації кісткового мозку виживання дітей хворих на ГЛЛ зросло з 0 % у 1970 році до 85 % у 2017 році. Є низка факторів, які впливають на перебіг ГЛЛ:

- Статевий фактор — частота досягнення ремісії у жінок вища, ніж у чоловіків. Чоловіки частіше хворіють на ГЛЛ.

- Етнічний фактор — європеїди частіше хворіють на ГЛЛ, ніж негроїди, монголоїди, метиси. Але імовірність видуження чи тривалої ремісії в європеїдів вища ніж у представників інших рас у випадку захворювання.
- Віковий фактор — діти віком від 1 до 10 років частіше досягають ремісії чи виліковуються, ніж більш старші вікові групи. У похилому віці ГЛЛ часто викликається хромосомними аномаліями, що пов'язані з поганим прогнозом перебігу захворювання.
- Цитологічний фактор — сприятливий прогноз мають переважно пацієнти у яких рівень бластів в крові менший ніж 50 000/мкл.
- Поширення бластів у ЦНС — поганий прогноз.
- Морфологічні, імунологічні та генетичні підтипи мають різний прогноз перебігу захворювання.
- Реакція організму пацієнта на хіміотерапію впливає на прогноз перебігу ГЛЛ.
- Генетичні патології, такі як синдром Дауна, синдром Блума, анемія Фанконі пов'язані з поганим прогнозом перебігу ГЛЛ.

Мутації протоонкогенів, як першопричина ГЛЛ можуть бути викликані мутаціями хромосом в лімфоїдних лініях клітин, що зачіпають протоонкогени і є причиною перетворенням їх в онкогени. Серед хромосомних мутацій які фіксуються при ГЛЛ, розрізняють первинні і вторинні. Первинні є причиною появи онкотрансформованого клону клітин, вторинні з'являються в злоякісному клоні пізніше як наслідок нестабільності геному ракових клітин і є причиною додаткової малігнізації і поліморфізму клонів клітин.

Найпоширенішими первинними хромосомними мутаціями при ГЛЛ є:

- $t(9;22)(q34;q11.2)$ – з утворенням так званої «філадельфійської хромосоми» і утворенням химерного онкогену TEL-ALB (інша назва BCR-ABL1). Ця хромосомна аномалія спричинює біля 3 % ГЛЛ у дітей. Ця форма ГЛЛ характеризується агресивним перебігом.

- $t(12;21)(p13;q22)$ – з утворенням химерного онкогену ETV6-RUNX1 (TEL-AML1). Ця хромосомна мутація часто буває криптичною (мікромутацією). Ця мутація зустрічається в 25 % В-форми ГЛЛ у дітей.
- $t(1;19)(q23;p13)/der(19)t(1;19)$ – з утворенням химерного онкогену E2A-PBX1(TCF3-PBX1). Трапляється у 5 % ГЛЛ у дітей.

Відомі інші первинні хромосомні мутації, що викликають ГЛЛ у дітей, які трапляються значно рідше:

- $t(17;19)$ – з утворенням химерного онкогену E2A-HLF.
- $t(14;18)$ – з утворенням химерного онкогену IGH-BCL-2.
- $t(4;11)$ – з утворенням химерного онкогену MLL-AF4.
- $t(9;11)$ – з утворенням химерного онкогену MLL-AF9.
- $t(11;19)$ – з утворенням химерного онкогену MLL-ENL.
- $t(1;4)$ – з утворенням химерного онкогену ALL1-AF4.
- $del(14q;32.2)$ – з утворенням онкогену BCL11B.
- $del(7q;36.1)$ – з утворенням онкогену EZH2.
- $del(4q;25)$ – з утворенням онкогену LEF1.
- $del(17q;11.2)$ – з утворенням онкогену NF1.
- $del(Xq;26.2)$ – з утворенням онкогену PHF6.
- $del(10q;23.31)$ – з утворенням онкогену PTEN.
- $del(18p;11.2)$ – з утворенням онкогену RPTN2.
- $del(9p;21)$ – з утворенням онкогену CDKN2 (BCR/ABL).

Відома ще ціла низка мутацій при ГЛЛ, які вважають вторинними – не доведено їх первинність і не ідентифіковано онкогени, що пов'язані з цими хромосомними мутаціями, наприклад: $del(7)(q32)$; $del(12)(p11)$ та інші.

Крім мутацій клітинних протоонкогенів першопричиною ГЛЛ може бути привнесення в клітину лімфоїдної лінії червоного кісткового мозку онкогену вірусом, зокрема вірусом Епштейна-Барр.

Вірус Епштейна-Барр або герпесвірус людини типу 4 один із вірусів, що належить до підродини γ -герпесвірусів родини герпесвірусів. Його геном являє собою

дволанцюгову ДНК, вірус в процесі свого розвитку не має стадії РНК. Цей вірус здатний успішно розмножуватись в культурі клітин лімфом, моноклеарів, лімфобластах різних гострих лейкозів, в культурі клітин головного мозку здорових людей. У багатьох людей зараження вірусом Епштейна-Барр проходить безсимптомно і не має серйозних наслідків для здоров'я. При зараженні клітин цей вірус (на відміну від багатьох інших герпесвірусів) не викликає загибель клітин, а навпаки, активує їх проліферацію. Віріони включають антигени: капсидний – VCA, ядерний – EBNA, ранній – EA, мембранний – MA. Вірус названий на честь вірусологів Майкла Ентоні Епштейна та Івонни Барр, що описали цей вірус в 1964 році. Цей вірус вважається одним із найпоширеніших вірусів в популяціях людини – вважається, що 95 % людей у світі інфіковані вірусом Епштейна-Барр. Питання тільки в тому, чому в одних випадках інфікування цим вірусом не має практично ніяких наслідків, а в інших випадках наслідки фатальні чи навіть летальні.

З часів відкриття та ідентифікації онкогенів було досліджено багато аспектів онкогенезу – як на хромосомному, так і на генному рівні. Особливо багато робіт стосуються генетики та цитогенетики гострих лейкозів – як лімфобластного, так і мієлобластного гострих лейкозів – ці патології стали одними з модельних об'єктів щодо досліджень онкогенезу – з цілої низки причин (в першу чергу через відносну легкість культивування клітин). У 1980-их та 1990-их роках стався певний прорив в царині генетичних аспектів лейкозів – як теоретичної сторони проблеми онкогенезу, так і практичної. Були розроблені методи точної ранньої діагностики з використанням генетичних маркерів, успішне лікування, досягнення тривалої ремісії, повне видужання – все це стало реальністю, хоча останній з описаних досягнень все ще не досить часта подія [14, 111, 70]. Але ціла низка проблем, аспектів та питань, які стосуються онкогенезу взагалі і онкогенезу гострих лейкозів та лімфом, зокрема, досі лишаються малодослідженими або недослідженими взагалі. Серед цих питань проблемним лишаються причини нестабільності геному при лейкозах (лейкеміях) – нестабільності як однієї з причин лейкозів, так і причин нестабільності мутантних онкотрансформованих

клонів. У стрункій теорії онкогенезу гострих лейкозів та лімфом є низка питань, на які досі не дано вичерпної відповіді, низка положень теорії онкогенезу лейкозів досі лишаються гіпотетичними. До малодосліджених феноменів, що супроводжують гострі лейкози, належить і феномен передчасного розділення центромер метафазних хромосом (ПРЦ). Але перш ніж викласти сучасні уявлення про цей феномен, слід розглянути сучасну теорію онкогенезу гострих лейкозів і гострого лімфобластного лейкозу (ГЛЛ) зокрема, викласти сучасні погляди на механізм патогенезу, розвитку та перебігу цього захворювання.

Загалом на сьогодні гострий лімфобластний лейкоз (ГЛЛ) визначають як пухлинний процес, основу якого складає гіперплазія патологічного клону клітин з високими проліферативними потенціями лімфоцитарної лінії клітин кісткового мозку [9]. Це захворювання розуміють як дисбаланс процесів проліферації і диференціації в класі стовбурових клітин, при якому вражаються гемопоетичні попередники різного рівня диференціювання: від поліпотентних стовбурових клітин до комітованих попередників лімфопоезу [8]. Будучи крайньою формою патології клітин-попередників, ГЛЛ є природною моделлю для вивчення властивостей стовбурових клітин кровотворення в людини. Багато закономірностей, виявлених в умовах цієї патології, стали основою для створення гіпотез і теорій по клініці гемопоезу в нормі [14]. В умовах чітко окресленого патологічного процесу є особливо цікавим визначення низки факторів, що беруть участь у механізмах розвитку захворювання [8, 9]. Для дослідження різних аспектів і особливостей онкогенезу, клітинного циклу, клітинного росту, цитологічних, цитогенетичних, молекулярно-генетичних аспектів на різних стадіях патогенезу, поглиблене вивчення селективної дії цитостатичних препаратів на різних стадіях життєвого циклу злоякісних клітин дозволяє більш раціонально підійти до проблеми діагностики та лікування ГЛЛ, до більш раціонального комбінування хіміопрепаратів і в кінцевому результаті до більш ефективного лікування [9, 16].

У 1970-тих роках вивчення проблем патогенезу гострих лейкозів супроводжувалось використанням досягнень фармакології, молекулярної

генетики, цитогенетики, цитології, імунології, біохімії. Накопичувалось все більше даних про спадковий характер гострих лейкозів: було продемонстровано, що в сім'ях, де зустрічались випадки ГЛЛ, ризик захворювання на ГЛЛ в 4 рази вищий, аніж в інших групах населення. Було виявлено зв'язок між патогенезом гострих лейкозів та різними відомими хромосомними патологіями – було виявлено, що частота гострих лейкозів зростає при деяких хромосомних патологіях, таких як синдром Дауна і синдром Клайнфельтера. Так, при хворобі Дауна імовірність захворювання на ГЛЛ зростає у 30 разів. Згідно з даними Дегоса Л. (Degos L.), якщо один з монозиготних близнюків захворів на ГЛЛ, то імовірність захворіти іншому близнюку становить понад 25 %. Багато дослідників прийшли до висновку, що генетичні фактори визначають тільки схильність до ГЛЛ, яка потім реалізується під час дії мутагенів різної природи (фізичної, хімічної, біологічної) [9, 14].

Застосування в гематологічній практиці цитогенетичних методів, особливо методів диференційного забарвлення хромосом, а пізніше методів затримки конденсації хромосом, що розробив Юніс Дж. (Yunis Y.) на початку 1980-тих років, здійснило переворот в дослідженні онкогенезу гострих лейкозів, а в першу чергу онкогенезу ГЛЛ [243]. Дані, отримані цитогенетичними методами, а пізніше і методами полімеразної ланцюгової реакції (PCR), послужили основою для створення сучасної теорії онкогенезу взагалі і гострих лейкозів та лімфом зокрема. Саме завдяки роботам Юніса Дж. було виявлено, що хромосомні дефекти наявні в 96 % випадків гострих лейкозів та лімфом, і, що переважна більшість цих дефектів (60 %) є стійкими і не випадковими хромосомними аномаліями [243]. Три основних досягнення цитогенетики сприяли цьому відкриттю. Першим досягненням була розробка в 1970 році методу диференційного забарвлення хромосом та їх ідентифікація за індивідуальним малюнком смуг еухроматину та гетерохроматину, що складається з 150 – 320 сегментів. Саме це дозволило розпізнавати аномалії хромосом при лейкозах, в тому числі дрібні сегментні хромосомні мутації (делеції, дуплікації, інверсії та ін.). До цього єдиною відомою аномалією при лейкозах була філадельфійська

хромосома (ph^+). Другим досягненням було відкриття того факту, що при лейкозах наявна хромосомна аномалія може і не виявлятися з цілої низки об'єктивних причин (ріст в культурі виключно нормальних клонів та ін.). Третім і найважливішим досягненням була, власне, розробка в лабораторії Юніса Дж. методу метотриксатної синхронізації клітинного циклу в ролі рутинного методу вивчення хромосом при лейкозах по 400, 550, 850, 1000 сегментах хромосом [243]. Цей метод в сукупності з методом затримки конденсації хромосом дозволив отримати більшу кількість мітозів з диференційним забарвленням високої якості, на яких стало можливо виявляти нерозпізнані раніше аномалії хромосом і на більш досконалому рівні визначати специфічні хромосомні ділянки, що відіграють суттєву або визначальну роль в канцерогенезі [112]. До використання методу затримки конденсації хромосом хромосомні аномалії виявлялись лише в 50 % випадках ГЛЛ, і специфічність та первинність їх була під сумнівом. Стійкі хромосомні аномалії виявлялись лише у невеликої частини пацієнтів. Після застосування цього методу клональні хромосомні аномалії були виявлені в 96 % хворих на ГЛЛ [56, 57, 58, 59, 243].

Сучасна теорія онкогенезу лейкозів має генетично-мутаційну основу (теорія спонтанної мутації). Спонтанні мутації у визначеному локусі, у конкретній хромосомі, визначеній зоні гена, що відповідає за проліферацію і диференціювання певної клітинної лінії, виникають лише за умов підвищеної мутабільності нормальних клітин (або згідно інших уявлень – за умов наявності нестабільних ділянок хромосом, що передаються по спадковості [78, 243]), яка може бути властива певному клітинному пулу в особливий період розвитку (наприклад, коли наявна висока проліферативна активність клітин-попередників імунопоезу у новонароджених дітей і дітей молодшого віку) [7, 8, 9, 14]. У такій популяції, що нараховує 10^5 клітин, продукується $1,8 \cdot 10^{18}$ клітин-попередників лімфопоезу з великою ростовою здатністю. Згідно частоти спонтанних мутацій ($10^5 - 10^6$ на кожний клітинний цикл), з'являється можливість розвитку 2-3 випадків лейкозних клонів, що відповідає частоті гострих лейкозів у дітей [9].

Підвищений рівень мутабільності може бути викликаний спадковою нестабільністю генетичного апарату, вірусним, радіаційним, хімічним чи іншими факторами [6]. Далі властива патологічному клону з цієї мутованої клітини хромосомна нестабільність призводить до повторних мутацій і формування злякисних автономних клонів і пухлинної прогресії, поліморфізму онкотрансформованих клітинних популяцій і субпопуляцій. В онкогенезі ГЛЛ особливу роль відіграють механізми природної резистентності і стабільності генотипу, що може мати значення в розробці профілактики гострих лейкозів. Не менш важливими є і імунологічні аспекти онкогенезу гострих лейкозів та проблема природної елімінації мутантних і мутагенних клонів клітин. На думку Альбертса Б. зі співавторами питання зараз стоїть: не чому і як виникають гострі лейкози, а чому вони виникають так рідко [6]. Прогрес в області цитології, морфології і функціональної гематології дозволяє досить точно уявити собі механізми порушення кровотворення при гострих лейкозах – цитопатогенез гострих лейкозів з кожним роком, з кожним кроком наукових досліджень стає все більш і більш зрозумілим.

Загалом, на сьогодні з'являється все більше фактів, які підтверджують думку, що у кожної людини кожен день з'являються ракові клітини, зокрема лейкозні. Але всі люди не хворіють на лейкози чи інші форми раку – спрацьовують чисельні захисні механізми. Якщо відбувається мутація протоонкогену чи його регуляторної області, то запускаються системи репарації ДНК (їх виявлено цілу низку) – ушкоджена ділянка ДНК повертається в свій початковий стан; якщо це не спрацьовує – діють так звані «молекулярні поліцейські» - молекули, що виводять клітину з клітинного циклу; потім запускається апоптоз – запрограмована смерть клітини; якщо це не спрацьовує – працює імунна система – спеціалізовані клітини-кілери знищують небезпечні чи потенційно небезпечні клітини. І тільки, коли всі ці системи не спрацьовують – починається патогенез відповідної форми онкологічних захворювань. Підвищений ризик захворіти на гострий лейкоз чи лімфому мають люди, які є гомозиготними за мутантними генами, що контролюють певну форму репарації ДНК, апоптоз, синтез

«молекулярних поліцейських», мають певну форму імунодефіциту – спадкову чи набуту.

Нині загально визнаною стала клональна теорія патогенезу гострих лейкозів, згідно з якою гострий лейкоз чи лімфома є наслідком проліферації неконтрольованого автономного клону клітин, що втратили притаманну їм нормальним здоровим аналогам здатність до диференціювання і дозрівання. З точки зору багатьох авторів утворення лейкозного клону є багатоступінчастим процесом [14]. Висловлюється гіпотеза про існування нестабільних ділянок хромосом, що успадковуються згідно законів Менделя [68, 142]. Якщо локалізація цієї ділянки співпадає з локалізацією протоонкогенів (таких як ABL чи *c-myc*, зокрема), існує велика ймовірність хромосомної мутації з наступним перетворенням протоонкогена в онкоген чи утворенням химерного гена (такого як E2A-ABL), що також є онкогеном. Тобто початкова подія під час патогенезу ГЛЛ – це патологічна мутація в структурному гені поліпотентної стовбурової клітини, що призводить до утворення клону з нестабільним геномом, що дуже чутливий до мутагенних впливів [243]. Цей клон на початку свого існування правильно виконує всі програми диференціації, маючи лише переваги в рості перед нормальними клонами клітин. У реальності існування такого клону переконують ціла низка робіт та експериментальних моделей культивування кісткового мозку мишей – роботи Мура М. (Moog M.). Про наявність латентного мутантного клону на ранніх стадіях розвитку гострих лейкозів у дітей при відсутності клінічної картини лейкозів свідчать дослідження сидеробластної анемії, панцитопенії та інших патологічних станах, які вважають передлейкозними. Для розвитку гострих лейкозів, тобто для бластної кризи, необхідні, на думку багатьох авторів, додаткові зміни в геномі генетично нестабільного клону, що призводять до спотворення і блокування програм клітинного диференціювання [123]. Репродуктивна здатність такого клону ще більше зростає, він витісняє інші, розвивається типова картина гострого лейкозу – бластна криза. Передіснування генетично нестабільного клону або нестабільних клітин в різних лініях призводить до утворення різних клонів з різним генотипом і

каріотипом (вторинний поліморфізм клітинної субпопуляції). Ці клітини втрачають здатність до подальшого диференціювання [131]. Цей факт пояснює утворення так званих «міксів» - лейкозів мішаного типу, а також заміни одного лейкозного клону іншим при гострих лейкозах та їх бластних кризах. Крім припинення диференціювання, в лейкозному клоні може відбутися спотворення фізіологічного блокування програм диференціювання. При цьому можуть одночасно в мутантних клітинах працювати різні програми, що призводить до розвитку лейкозів-химер і так званих D-клітинних лейкозів [7, 8].

Ріст лейкозної популяції починається з однієї клітини, швидкість росту залежить від багатьох факторів, не всі з яких наразі відомі [160]. Але безсумнівно, що явище апоптозу в цьому процесі займає не останнє місце [248]. Не виключено, що саме збій програми включення апоптозу відіграє вирішальну роль для запуску швидкого росту лейкозної популяції. Коли лейкозна популяція досягне певних розмірів, певної маси, відбувається гальмування диференціювання нормальних стовбурових клітин і різко падає продукція нормальних клітин [16].

Основний постулат концепції багатоетапного утворення лейкозного клону – первинне враження гемопоезу на рівні поліпотентних стовбурових клітин, що роблять поліпотентну стовбурову клітину родовідною лейкозного клону. Потім клон, що містить мутацію чи мутації, витісняє нормальний клон чи нормальні клони клітин [7, 8]. Гіпотезу про утворення rh-хромосоми на рівні стовбурових клітин підтверджують випадки знаходження rh-хромосоми в популяції ФГА-стимульованих лімфоцитів. Але ці випадки є поодинокими. У більшості випадків rh-позитивних ГЛЛ філадельфійська хромосома не виявляється цитогенетичними методами. І на це є кілька пояснень:

1. Утворення rh-хромосоми - не первинна подія під час виникнення лейкозного клону, відбувається не завжди на рівні стовбурових клітин і тому rh-хромосома виявляється не в усіх клітинах лейкозного клону.
2. Претимусні клітини з rh-хромосомою не можуть ввійти в виличкову залозу і дати популяцію чутливих до ФГА Т-лімфоцитів.

3. Пул попередників лімфоцитів утворюється зі стовбурової на ранніх періодах її життя, являючись у подальшому самопідтримуючим, більш пізня rh-трансформація стовбурової клітини може призвести до розвитку лімфобластної кризи, але не до появи rh-хромосоми у лімфоцитах – існуючий rh-позитивний клон лімфоцитів співіснує з величезним числом довгоживучих лімфоїдних клітин, що утруднює його виявлення [7].

Слід зазначити, що rh-позитивний ГЛЛ відрізняється від rh-позитивного хронічного мієлобластного лейкозу (ХМЛ) і особливостями каріотипу. Зокрема, при rh-позитивному ГЛЛ часто виявляються нетипові rh-хромосоми або транслокації з 22 хромосоною на 9 хромосоною (як при типовій rh-хромосомі, при типомому ХМЛ). Крім того, описаний ГЛЛ з аномальною подвійною rh-хромосоною. Трапляються випадки ГЛЛ, коли наявна не тільки rh-хромосома, а також інші аномалії хромосом [47].

У більшості випадків Т-ГЛЛ у дітей виявляються маркери претимусових лімфоцитів, що вказує на походження цих клітин від ранніх комітованих попередників Т-лімфоцитів, що розташовані в нормі в кістковому мозку. Лейкемічні популяції Т-ГЛЛ та В-ГЛЛ несуть у своїх клітинах маркери зрілих, функціонально активних Т- та В-лімфоцитів, що вказує на їх походження зі зрілого пулу лімфоцитів, що знаходяться в лімфатичних вузлах. Це може бути підтвердженням концепції про позакістковомозкове походження більшості Т- та В-ГЛЛ, які, по суті, є лімфомами з ранньою лейкемізацією. Не існує чітких фенотипічних відмінностей між ГЛЛ і лейкемізованими лімфомами [8].

Походження лейкозного клону при ГЛЛ може проходити і за іншими схемами, і може бути не пов'язане безпосередньо з червоним кістковим мозком. Добре відомо, що в лімфатичній системі існують довгоживучі Т- та В-лімфоцити, які, подібно до стовбурових поліпотентних клітин, довгий час можуть знаходитись поза циклом і мають проліферативний потенціал значно вищого рівня, ніж нормальні попередники еритроцитів та гранулоцитів. Ці довгоживучі лімфоїдні клітини можуть стати мішенню для мутагену. Таким чином, враження стовбурових клітин не обов'язкова умова для розвитку ГЛЛ. Походження

лейкозного клону з мітогенстимульованих лімфоцитів частіше буває при ГЛЛ у дітей, аніж у дорослих. У цю схему прекрасно вписується той факт, що пік ГЛЛ у дітей (3-5 років) співпадає з піком антигенної стимуляції.

Саме з таким походженням ГЛЛ у дітей пов'язані більш позитивні результати лікування [14].

У результаті цілої низки досліджень, що тривають і досі, було виявлено цілу низку хромосомних аномалій, що вважаються первинними і не випадковими і які, на думку цілої низки авторів, в тому числі Бергера Р. (Berger R.) та Сандберга А. (Sandberg A.) вважаються причиною початку патогенезу гострих лейкозів.

На сьогодні таких хромосомних мутацій описано більше 70 [56, 57, 58, 59, 243]. Список цих первинних хромосомних мутацій наведено в табл. 11.1. У цій таблиці наведені, звичайно, не всі хромосомні мутації, які на сьогодні вважаються не випадковими при гострих лейкозах. Не вказана, зокрема, низка унікальних мутацій, що виявлені дослідниками поодинокі – лише один раз і охоплювали не одну чи дві хромосоми одночасно, а більше. Так, Фогу Г. (Fogu G.) зі співавторами описали унікальну комплексну транслокацію, що охопила 3 хромосоми одночасно: $t(5;15;17)$ і викликала гострий промієлоцитарний лейкоз (ГпроМЛ) [101].

Ковальчик Й. (Kowalczyk J.) і співавтори описали рідкісний випадок ГЛЛ з транслокацією $t(Y;2)$ [156]. Тут вирішальну роль грали зміни в хромосомі 2, і ця мутація аналогічна за своєю суттю таким мутаціям як $del2(p21)$ чи $del2(p23)$ [56, 57, 58, 59].

Таблиця 1.2.1. Первинні не випадкові хромосомні мутації, що викликають онкогенез різних форм лейкозів.

Мутація	Тип лейкозу	Мутація	Тип лейкозу
t(1;3)(p36;q21)	ГМЛ, МДС	t(7;9)(q35;q34)	Т-ГЛЛ
t(1;7)(p11;q11)	ГМЛ, МДС	t(7;11)(p15;p15)	ГМЛ
t(1;11)(p32;q23)	ГЛЛ	t(7;11)(q35;p13)	Т-ГЛЛ
t(1;11)(p21;q23)	ГМЛ	t(7;14)(q35;q11)	Т-ГЛЛ
t(1;14)(p32;q11)	Т-ГЛЛ	del(8)(q22)	ГМЛ
t(1;17)(p36;q21)	ГМЛ	t(8;12)(p21;q13)	ГЛЛ
t(1;19)(q23;p13)	preB-ГЛЛ	t(8;14)(q24;q11)	Т-ГЛЛ
t(1;22)(p13;q1)	ГМЛ М7	t(8;14)(q24;q32)	ГЛЛ L3
del(2)(p23)	ГМЛ	t(8;16)(p11;q13)	ГМЛ М5
del(2)(p21)	ГМЛ	t(8;21)(q22;q22)	ГМЛ М2
t(2;8)(p12;q24)	ГЛЛ L3	t(8;22)(q24;q11)	ГЛЛ L3
ins(3;3)(q26;q21)	ГМЛ, МДС	i(9p)	ГЛЛ
inv(3)(q21;q26)	ГМЛ, МДС	del(9)(p13-22)	ГЛЛ
t(3;3)(q21;q26)	ГМЛ, МДС	del(9)(q22)	ГМЛ
t(3;5)(q21;q31)	ГМЛ	t(9;11)(p21;q23)	ГМЛ М5, ГЛЛ
t(3;5)(q25;q34)	ГМЛ	t(9;12)(p11;p12)	ГЛЛ
t(3;21)(p14;q22)	ГМЛ	t(9;22)(q34;q11)	ГЛЛ, ГМЛ, ХМЛ
t(2;16)(p11;p11)	ГЛЛ	t(1;4)	ГЛЛ
t(4;11)(q21;q23)	ГЛЛ	t(10;11)(p12;q13)	ГМЛ М5
t(5;14)(q31;q32)	ГЛЛ	i(11q)	ГМЛ
t(5;16)(q33;q22)	ГМЛ	del(11)(p11-12)	ГМЛ
del(6)(q13;q27)	ГЛЛ	del(11)(p11-23)	ГЛЛ
t(6;9)(p23;q34)	ГМЛ М2, МДС	del(11)(q23)	ГМЛ
t(6;11)(q27;q23)	ГМЛ М5	t(11;11)(q23;q25)	ГМЛ М5

del(5)(q12;q35)	ГМЛ, МДС	t(10;14)(q24;q11)	Т-ГЛЛ
i(7q)	ГМЛ, МДС	t(11;13)(p15;q11)	Т-ГЛЛ
del(7)(q11)	ГЛЛ	t(11;17)(q23;q21)	ГМЛ
del(7)(q14)	ГМЛ	t(11;14)(p13;q11)	Т-ГЛЛ
del(7)(q22)	ГМЛ, МДС	t(11;17)(q23;q25)	ГМЛ
del(7)(q32)	ГЛЛ	t(11;19)(q23;p13)	ГМЛ, ГЛЛ
t(7;9)(p11;q11)	ГЛЛ	t(11;20)(p15;q11)	ГМЛ
t(7;9)(q35;q32)	Т-ГЛЛ	t(X;11)(q24;q13)	ГМЛ
i(12p)	ГМЛ	del(16)(q22)	ГМЛ М4
del(12)(p11-13)	ГМЛ, ГЛЛ	inv(16)(p13;q22)	ГМЛ М4
t(12;14)(q24;q32)	ГМЛ	t(16;16)(p13;q22)	ГМЛ М4
t(12;17)(p12;q12)	ГЛЛ	t(16;21)(p11;q22)	ГМЛ
i(14q)	ГМЛ	del(17)(q22)	ГМЛ
inv(14)(q11-32)	Т-ГЛЛ, Т-ХЛЛ	del(20)(q11-13)	ГМЛ, МДС
del(14)(q11-24)	ГЛЛ	i(21q)	ГМЛ, МДС
t(14;22)(q32;q11)	ГЛЛ	del(22)(q11-13)	ГМЛ, ГЛЛ
t(15;17)(q22;q21)	ГМЛ М3	del(X)(q24)	ГМЛ
t(14;18)	common ГЛЛ	t(17;19)	ГЛЛ
t(12;21)	ГЛЛ	t(3;12)(q28;q13)	ГЛЛ

Примітки:

Таблиця складена за даними джерел [35, 47, 48, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 68, 70, 76, 81, 83, 88, 89, 93, 95, 100, 101, 103, 112, 113, 115, 120, 121, 126, 131, 132, 135, 137, 141, 145, 149, 153, 156, 157, 158, 139, 160, 170, 174, 179, 187, 194, 199, 206, 210, 211, 219, 221, 222, 223, 228, 231, 232, 237, 241, 243, 249, 255, 262, 264, 269, 271, 274, 275, 285, 287, 294].

Т-ГЛЛ – Т-клітинна форма ГЛЛ

МДС – мієлодиспластичний синдром.

M1, M2, M3, M4, L3 – типи лейкозів згідно FAB-класифікації.

del – делеція.

t – транслокація.

i – ізохромосома.

inv – інверсія.

ins – інсерція.

У таблицю не включена низка мутацій, первинність яких лишається дискутабельною. Так, різні автори по різному оцінюють первинність моносомії при ГЛЛ: Руссо К. (Russo C.) та співавтори, Пайетта Е. (Paietta E.) та співавтори вважають моносомію при ГЛЛ первинною мутацією, тоді як Юніс Дж. (Yunis J.) схильний вважати подібні аномалії вторинними [210, 241, 243].

Деякі інші повідомлення лишаються вкрай дискусійними. Так, Тауб Дж. (Taub J.) та співавтори описують хворих на ГЛЛ, в яких єдиною виявленою хромосомною аномалією був мозаїцизм клітин по Y-хромосомі: 46, XY/47, XXУ [269]. Але, очевидно, що ця аномалія не має безпосереднього відношення до онкогенезу ГЛЛ і є випадковою [55 – 59].

Важливість дослідження хромосомних аномалій при гострих лейкозах усвідомили на початку 1980-тих років. Саме на той час припадає пік досліджень цитогенетичних аспектів патогенезу лейкозів. Сандберг А. (Sandberg A.) висловив думку, що ефективне лікування, прогнозування та діагностика гострих лейкозів неможлива без врахування рівня дисбалансу геному трансформованих клітин [243]. Інтенсивно в 1980-тих та в 1990-тих роках проводилися пошуки нових невідповідних хромосомних мутацій, що викликають патогенез ГЛЛ та інших форм лейкозів. Пізніше популярність цитогенетичних методів знизилась, на перший план висунулись методи молекулярних досліджень, пов'язаних з полімеразною ланцюговою реакцією (PCR) та імунологічні методи [132].

Проте і сьогодні тривають пошуки специфічних аномалій каріотипу, хромосомних мутацій, притаманних для окремих типів лейкозів, хоча значні міжособові варіації в стані хромосомного апарату онкотрансформованих клітин

мають місце і в межах окресленої нозологічної форми захворювань [131]. Розпізнають первинні та вторинні зміни каріотипу в лейкозних клонах. Порушення в одній і тій же хромосомі в різних клітинах переважно носять первинний характер для цього процесу і для гострих лейкозів в тому числі. Вторинні зміни не одиничні, іноді множинні, вони характеризують так звані вторинні гострі лейкози, що часто розвиваються після масивної цитостатичної терапії інших онкозахворювань. Ці вторинні мутації, згідно з роботами Сандберга А., часто захоплюють 5-ту і 7-му хромосоми [243]. Відсоток випадків гострих лейкозів, при яких наявні не випадкові хромосомні аномалії, в різний час називався різний. Єдиної точки зору на сьогодні на це питання не існує. Ще донедавна називалось число 60 % при гострих мієлобластних лейкозах і 70 % при гострих лімфобластних лейкозах. Нині Бергер Р. вважає, що в 90 % ГЛЛ наявні не випадкові хромосомні аномалії [55 – 59], а Сандберг А., що не випадкові хромосомні аномалії наявні в усіх або майже в усіх випадках ГЛЛ (98 – 100 % випадків ГЛЛ) [243], але в окремих випадках ці мутації не виявляються – або ріст в культурі дають виключно нормальні клітини, або ці хромосомні сегментні мутації зачіпають настільки малу ділянку хромосоми, що ця мутація не фіксується візуально і можлива для ідентифікації тільки при PCR-діагностиці [243]. Але Чінь І. (Chin Y.) вважає, що причиною ГЛЛ можуть бути крім хромосомних і точкові мутації в кластерах протоонкогенів. Ці мутації принципово не можуть бути виявлені цитогенетично [78].

Далеко не всі не випадкові хромосомні мутації зустрічаються при ГЛЛ з однаковою частотою. Найчастіше зустрічаються такі чотири мутації: t(4;11), t(9;22), t(1;19), t(8;14). При цьому перші дві мутації корелюють з особливо несприятливим прогнозом. Деякий час дискутувалося питання про те, чи t(9;22) – тобто філадельфійська хромосома (ph⁺) викликає не тільки ХМЛ чи ГМЛ, а також і ГЛЛ. Але дискутується досі, чи в хворих з філадельфійською хромосомою справді має місце ГЛЛ як окреме захворювання, а не бластна криза хронічного лейкозу – ХМЛ лімфоїдного типу. Проте більшість дослідників схильні до думки, що саме окремою різновидністю ГЛЛ є ph⁺ ГЛЛ.

Раніше вважалося, що наявність будь-якої хромосомної аномалії при ГЛЛ є вкрай несприятливим прогнозом, але згідно із сучасними уявленнями про обумовленість всіх випадків ГЛЛ хромосомними мутаціями, йде мова лише про прогностичне значення тих чи інших хромосомних мутацій та про нестабільність геному як несприятливий прогностичний фактор.

Таблиця 1.2.2. Деякі химерні гени, що викликають різні форми гострих лейкозів.

Химерний ген	Мутація, що викликає його появу	Форми лейкозів, які викликають ці химерні гени
TEL-ALB	t(9;22)	ГЛЛ
TEL-AML1	t(12;21)	ГЛЛ
E2A-PBX1	t(1;19)	ГЛЛ, ГМЛ
BCR-ALB	t(9;22)	ГЛЛ, ГМЛ, ХМЛ
E2A-HLF	t(17;19)	ГЛЛ
IGH-BCL2	t(4;18)	ГЛЛ
MLL-AF4	t(4;11)	ГЛЛ
MLL-AF9	t(9;11)	ГЛЛ, ГМЛ 5a
MLL-RARA	t(11;17)	ГМЛ М3
MLL-ENL	t(11;19)	ГЛЛ, ГМЛ
ALL1-AF4	t(1;4)	ГЛЛ
TEL-PDGFRB	t(5;12)	ХМЛ
AML1-EAP	t(3;21)	ХМЛ, ГМЛ М1
AML1-ETO	t(8;21)	ГМЛ М2
PML-RARA	t(15;17)	ГМЛ М3
MLL-ALL1	t(4;11)	ГЛЛ, ГМЛ

Слід зазначити, що хіміотерапія і весь комплексний підхід до лікування ГЛЛ постійно вдосконалюється, і тому «несприятливість» того чи іншого цитогенетичного маркера переглядається [243]. Чітко доведено, що існує прямий зв'язок між змінами фенотипу лейкозних клітин і хромосомними аномаліями, що реєструються в них.

Зокрема, доведено, що хромосомні перебудови обумовлюють розвиток особливого типу клітинного диференціювання, наприклад $t(8;21)$ гальмує ріст моноцитів, посилює диференціювання гранулоцитів. Доведено, що клітини з хромосомними аномаліями є лейкозною популяцією, а клітини зі звичайним каріотипом не зачеплені лейкозним процесом. Також показано, що хромосомні аномалії можуть з'являтися на рівні частково комітованих клітин попередників, що веде до збереження каріотипів інших ліній гемопоезу [14].

Як бачимо, теорія патогенезу ГЛЛ розвивається в контексті загальної теорії онкогенезу. Нині створюється загальна єдина універсальна теорія онкогенезу і лейкозогенезу – як вірусного так і невірусного. Загалом сучасну теорію онкогенезу можна коротко викласти наступним чином. Майже всі онкотрансформовані клони виникають внаслідок посиленої або неправильної експресії ключових регуляторних генів клітини. Злоякісна трансформація клітин може бути результатом однієї з наступних первинних генетичних подій:

1. Вбудовування в геном додаткових (або модифікованих) копій ключового регуляторного гена під контролем сильного промотора.
2. Вбудовування промотора, що посилює експресію вже наявного клітинного регуляторного гена.
3. Мутації в клітинному регуляторному гені, що змінюють його експресію.

1.3. Центромерата її функції.

Центромера – структура типова майже для всіх еукаріот, за винятком динофлагеллят (*Dinoflagellata*) та криптомонад (*Cryptophyta*), геном і хромосоми яких влаштовані настільки своєрідно і відмінно від інших еукаріот, що дозволяє припустити про їх належність до окремішньої, дуже архаїчної лінії еволюції

ядерних організмів. Крім цього, центромери відсутні в так званих голоцентричних хромосомах, що мають дифузний кінетохор і трапляються в деяких організмів – в першу чергу протистів, але трапляються в деяких рослин і тварин.

Під центромерою розуміють певну спеціалізовану ділянку ДНК хромосоми, яка з'єднує дві сестринські хроматиди. Під час мітозу нитки веретена поділу прикріплюються до центромери за допомогою кінетохору – мультипротеїнової структури, що відповідає за процес сегрегації хромосом. Розрізняють два типи центромер – точкові центромери та регіональні центромери. Точкові центромери являють собою короткі послідовності ДНК, що розпізнаються специфічними білками. Найкраще вивчені точкові центромери в дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Для більшості еукаріот характерні так звані регіональні центромери, що охоплюють цілі області хромосом.

Центромери являють собою найбільш звужену ділянку хромосом, в яких тісно контактують між собою сестринські хроматиди, пов'язані між собою по всій довжині центромер комплексом когезинів, що утворюється під час профазі.

Історія відкриття та дослідження центромер пов'язане з відкриттям і дослідженням хромосом. Хто саме першим відкрив і описав хромосоми і центромери відповідно – питання суперечливе. Приоритет у відкриттю хромосом і центромер віддають таким дослідникам як Едуард Адольф Стасбургер (1844 – 1912), Йоган Адам Отто Бючлі (1848 – 1920), Іван Дорофеевич Чистяков (1843 – 1877) та іншим. Але так чи інакше сам термін хромосома запропонував Генріх Вільгельм Готфрід Вальдеєр (1836 – 1921) в 1888 році.

Центромера відноситься до тих структур та генетичних елементів клітини, які досі лишаються недостатньо дослідженими, не дивлячись на чисельні роботи і зусилля багатьох десятиліть: чимало аспектів будови і поведінки центромери лишаються досі нез'ясованими. Багато років панувала думка (висловлена Альбертсом Б. та співавторами [6]), що центромера являє собою пізньореплікуючу ділянку ДНК хромосоми і під час метафази мітозу ця ділянка ще не є реплікованою. Після певного сигналу ця ділянка реплікується, і відбувається розходження центромер. Хоча автори зазначають, що в цій події

мітозу багато аспектів є неясними і дискусійними. Також автори не схильні були вважати, що кінетохор чи його утворення якимось чином впливають на сам процес розділення центромер. На їх думку кінетохор бере участь виключно в подальшій динаміці хроматид, їх русі до полюсів. Автори зазначали, що яким би не був істинний механізм явища розходження центромер, центромерна ДНК повинна мати особливі властивості, а саме: бути здатною організувати кінетохор і лишатися з'єднаною зі своїм гомологом в сестринській хроматиді до початку анафази.

ДНК центромер дріжджів було виділено і клоновано. Виявилось, що в дріжджів властивості центромери обумовлені послідовністю ДНК довжиною менше 1 kb. Центромера дріжджів була клонована в плазміді дріжджів, що функціонує в нуклеоплазмі. Завдяки наявності центромери ці дріжджеві плазмиди отримали стабільність і почали реплікуватися одночасно з іншими хромосомами, не втрачалися в процесі мітозу.

Анафаза починається раптовим розщепленням кожної хромосоми, яке обумовлене розділенням сестринських хроматид в точці їх з'єднання в центромері. Це розділення на думку Альбертса Б. зі співавторами не залежить від інших подій мітозу і відбувається навіть в хромосомах, що не прикріплені до мітотичного веретена. Це розділення центромер дозволяє полярним силам веретена, які діють на метафазну пластинку, почати повільний рух хроматиди до полюса. Довгий час було невідомо, що втримує хроматиди разом до початку анафази, але була висунута гіпотеза, яка стверджує, що послідовність ДНК, яка утворює центромеру, кодує спеціальний сигнал, що блокує її власну реплікацію в фазі S. Нереплікована ДНК центромери не дозволяє хроматидам розходитись, а запуск її реплікації призводить до розділення хроматид в анафазі [6].

Слід зазначити, що багато авторів, які досліджували процес розділення центромер, виходили з протилежної концепції, вважаючи, що кінетохор або принаймні центромерні білки, що пов'язані також з формуванням кінетохору, беруть участь у розділенні центромер. Цим авторам належить низка робіт з дослідження процесу утворення і функціонування кінетохору, найбільш детально

ці питання описані в роботах Берната Р. (Bernat R. et al.), Керреброка А. (Kerrebrock A. et al.), Брінклі Б. (Brinkley B. et al.) та Годєя К. (Goday C. et al.). Так, Бернат Р. зі співавторами зазначають, що зв'язок між кінетохором і центромерою досі є практично не дослідженим [55]. Автори розглядають кінетохор як специфічну чотирьохшарову структуру, що виконує функцію прикріплення мікротрубочок до специфічного сайту центромерного гетерохроматину. Автори досліджували процес формування кінетохору шляхом мікроін'єкції в клітину антицентромерних антитіл (ACAs), що розрізняють чотири центромерних протеїни в клітинах людини: CENP-A (17 kD), CENP-B (80 kD), CENP-C (140 kD), CENP-D (50 kD). CENP-A описують як центромерно специфічний гістон, варіант гістону H3. CENP-B описують як ДНК-зв'язуючий протеїн, що взаємодіє зі специфічними, довжиною 17 kb, послідовностями α -сателітної ДНК. Про CENP-C відомо значно менше, імовірно, він більше пов'язаний з кінетохорною активністю. CENP-D, судячи по всьому, пов'язаний з регуляцією конденсації хромосом. Автори схиляються до думки, що кінетохор є істотним компонентом сигналізації метафаз-анафазного переходу. До цієї думки їх наштовхнув факт зупинки мітозу на стадії метафази після ін'єкції ACAs під час інтерфази [60].

Центромерні протеїни продовжують широко досліджуватись. Про їх роль в мітозі продовжують висуватись різні гіпотези. Так, Мітчел А. (Mitchell A.) і співавтори схильні вважати, що центромерні протеїни (особливо CENP-B та CENP-E) якимось чином пов'язані з процесом метилювання ДНК в прицентромерних районах хромосом, але яку саме роль грають ці протеїни в процесі метилювання лишається невідомим [192].

Гени, що кодують білки CENP-B та CENP-C, були клоновані і секвіновані Буркіном Д. (Burkin D.) зі співавторами, проте, це не додало інформації про їх роль в процесі сегрегації центромер [69].

Керреброк А. (Kerrebrock A.) та співавтори досліджували розходження центромер у *Drosophila melanogaster* і, зокрема, мутації гена *mei-S332*, що викликають порушення процесу розділення центромер і феномен ПРЦ при мейозі в *Drosophila melanogaster*. Автори вважають, що протеїн *mei-S332* (масою 44 kD) бере участь у

регуляції процесу розділення центромер. Дослідження *mei-S332*-мутантів популярні в дослідженнях мейозу *Drosophila melanogaster*. У деяких *mei-S332*-мутантів зафіксовано феномен передчасного розділення центромер (ПРЦ) під час мейозу, що настає до початку анафази II – ще в метафазі II, в результаті чого порушується регулярність в розходженні хроматид у другому поділі мейозу [152]. Бікель С. (Bickel S.) та співавтори, що теж працювали з *Drosophila melanogaster*, вирізняють так звані ORD-протеїни, що зв'язані з центромерними районами хромосом *Drosophila melanogaster* і, на думку авторів, беруть безпосередню участь у процесі розділення центромер. Автори, проте, не пропонують своєї схеми дії цих протеїнів. У той же час автори відмічають, що функція генів ORD не є принципово важливою для зв'язування чи розділення центромер і, очевидно, ці гени несуть допоміжну функцію при мейозі в *Drosophila melanogaster* [61].

Центромера вважається одним із найважливіших компонентів еукаріотичної клітини. Вважається, що саме центромері належить функція підтримки диплоїдності клітини. Саме помилки в системі розділення центромер, зокрема, і передчасне розділення центромер (ПРЦ), призводить до утворення анеуплоїдних клонів, як під час різних неоплазій, так і в неопластичних тканинах. Згідно із уявленнями різних дослідників в функціонуванні центромери відіграють роль такі структури як кінетохор, прицентромерна ДНК, прицентромерний гетерохроматин [229].

Центромери відіграють важливу роль у процесі регуляції і функціонування клітинного циклу, вони є місцем прикріплення кінетохору, що в свою чергу з'єднується з мікротрубочками веретена. Центромери ссавців (і людини) суттєво відрізняються від центромер дріжджів, еволюція центромер йшла в бік компактизації [27]. Центромери ссавців відрізняються меншими розмірами і, очевидно, організовані більш раціонально. У сучасній літературі чітко розрізняють поняття «кінетохор» і «центромера». Під центромерою розуміють виключно регіон хромосоми з певною первинною структурою ДНК, що є інтегральною частиною хромосоми, є однією з основних конструкцій хромосоми – цього ДНК-гістонного комплексу. Прицентромерні райони складені з

конституційного гетерохроматину. Центромера є пізньореplikуюча структура, що, очевидно, не кодує ніяких білків. Ділянка ДНК, що складає центромеру, становить довжиною біля 500 kb, але доцільніше розглядати центромеру комплексно, разом з сусідніми ділянками – «центромерним регіоном».

Для дріжджів район центромери характеризуються наявністю тандемних послідовностей величиною всього 5 bp, тобто повтору TTCCA.

Наявна в центромерах певна хромосом-специфічність. Виявлено в центромерах поліморфізм за сайтами рестрикції. Виявлено наявність в центромерах структури, що отримала назву SEN. Вона складається з послідовності нуклеотидів довжиною 300 bp і містить три регіони: I та III регіони демонструють гомологічність. II регіон довжиною 84 bp на 90 % складається з пар A=T [256, 278, 292]. Досі невідомо, яку роль відіграють ці послідовності в роботі центромер ссавців. Центромерні протеїни (CENP-A, CENP-B, CENP-C, CENP-D, STNP-E) відіграють певну роль у процесі функціонування центромери. Відомо, що навіть у нормі центромери різних хромосом розділяються не одночасно, а в певній послідовності [276 - 279]. У людини найпершими розходяться центромери 18, 17, 2, 10, 12 хромосом. Потім розходяться центромери 21, 22, 13, 14, 15 хромосом. Інші центромери розходяться між цими двома групами. Вважається, що існує зв'язок між часом розділення центромер і кількістю прицентромерного гетерохроматину [277]. Вважається, що прицентромерний гетерохроматин є тим самим контролюючим елементом, що регулює механізм і час розділення центромер. І що порушення нормального перебігу процесу розділення центромер (тобто, власне, феномен ПРЦ) є причиною трисомій або є однією з причин неоплазій [278, 279].

Якщо дійсно центромера являє собою пізньореplikуючу ділянку ДНК хромосоми, і під час мітозу на стадії метафази ця ділянка не є реplikованою, то потім подається певна команда, і ця ділянка реplikується, починається процес розділення центромер. У цій події мітозу багато аспектів лишаються неясними і дискусійними. Вважається, що кінетохор чи його утворення не впливає на процес розділення центромер, що кінетохор бере участь виключно в подальшій динаміці хроматид, їх русі до полюсів клітини. Яким би не був істинний механізм

розділення центромер, центромерна ДНК повинна мати особливі властивості, а саме: бути здатною організувати кінетохор і лишатися спареною зі своїм гомологом в сестринській хроматиді до початку анафази.

Найбільш вивченим є процес розділення центромер у дріжджів. Довгий час дріжджі були модельним об'єктом для вивчення центромер, що дало дослідникам додаткових труднощів, бо дріжджі з низки причин виявились доволі незручним об'єктом для вивчення центромер. Виявилось, що властивості центромери обумовлені послідовністю ДНК довжиною 1 kb. Анафаза починається раптовим розділенням кожної хромосоми в точці з'єднання хроматид – в центромері. Це розділення не залежить від інших подій мітозу і відбувається навіть в хромосомах, що не прикріплені до мітотичного веретена. Це розділення центромер дозволяє полярним силам веретена, що діють на метафазну пластинку, почати повільний рух хроматиди до полюса клітини. Втримує хроматиди разом до початку анафази наступний механізм. Послідовність ДНК, що визначає центромеру, кодує спеціальний сигнал, що блокує її власну реплікацію в фазі S. Нереплікована ДНК центромери не дозволяє хроматидам розходитись, а запуск її реплікації призводить до розділення хроматид в анафазі [11].

Безпосередньо з центромерою зв'язаний кінетохор. Довгий час вважалося, що саме йому належить вирішальна роль в процесі розділення центромер. Кінетохор – це специфічна чотирьохшарова структура, що виконує функцію прикріплення мікротрубочок до спеціального сайту центромерного гетерохроматину.

З процесом розділення центромер певним чином пов'язана топоізомераза II та її інгібітори [146]. Виявилось, що α -топоізомераза II пов'язана не тільки з процесом розділення центромер, а також з процесом формування центромер-кінетохорних структур, з конденсацією прицентромерного гетерохроматину. Слід, проте, зазначити, що ці закономірності виявлені лише під час мейозу в мишей, і питання про те, чи аналогічні явища мають місце і при мітозі, залишається відкритим [209, 229]. Важлива роль у процесі розділення центромер належить ферменту, що носить назву центромерна полімераза III. Точна схема чи модель роботи цього ферменту і механізми її регуляції залишаються досі невідомими. Без відповіді

залишаються питання – чому власне розділення центромер відбувається точно регламентовано по часу, і які сигнальні механізми запускають процедуру розділення центромер [229].

Центромера в житті клітини виконує низку життєво важливих функцій під час мітозу та мейозу. Центромера активно забезпечує або служить точкою прикладення сил для:

1. Розташування хромосом в екваторіальній площині.
2. Орієнтації хромосом на веретені відносно полюсів ділення.
3. Переміщення хроматид до полюсів клітини.

Дуже важливим моментом у забезпеченні сегрегації хромосом є поздовжнє розділення хроматид в центромерному районі в чітко визначений момент у мітотичному циклі – на початку анафази. Передчасне розділення центромер сестринських хроматид призводить (або може призводити) до різкого порушення в розподілі хромосом і до виникнення таких аномалій як анеуплоїдія, поліплоїдія, ендоредуплікація [27].

Розділення центромер і весь клітинний цикл взагалі контролюється складними генетичними системами, для дослідження яких використовують пошук мутантних генів, що котролюють мітоз. Довший час найбільш популярним об'єктом для цих досліджень були дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*. Були виявлені мутантні клони, що чутливі до підвищеної температури (ts). При підвищенні температури (вище 33°C) у цих мутантних клітинах різко порушувався нормальний мітотичний цикл, але вони мали нормальний мітоз при оптимальній температурі. Дослідження дозволили виявити 32 гени дріжджів, що контролюють процеси, які забезпечують нормальний мітоз. Мутації у цих генах, що отримали назву *cdc*, порушували етап клітинного циклу при підвищеній температурі. Причому, різні мутації є причиною порушення різних етапів мітозу чи клітинного циклу. В одних мутантів порушена здатність до каріокінезу, в інших – до завершення цього процесу, в третіх – порушений процес міграції ядра, в четвертих – процес цитокінезу і тому подібне. Дослідження взаємодій мутацій різних генів *cdc* дозволили дослідникам зробити низку висновків про те, які етапи в клітинному циклі дріжджів можуть

контролюватися тими чи іншими генами *cdc*. Так, мутації генів *cdc28*, *cdc4*, *cdc7* блокують клітинний цикл у фазі G1 до початку фази S. У мутантів *cdc28*, зокрема, не подвоюються центріолі, в мутантів *cdc4* центріолі подвоюються, але копії не розходяться до полюсів. Цей підхід і ці дослідження дозволяють сподіватися, що в майбутньому, можливо, будуть виділені і досліджені всі регуляторні гени, що контролюють послідовність подій у мітозі і, можливо, будуть знайдені їх аналоги в клітинах людини та будуть ідентифіковані гени, що беруть участь у процесі сегрегації центромер.

У метафазі центромера містить відносно деспіралізований гетерохроматин і виглядає як незабарвлена перетинка, що надає характерного вигляду «талії» багатьом хромосомам у метафазі. Розділення хромосом завершується розділенням центромер: у цей час дочірні центромери взаємовідштовхуються і як би «відтаскують» хромосомні плечі до полюсів протягом анафазного руху. Метафазні хромосоми досліджують у клітинах, які оброблені колхіцином, що порушує мікротубулярну структуру мітотичного веретена та збільшує нормальну конденсацію хромосом. Мітоз та клітинний поділ не продовжуються після порушення веретена. Але в пролонгованій культурі центромери все одно будуть розділені. Якщо розділені хроматиди лишились асоційованими, вони будуть виглядати як ендоредупліковані хромосоми в наступній метафазі [104, 146].

У 1998 – 2000 роках у різних дослідників з'явилась нова хвиля зацікавленості центромерою, і в результаті нових досліджень з'явилося багато нових робіт [217, 202, 209, 282 та ін.], що змінили уявлення про центромеру та її роботу. Виникли принципово нові погляди на роботу системи центромера-кінетохор, згідно яких кінетохору належить регулююча функція в процесі розділення центромер. Кінетохор функціонує у взаємодії з допоміжними протеїнами, що забезпечують його зв'язок з мікротрубочками веретена. Після цих досліджень вважається, що на етапі, коли кінетохор ще не зв'язаний з мікротрубочками веретена, він продукує спеціальний протеїновий сигнал, що в комплексі з іншими протеїнами забезпечує гальмування клітинного поділу (mitotic checkpoint). Після прикріплення кінетохору до мікротрубочок веретена здатність генерувати гальмування мітозу

втрачається. Гіпотезу про наявність такого «сигналу чекання» або «гальмівного сигналу» розробили і перевірили Річард Макінтош та Конлі Рідер. Було досліджено динаміку поділу більш ніж 100 клітин і було виявлено, що час прикріплення різних хромосом набору до веретена суттєво відрізняється. Їх розділення завжди наставало протягом 20 хвилин після прикріплення останньої хромосоми. Вдалось встановити, що саме неприкріплені кінетохори є джерелом генерації «сигналу очікування»: з моменту руйнування лазером останнього неприкріпленого кінетохору починалось розділення хроматид, хоча процес лінійного впорядкування метафазних хромосом ще не був завершений. Була висунута гіпотеза про те, що протеїни mitotic checkpoint є обов'язковими елементами клітинного циклу. Було встановлено, що деякі білки кінетохору змінюються шляхом дефосфорильовання (втрати фосфорних груп) після прикріплення до мікротрубочок веретена [217].

Під час дослідження білків, що здатні викликати зміни в процесах мітозу, розділення центромер, була звернена увага на дві групи генів, що були ідентифіковані в дріжджів. Це гени *bub1*, *bub2*, *bub3* (перша група) і гени *mad1*, *mad2*, (друга група). Але хромосоми дріжджів відносно малих розмірів, ідентифікувати їх важко, тому робота з дріжджами, як модельним об'єктом дослідження роботи центромер тривалий час не давала результатів. Набагато більших успіхів було досягнуто під час роботи з клітинами ссавців і земноводних, коли їх почали використовувати як модельні об'єкти. Було виявлено білки MAD2 на неприкріплених кінетохорах жаби, ідентифіковано білки MAD2 людини [217].

Концентруючись на неприкріпленому кінетохорі, білок MAD2 залишав його після лінійного впорядкування метафазних хромосом. Аналогічний процес був виявлений і в кінетохорі мишей. Виявилось, що MAD2 безпосередньо бере участь в генерації «сигналу очікування». Значна концентрація цього протеїну на неприкріпленому кінетохорі є необхідною умовою гальмування клітинного поділу. Введення антитіл до MAD2 в культуру клітин нирок щуриного кенгуру призводило до передчасного розділення центромер (ПРЦ) [217].

Роль протеїну MAD2 не обмежується його акумуляцією на неприкріпленому кінетохорі. Окремі його копії мігрують у цитоплазму, поширюючи «сигнал очікування» в клітині. Для поширення цього сигналу білок MAD2 асоціюється з іншим протеїном – білком p55CDC, тоді як під час дослідження клітин дріжджів подібна асоціація була виявлена щодо протеїну pCDC20. Цей дует функціонує сумісно з великим протеїновим комплексом, і назвали його циклосомою або по-іншому анафазно-промоторним комплексом (АПК). Активний АПК допомагає ініціювати анафазу шляхом каталізації дегенерації циклінів і протеїнів, що гальмують мітоз, крім того, активний АПК задіяний у розщеплення протеїнів, що втримують разом сестринські хроматиди. Присутність протеїну MAD2 утримує АПК від каталізування метафазно-анафазного переходу [217].

Після того, як всі кінетохори виявились прикріпленими до мікротрубочок веретена, «утримуючий сигнал» зменшується. Щоб це відбулось, необхідний механізм, що дозволяє кінетохору розпізнавати момент прикріплення до мітотичного веретена. Протеїн BUB сумісно з протеїном CENP-E, що задіяний у прикріпленні мікротрубочок до кінетохору, здатний вносити зміни в порядок сигнальних команд, що забезпечують гальмування мітозу і призводять до просування клітинного циклу вперед [217].

CENP-E, що асоційований з кінетохором – це свого роду молекулярний мотор, що дозволяє переміщувати хромосоми вздовж мітотичного веретена. Під час дослідження клітин ссавців були отримані докази того, що CENP-E задіяний у впорядкування хромосом на мітотичному веретені. Видалення CENP-E призводило до завершення мітозу до того, як хромосоми вкладалися в екваторіальній площині. До моменту готовності хромосоми розділитись на сестринські хроматиди, протеїн BUB акумулюється в кінетохорі. Тут відбувається з'єднання BUB1 (що асоційований з BUB3) з CENP-E. Попереднє з'єднання CENP-E з мікротрубочками веретена призводить до певних змін його структур, що здатні в свою чергу змінювати функціональну активність BUB1, ймовірноше всього, шляхом дефосфорилування. За цим слідує інактивація MAD2, з'являється його нездатність до зв'язування з p55CDC і пригнічення активності анафазно-

промоторного комплексу (АПК). У результаті цього мітоз продовжується далі. Виявилось, що BUB1 є раннім елементом патогенезу mitotic checkpoint у дріжджів [217].

Таким чином, кінетохор, крім того, що він асоціюється з молекулярним мотором, є генератором регуляторних сигналів, що забезпечують здійснення мітозу. Лишається невідомим, які зміни відбуваються в MAD2 після прикріплення кінетохору до веретена, який характер зв'язку між MAD2 та BUB-протеїнами [217].

Дві обставини суттєво обмежували розуміння механізму зв'язків та розділення центромер: відсутність інформації про сигнальні механізми, що запускають роз'єднання центромер на ранніх стадіях клітинного циклу і неможливість спостереження за розділенням центромер у дріжджів, які тривалий час були модельними об'єктами для генетичних досліджень клітинного циклу. Перша обставина була подолана після виявлення факту, що розділення центромер є обов'язковою умовою завершення мітозу. Виявилось, що ензими, які мітять цикліни для їх наступного розщеплення (АПК), також запускають деструкцію невідомих протеїнів, які утримують разом сестринські хроматиди за принципом клейоподібного зчеплення між ними. Друга обставина була подолана з розвитком методів локалізації специфічних повторів на хромосомах дріжджів, спочатку шляхом гібридизації *in situ* на фіксованих клітинах, а потім методом флюорисцентної детекції ДНК-зв'язуюючих білків у живих клітинах. Ці методи були використані для дослідження мутантів з дефектами зчеплення і розділення центромер. Були знайдені протеїни Pds1 та Cut2 дріжджів, АПК-опосередковані зміни в яких є необхідними умовами для розділення центромер. Pds1 та Cut2 протеїни безпосередньо з хромосомами не зв'язуються, але доки вони зберігаються в нативній, нерозщепленій формі – розділення центромер не відбувається. Вважають, що їх роль полягає в перетворенні ензимів Esp1 та Cut1 в активні форми, що безпосередньо впливають на центромери [202].

Подальші дослідження дозволили встановити існування групи протеїнів, що здатні зв'язуватись між собою, утворюючи так званий когезивний комплекс. Це –

мультиферментний комплекс, функція якого полягає в стабілізації з'єднання між сестринськими хроматидами під час реплікації. Якщо наявна функціональна неактивність одного з компонентів когезинового комплексу, відбувається передчасне розділення центромер (ПРЦ). Дві субодиниці когезинового комплексу Sms1 та Sms2 належать до родини АТФ-аз і відомі своєю здатністю змінювати трьохвимірну конфігурацію молекули ДНК. Вони задіяні в процеси найрізноманітніших хромосомних змін, включаючи конденсацію хромосом, з'єднання центромер, компенсацію дози генів. Інші компоненти когезинового комплексу ферментативною активністю не відрізняються. Одна з субодиниць цього комплексу – Scc1 (Mcd1) дисоціює під час розділення центромер, але тільки при наявності активної форми Esp1. Ці дані свідчать про те, що когезиновий комплекс утримує центромери разом, а його руйнування чи видалення запускає розділення центромер. З'єднання між центромерами виникає під час реплікації, узгоджено прогресуючи з просуванням реплікативної вилки [202].

Розділення центромер відбувається після розщеплення Scc1 на три фрагменти і видалення цього протеїну з хроматину. Було встановлено, що ця реакція відбувається під дією Esp1 та інгібується Pds1. Мутантна форма Scc1 зберігала здатність втримувати центромери разом після реплікації, але не розщеплювалася і не видалялася з хроматину в мітозі, наслідком чого була загибель клітин з центромерами, що розділились. Таким чином, розділення центромер в мітозі є результатом подвійного протеолізу: активація АПК призводить до деструкції Pds1, що дозволяє Esp1 зруйнувати когезивний комплекс шляхом подвійного розрізання Scc1 [202].

Зміни в субодиницях когезинового комплексу визначають відмінності розділення центромер у мітозі та мейозі. У мітозі розділення центромер та хромосомних плечей відбувається одноетапно, тоді як під час першого поділу мейозу розділяються тільки плечі сестринських хроматид, а розділення центромер відбувається лише під час другого поділу мейозу. Дослідження механізмів розділення центромер під час мітозу та мейозу показало багатоваріантність регуляції роботи Esp1 навіть в межах одного організму. Зокрема, відсутність

феномену передчасного розділення центромер (ПРЦ) у дріжджів з дефіцитною мутацією секурина Pds1 вказує на інший механізм подавлення активності Esp1 у дріжджів [209].

У багатоклітинних організмів розщеплення когезину, можливо, відбувається більш складним шляхом, аніж у дріжджів. Якщо в дріжджів когезин присутній у хромосомі геть аж до анафази, то в клітинах *Xenopus* його дисоціація відбувається вже на стадії профазі. Це дозволяє вважати, що присутність залишкової фракції когезинового комплексу на хромосомах, або наявність в еукаріот інших білків, що забезпечують з'єднання центромер до анафази мітозу. Залишаються відкритими багато питань, що пов'язані з функціональною активністю Esp1 у вищих еукаріот, і, зокрема, чи є Esp1 протеазою, і чи задіяний він в протеолізі Scc1, на якій стадії мітозу відбувається розщеплення Scc1 у вищих еукаріот, чи бере участь Esp1 у видаленні когезину в профазі, яким чином відбувається подавлення ефективності Esp1 секуринами до активації АПК і чи є розщеплення залишкових одиниць когезинового комплексу процесом, що має в якості посередника Esp1 і активується АПК [209].

Онкотрансформовані клітини демонструють картину хромосомної нестабільності і анеуплоїдії, що наводить на думку про вагому роль порушень мітотичного розподілу хромосом у патогенезі раку. Деякі клітинні лінії пухлин товстого кишківника, для яких характерна хромосомна нестабільність, несуть мутації гена VUB1, що беруть участь у затримці настання анафази шляхом блокування активності АПК. Оскільки впорядковане зчеплення і розділення центромер є обов'язковою умовою нормального розподілу хромосом у мітотичній клітині, дефекти зчеплення можуть реалізуватися в хромосомній нестабільності і раковій трансформації. Характерні особливості людського секурина РТТГ свідчать на користь цієї гіпотези [215, 209, 92, 180, 122, 242]. РТТГ був ідентифікований завдяки особливостям його експресії в пухлинах гіпофізу. Суперекспресія РТТГ гальмує клітинний поділ у зв'язку з його участю в затримці розділення центромер, за чим може послідувати порушення нормального порядку розподілу хромосом в мітозі та до появи анеуплоїдії хромосомних наборів дочірніх клітин. Як результат

онкогенного ефекту суперекспресії РТТГ розцінюється відсутність подавлення клітинного росту онкотрансформованих фібробластів у м'якому агарі і формування пухлин під час введення РТТГ мишам. Лишається невідомим, чи допомагає нова інформація про механізми розділення центромер розробити нові методи лікування раку [209].

Чи можна вважати, що знайдений фізичний молекулярний клей, що втримує сестринські хроматиди і центромери разом? Чи є Esp1 протеазою, що руйнує зчеплення центромер? Цілком імовірно. Можливо, когезивний комплекс регулює стабільність іншого, більш фундаментального зв'язку між центромерами. Підтвердженням цього є дані досліджень екстрактів яйцеклітин жаби. Ці дані свідчать, що розщеплення когезинового комплексу і його видалення з хроматину відбувається на самому початку мітозу, задовго до розділення центромер. Є підстави для сумнівів у здатності Esp1 безпосередньо розщеплювати когезиновий комплекс, бо він не має гомології ні з однією з відомих протеаз [202].

1.4. Феномен передчасного розділення центромер (ПРЦ).

Феномен передчасного розділення центромер (ПРЦ) полягає в тому, що центромери метафазних хромосом розділяються передчасно, і вже на стадії метафази ми спостерігаємо розділені хроматиди – або окремих хромосом або всіх хромосом метафазної пластинки.

Цей феномен вперше був виявлений ще у 60-тих роках ХХ століття і на початку його вважали артефактом культури клітин. Але потім було виявлено, що цей феномен набагато частіше зустрічається при різних патологіях – онкологічних захворюваннях, анеміях, хронічному алкоголізмі, розсіяному склерозі та інших захворюваннях (особливо спадкових), аніж у контрольній групі нормальних здорових людей.

Пізніше, у 90-тих роках стали розрізняти явище С-анафази або передчасної анафази, при якому всі центромери розходяться передчасно і феномен ПРЦ, при якому тільки в окремих хромосомах центромери розділилися передчасно. Вважається, що це принципово різні явища з різними механізмами і різним

біологічним значенням. Молекулярні механізми ПРЦ та С-анафази досі лишаються невідомими.



Рис. 1.3.1. Феномен ПРЦ у хворих на ГЛЛ. Стрілкою показано хромосоми, в яких центромери розійшлися передчасно.



Рис. 1.3.2. Феномен С-анафази в клітинах периферійної крові в хворого на ГЛЛ.

Феномен передчасного розділення центромер (ПРЦ) досі лишається недостатньо дослідженим. З цим явищем дослідники почали стикатися ще на початку інтенсивних досліджень в галузі цитогенетики, тобто наприкінці 1960-тих років. Так, з цим феноменом зіштовхнулись Гес К. (Heath С.) та Кіоссоглуу Е. (Kiossoglou Е.) у 1965 році, досліджуючи хворих на мегалобластну анемію, виникнення якої пов'язують з дефіцитом фолатів та вітаміну В12.

Але в той час феномену ПРЦ не приділили ніякої уваги і вважали його чисто випадковим або культуральним ефектом, свого роду артефактом. Лише в окремих роботах у 1970-тих роках дослідники зауважили, що цей феномен має місце, але систематичних досліджень проведено не було. Зацікавлення феноменом ПРЦ дослідники виявили лише в 1980-тих роках, коли було показано, що феномен ПРЦ пов'язаний з низкою патологій, у тому числі онкологічних [99, 154].

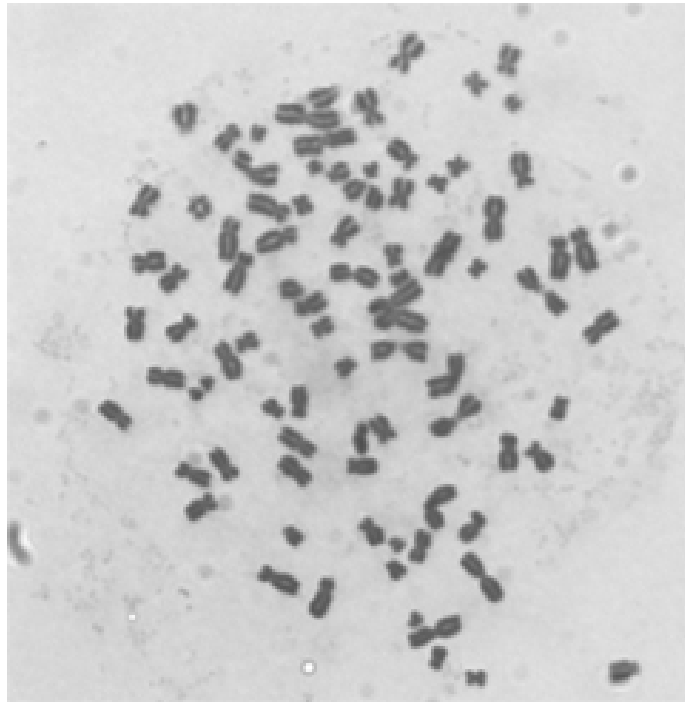


Рис. 1.3.2. Поліплоїдний набір хромосом в клітинах периферійної крові в хворого на ГЛЛ.

Передчасне розділення центромер – ПРЦ (premature centromere division – PCD) – це явище, при якому на стадії метафази сестринські хроматиди вже є розділені в ділянці центромери, але сестринські хроматиди продовжують утримуватись поруч, відтворюючи цілісну хромосомну структуру, але при цьому втрачається характерна Х-подібна конструкція, притаманна для метафазних хромосом [181 – 185]. ПРЦ-клітиною вважають таку мітотичну клітину, в якій передчасно розділились центромери однієї або декількох хромосом, тоді як решта хромосом зберігають характерну Х-подібну метафазну структуру [106, 276 – 279] (Рис. 1.3.1).

Розрізняють дві різновидності ПРЦ – повне (С-анафаза) і часткове (власне ПРЦ). При частковому ПРЦ у феномен задіяні переважно від 1 до 10 хромосом, інколи до 22 хромосом, а при С-анафазі в феномен задіяні від 50 до 100 % хромосом. Повне і часткове ПРЦ вважаються принципово різними явищами з різними механізмами і різним біологічним значенням і розглядаються окремо. Явище

повного ПРЦ в літературі називають передчасною анафазою або С-анафазою (C-anaphase) (далі в тексті повне ПРЦ позначається як С-анафаза) [175].

Істинні молекулярно-генетичні механізми ПРЦ та С-анафази лишаються досі невідомими, але припускається зв'язок цих явищ з низкою процесів, що відбуваються в живій клітині [40, 42]. Деякий час вважалося, що феномен ПРЦ є дефектом однієї або декількох центромер, а С-анафаза вважалося чисто культуральним ефектом [106]. Але пізніше було доведено, що ПРЦ та С-анафаза явища не випадкові і обумовлюються не культуральним ефектом, а складними біохімічними і молекулярно-генетичними механізмами [106, 276 – 279]. Було виявлено зв'язок явищ ПРЦ та С-анафази з дефіцитом фолієвої кистоти та фолатів. Було здійснено припущення, що феномен ПРЦ пов'язаний з процесом метилювання ДНК: фолієва кислота та фолати є донорами метильних радикалів в процесі метилювання ДНК [45]. Було висунуто припущення про зв'язок феномену С-анафази з резистентністю до колхіцину [74], але на сьогодні вважається, що це лише поодинокий окремий випадок причини виникнення С-анафази [106]. Новий інтерес до явищ ПРЦ та С-анафази з'явився спочатку в 1990-тих роках, а потім на початку 2000 років. Накопичилось багато нових фактів про невідповідний характер ПРЦ та С-анафази і на сьогодні вважається, що це не два конкретних явища з конкретними механізмами, а низка різних явищ, що мають однаковий фенотипічний прояв і причинами цих явищ є певні порушення функціонування когезинового комплексу, а саме в функціональній неактивності одного з компонентів когезинового комплексу [202]. Але, імовірно, існують крім цього інші фактори, в тому числі протеїнової природи, що пов'язані з функціонуванням центромери, які досі не ідентифіковані, але порушення роботи яких викликає появу феномену ПРЦ [209].

2. Матеріали і методи.

2.1. Контингент хворих

Було досліджено периферійну кров та червоний кістковий мозок у 57 хворих на ГЛЛ дітей віком від 0 до 14 років – у цих пацієнтів були отримані хромосомні препарати з високим мітотичним індексом, достатнім для статистичного аналізу (переважно не менше 100 мітозів). Переважна наведених даних були отримані в 1991 – 1999 роках, решта – в 1999 – 2023 роках.

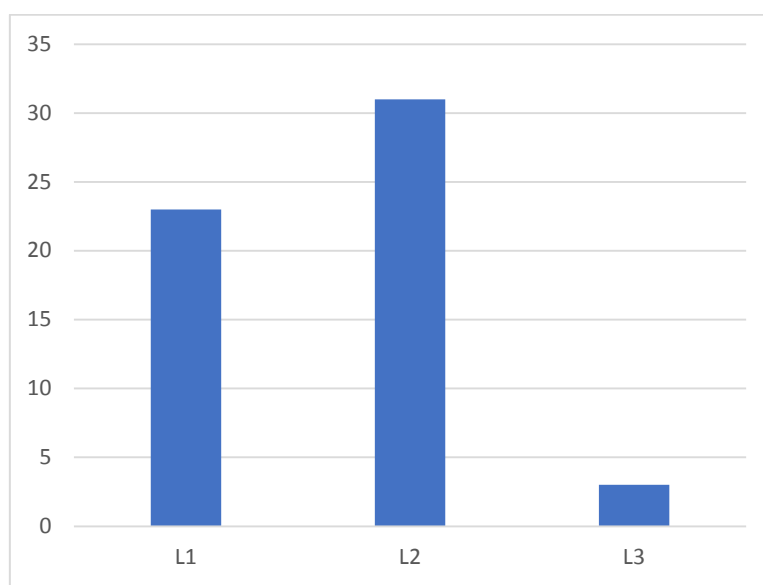


Рис. 2.1.1. Кількість досліджених хворих на ГЛЛ дітей різних форм згідно FAB-класифікації.

Більшість пацієнтів, хворих на ГЛЛ дітей, були діти чоловічої статі (33 пацієнти – 57,9 %) (рис. 2.1.1). Це відповідає даним інших дослідників про те, що ГЛЛ серед чоловіків трапляється частіше ніж серед жінок.

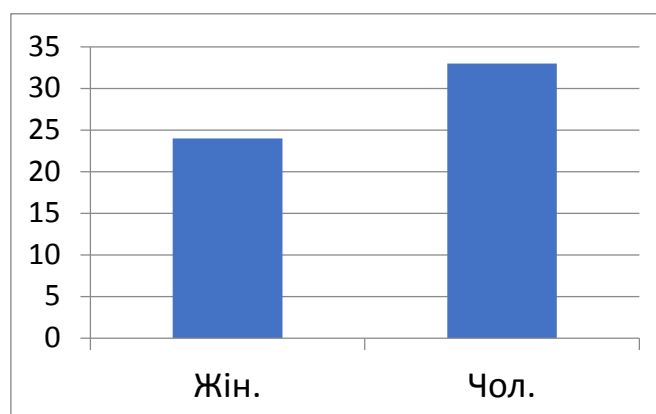


Рис. 2.1.2. Число досліджених нами хворих на ГЛЛ дітей різної статі.

По FAB-класифікації досліджені хворі на ГЛЛ пацієнти ділились на наступні групи:

1. L1 – 23 хворих.
2. L2 – 31 хворих.
3. L3 – 3 хворих.

Згідно із імунологічною класифікацією, зробленою з використанням проточної цитофлуориметрії, досліджені пацієнти ділилися на наступні групи з такими формами ГЛЛ:

1. pre-pre-B – 4 пацієнти.
2. pre-B – 44 пацієнти.
3. B – 4 пацієнти.
4. T – 5 пацієнтів.

Якщо поєднати FAB-класифікацію з імунологічною, то серед досліджених пацієнтів було досліджено наступні групи дітей хворих на ГЛЛ:

1. pre-pre-B L1 – 1
2. pre-pre-B L2 – 3
3. pre-B L1 – 20
4. pre-B L2 – 21
5. pre-B L3 – 3
6. B L2 – 4
7. T L1 – 2
8. T L2 – 3

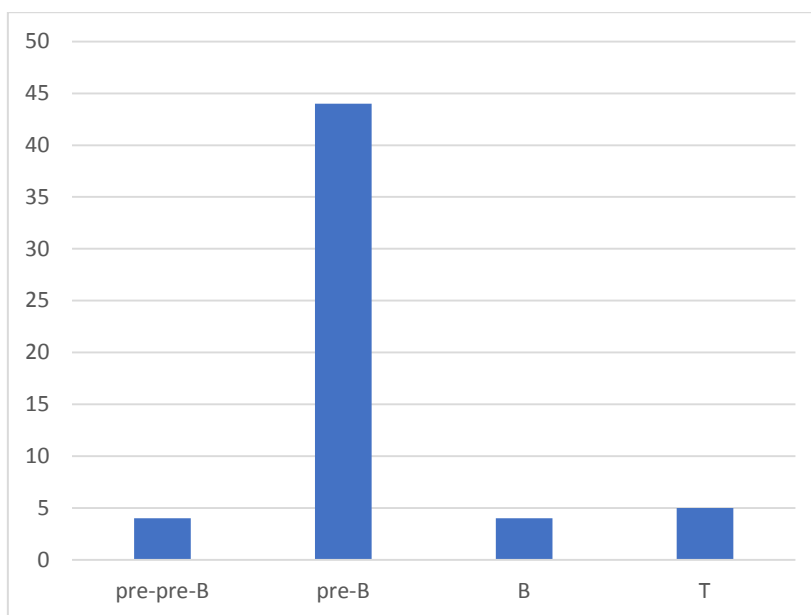


Рис. 2.1.3. Співвідношення числа досліджених випадків різних форм ГЛЛ у дітей згідно з імунологічною класифікацією.

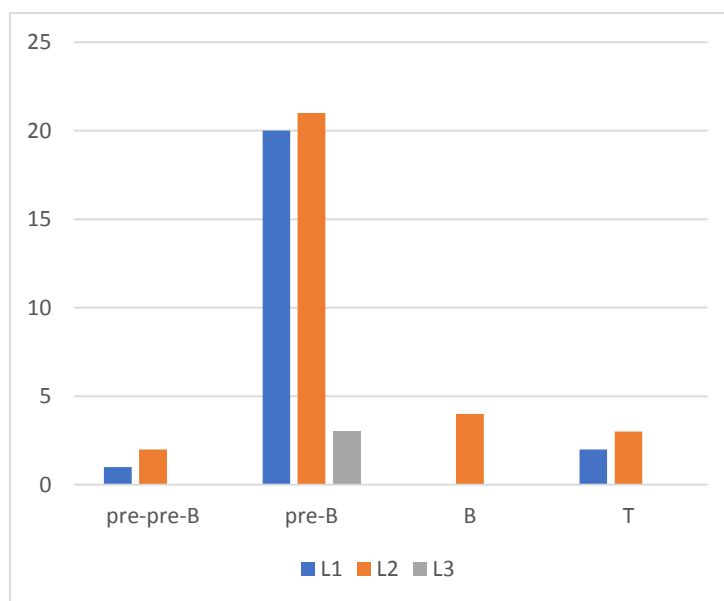


Рис. 2.1.4. Співвідношення числа досліджених випадків різних форм ГЛЛ у дітей. Показана кількість виявлених хворих з L1, L2, L3 формами ГЛЛ різних імунологічних груп ГЛЛ.

Досліджувались хворі на ГЛЛ діти на різних стадіях перебігу хвороби, зокрема, були досліджені пацієнти в I гострий період, II гострий період, III гострий період, V гострий період та в період ремісії. Кількість досліджених хворих різних стадій перебігу ГЛЛ наступна:

I гострий період – 57 пацієнтів.

II гострий період – 3 пацієнти.

III гострий період – 1 пацієнт.

V гострий період – 1 пацієнт.

Період ремісії – 20 пацієнтів.

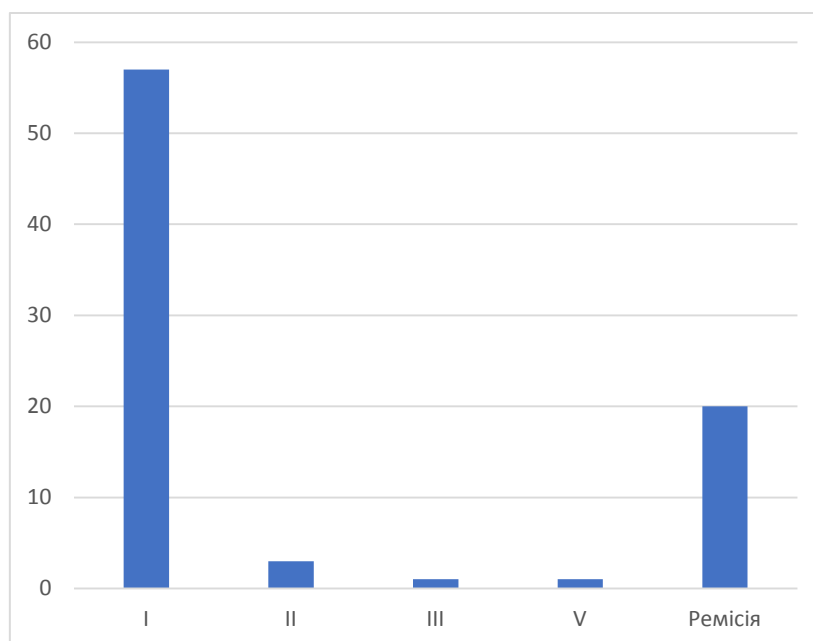


Рис. 2.1.5. Кількість досліджених пацієнтів різних стадій перебігу ГЛЛ.

Переважає більшість хворих на ГЛЛ дітей лікувались по протоколу ГЛЛ-ДГЛУ-95, лише 7 досліджених хворих лікувались по протоколу ГЛЛ-ДГЛУ-93, що є різновидністю протоколу ГЛЛ-ДГЛУ-95 і практично від нього не відрізняється.

Досліджені діти – хворі на ГЛЛ належали до наступних вікових груп:

1. Від 0 до 1 року – 2 пацієнти.
2. Від 2 до 4 років – 15 пацієнтів.
3. Від 5 до 7 років – 21 пацієнт.

4. Від 8 до 10 років – 7 пацієнтів.

5. Від 11 до 14 років – 12 пацієнтів.

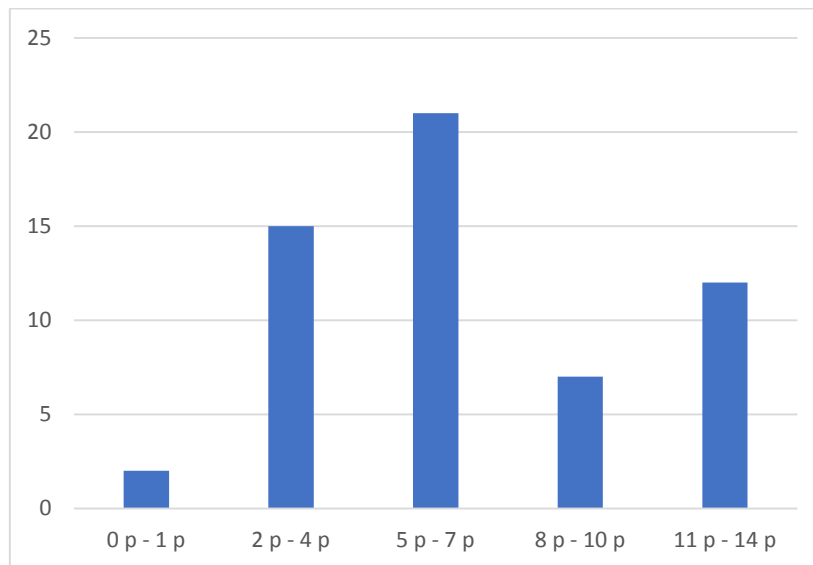


Рис. 2.1.6. Розподіл досліджених пацієнтів - хворих на ГЛЛ за віковими групами.

Досліджені пацієнти – хворі на ГЛЛ мали різні рівні бластозу – різні рівні злоякісних лімфобластів в периферійній крові. За рівнем бластозу досліджені пацієнти діляться на наступні групи:

1. 0 % бластів в ПК – 4 пацієнти.
2. 1 – 2 % бластів в ПК – 3 пацієнти.
3. 3 – 10 % бластів в ПК – 12 пацієнтів.
4. 11 – 25 % бластів в ПК – 6 пацієнтів.
5. 26 – 60 % бластів в ПК – 14 пацієнтів.
6. 61 – 99 % бластів в ПК – 15 пацієнтів.
7. 100 % бластів в ПК – 3 пацієнти.

Досліджені пацієнти – хворі на ГЛЛ діти ділились і на групи за рівнем злоякісних бластів в червоному кістковому мозку. Розподіл за цими групами був наступний:

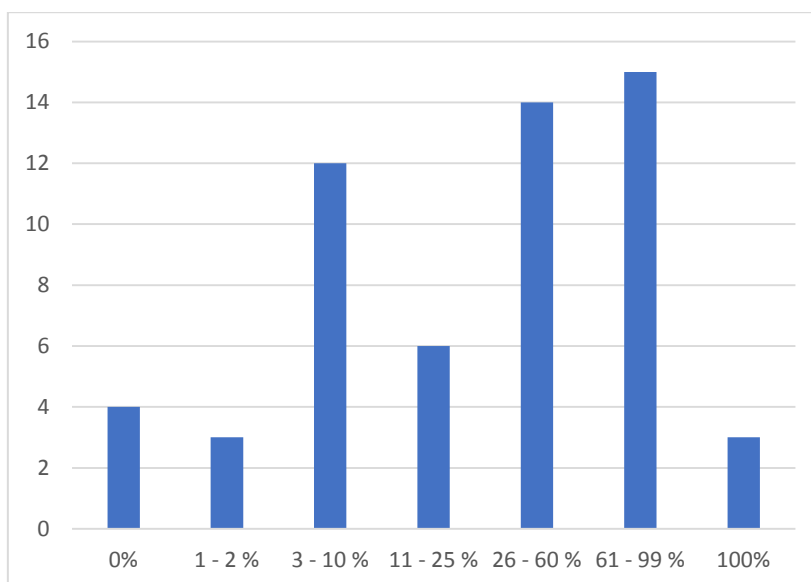


Рис. 2.1.7. Розподіл досліджених пацієнтів – хворих на ГЛЛ по групах з різним рівнем бластозу в периферійній крові. Показано рівень бластів в ПК в відсотках.

1. 0 % злоякісних бластів в КМ – 0 пацієнтів.
2. 1 – 10 % злоякісних бластів в КМ – 0 пацієнтів.
3. 11 – 30 % злоякісних бластів в КМ – 0 пацієнтів.
4. 31 – 50 % злоякісних бластів в КМ – 4 пацієнти.
5. 51 – 70 % злоякісних бластів в КМ – 5 пацієнти.
6. 71 – 99 % злоякісних бластів в КМ – 35 пацієнти.
7. 100 % злоякісних бластів в КМ – 13 пацієнтів.

За загальним рівнем лейкоцитів у периферійній крові досліджених хворих на ГЛЛ можна розділити на наступні групи:

1. 0 – 1 тис./мм³ – 1 пацієнт.
2. 2 – 8 тис./мм³ – 12 пацієнтів.
3. 9 – 12 тис./мм³ – 10 пацієнтів.
4. 13 – 17 тис./мм³ – 7 пацієнтів.
5. 18 – 25 тис./мм³ – 13 пацієнтів.
6. 26 – 40 тис./мм³ – 7 пацієнтів.
7. 41 – 70 тис./мм³ – 1 пацієнт.
8. 71 – 100 тис./мм³ – 4 пацієнти.
9. 101 – 200 тис./мм³ – 1 пацієнт
10. > 200 тис./мм³ – 1 пацієнт.

(Норма становить 4 – 10 тис./мм³).

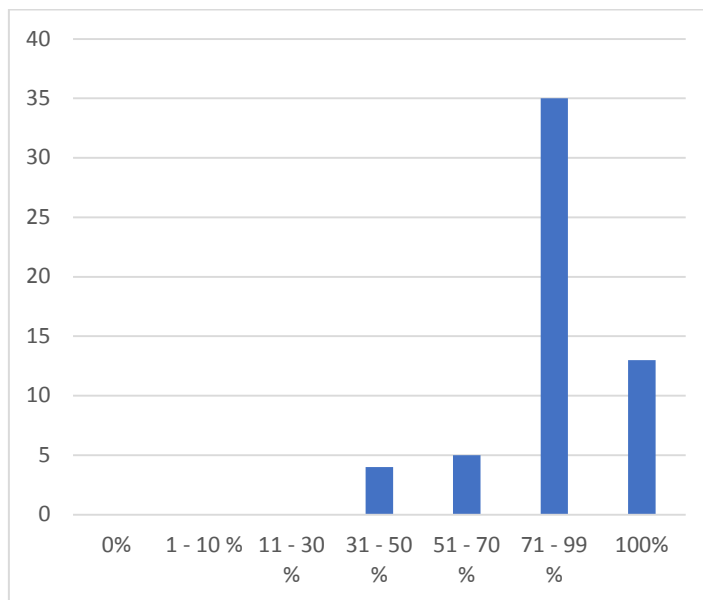


Рис. 2.1.8. Розподіл досліджених пацієнтів – хворих на ГЛЛ по групах з різним рівнем злукісного бластозу в червоному кістковому мозку.

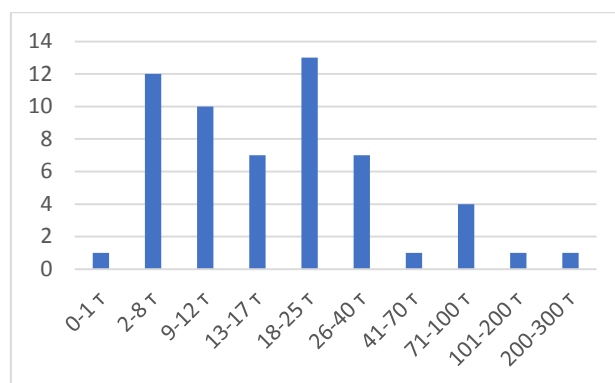


Рис. 2.1.9. Розподіл досліджених пацієнтів – хворих на ГЛЛ дітей по групах з різним рівнем лейкоцитів у периферійній крові. Показана кількість пацієнтів і рівень лейкоцитів в тис./мм³.

За рівнем гемоглобіну в периферійній крові досліджених пацієнтів – хворих на ГЛЛ можна розбити на наступні категорії:

1. 30 – 60 г/л – 8 пацієнтів.
2. 61 – 80 г/л – 21 пацієнт.
3. 81 – 100 г/л – 21 пацієнт
4. 101 – 120 г/л – 5 пацієнтів.
5. 121 – 130 г/л – 2 пацієнти.

(Норма становить 114 – 140 г/л).

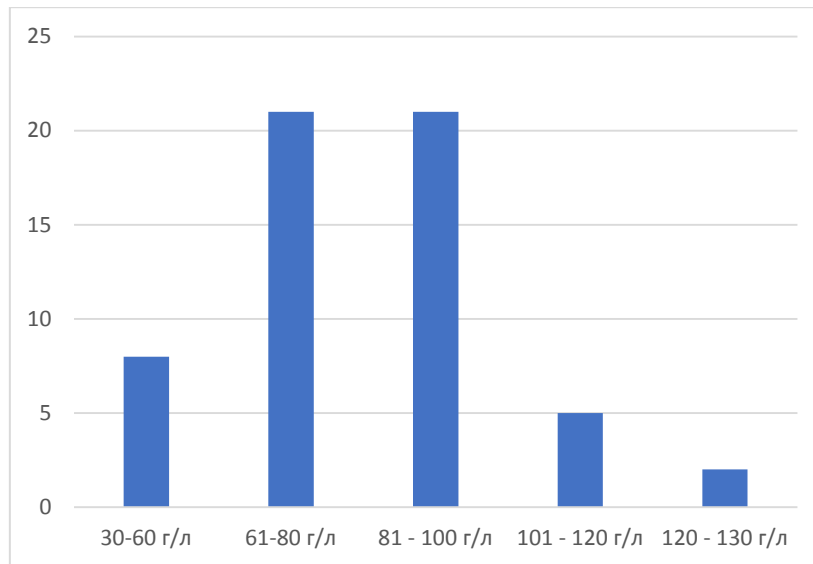


Рис. 2.1.10. Розподіл досліджених пацієнтів – хворих на ГЛЛ дітей по групах з різним рівнем гемоглобіну в периферійній крові.

За рівнем тромбоцитів у досліджених пацієнтів – хворих на ГЛЛ дітей можна розбити на наступні групи:

1. 0 – 20 тис./мм³ – 6 пацієнтів.
2. 21 – 50 тис./мм³ – 15 пацієнтів.
3. 51 – 80 тис./мм³ – 11 пацієнтів.
4. 81 – 100 тис./мм³ – 5 пацієнти.
5. 101 – 150 тис./мм³ – 9 пацієнтів.
6. 150 – 200 тис./мм³ – 6 пацієнтів.
7. > 200 тис./мм³ – 5 пацієнтів.

(Примітка: норма становить: 180 – 450 тис./мм³).

Всі хворі на ГЛЛ з рецидивами захворювання пройшли курс хіміотерапії згідно із відповідним протоколом.

З 57 досліджених в I гострому періоді пацієнтів з ГЛЛ (каріотипування яких було здійснено успішно і отримані результати щодо ПРЦ та С-анафази):

- 36 (63,2 %) – досягли тривалої стадії ремісії;
- 11 (19,2 %) – померли, не дійшовши до стадії ремісії;

- 10 (17,6 %) – мали швидкий рецидив (або рецидиви) і померли внаслідок цього.

З 36 пацієнтів, що досягли тривалої ремісії, 2 померли внаслідок причин, що не пов'язані з перебігом основного захворювання. Основним критерієм тривалої ремісії вважалось наявність в червоному кістковому мозку рівня бластів, що не перевищував 2 %.

2.2. Методи дослідження.

Клінічні показники хворих на ГЛЛ визначалися на аналізаторі «Coulter», кількість лімфобластів у ПК визначалася мікроскопічно. Діагнози ГЛЛ та ГМЛ були підтвержені в кожному випадку методом фенотипування клітин на проточному цитофлуориметрі «FABScan Backton Dickenson».

Аналізувалися хромосомні препарати, що були отримані з культури периферійної крові та червоного кісткового мозку на середовищі Ігла фірми «Life Technologis» та «Sigma» з додаванням ембріональної сироватки ВРХ, мітогену фітогемаглютинін (ФГА) фірми «Difco» (для ПК, для КМ ФГА не додавався) та L-глютаміну. Використовувались середовища Ігла, RPMI-1640, 199-хепомодифіковане вищеназваних фірм. Найвищі мітотичні показники були отримані при використанні середовища RPMI-1640 не залежно від походження клітин і типу культури. Ембріональна сироватка великої рогатої худоби (ВРХ) використовувалась фірми «Biomark Ink». L-глютамін використовувався фірми «Sigma». Колхіцин використовувався фірми «Baker Analyzed». Пропідіум йодид використовувався фірми «Sigma». Хромосомні препарати аналізувалися за допомогою мікроскопа фірми «Leitz».

Феномен ПРЦ досліджувався у культурі клітин периферійної крові та червоного кісткового мозку дітей хворих на ГЛЛ, ГМЛ, негоджкінську лімфому, ідіопатичну гіпопластичну анемію та в людей з контрольної групи.



Рис. 2.2.1. Феномен ПРЦ у культурі клітин червоного кісткового мозку хворого на ГЛЛ. Хромосоми, задіяні в ПРЦ, виділені стрілочками.

Клітини культивувалися 48 або 72 год. при 37°C на середовищі Ігла з додатками описаними вище. Для цього в стерильний культуральний посуд об'ємом 10 мл вносилося 0,5 мл периферійної крові, забраної з антикоагулянтном або відповідно 0,3 мл червоного кісткового мозку, отриманого в результаті пункції з грудини. Потім додавалось в стерильних умовах 6 мл середовища Ігла, 1 мл ембріональної сироватки ВРХ, 0,1 мл насиченого розчину L-глутаміну. Для ФГА-стимульованих культур периферійної крові додавалось 0,1 мл стандартного розчину М-ФГА. При високому бластозі (коли рівень бластів перевищував 30 % від всіх лейкоцитів) об'єм периферійної крові для культури зменшували до 0,3 мл. Саме при таких співвідношеннях речовин і крові в культуральному середовищі спостерігався максимальний мітотичний індекс.



Рис. 2.2.2. Феномен ПРЦ у культурі клітин периферійної крові хворого на ГЛЛ. Хромосоми, задіяні в ПРЦ, показані стрілочками.

Крім 48-годинної культури щодо пацієнтів з високим бластозом, практикували 24-годинні культури клітин як кісткового мозку, так і периферійної крові. У цих випадках не стимульована ФГА культура клітин культивувалася 24 години. Периферійна кров контрольної групи людей, крім 48-годинної культури, культивувалась 72 години – в обох випадках з мітогеном ФГА. Клітини культивувалися при 37°C в термостаті.

За 2 год. до завершення клітинного циклу додавався колхіцин – 0,1 мл в концентрації 0,01 мг/мл. Після цього клітини центрифугували, додавали гіпотонічного розчину КСІ в концентрації 0,075 М.



Рис. 2.2.3. Феномен С-анафази в культурі клітин червоного кісткового мозку хворого на ГЛЛ.

Гіпотонія проводилась 30 хв при 37°C в термостаті. Клітини фіксувалися сумішшю етанол : оцтова кислота (оцтова кислота безводна) в пропорціях 3:1 і розкапувалися на предметні скельця. Приготування хромосомних препаратів проводилось стандартно. У цій роботі були використані препарати, які забарвлювалися рутинно барвником Гімза. Крім рутинного забарвлення застосовувалось і диференційне забарвлення хромосом для пошуку хромосомних мутацій та ідентифікації хромосом при анеупоїдії. Стандартні методики приготування хромосомних препаратів були дещо модифіковані в зв'язку з тим, що бластні клітини в культурі потребують більшої кількості L-глутаміну, інтенсивніше переробляють субстрат і більше виділяють токсичних речовин – продуктів метаболізму.

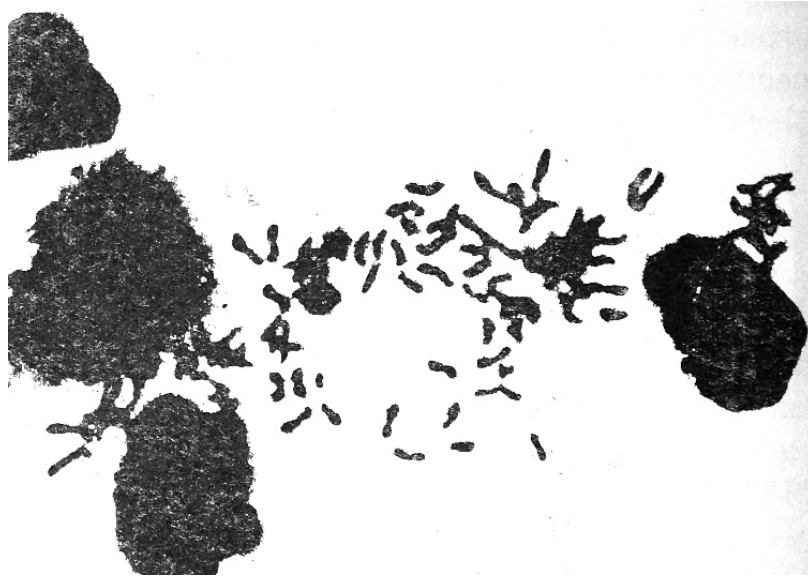


Рис. 2.2.4. Феномен С-анафази в культурі клітин периферійної крові хворого на ГЛЛ.

Модифікація методики, що описана вище, давала значно більший мітотичний індекс і дозволяла в окремих випадках отримувати понад 100 мітозів клітин периферійної крові не стимульованої ФГА при тотальному бластозі, хоча в літературі зазначається, що при тотальному бластозі мітотичний індекс або вкрай низький, або хромосомні препарати не вдавалось отримувати взагалі [14].

Синхронізація клітинного циклу проводилась наступним чином: через 2 години після початку культивування клітин в культуру вводились стерильні розчини 5-фтор-уридину та уридину (стандартизовані для цієї методики), ще через 18 годин вводився стерильний розчин тимідину (стандартний для цієї методики) і ще через 5 годин 30 хвилин – розчин колхіцину. Далі клітини оброблялися стандартно – як описано вище.

При дослідженні ПРЦ та С-анафази ми застосували наступний підхід: якщо ПРЦ охоплювало від 1 до 22 хромосом каріотипу, то ми вважали, що маємо справу з феноменом ПРЦ. Якщо феномен охоплював від 23 (50%) до 46 (100%) хромосом, то ми вважали, що маємо справу з феноменом С-анафази. Проте, переважно при ідентифікації явища у нас не виникало подібних проблем. Феномен ПРЦ переважно охоплював 1 – 10 хромосом, а С-анафаза переважно стосувалась 100 %

хромосом - всіх хромосом клітини (незалежно від плоїдності клітин) (рис. 2.2.1, 2.2.2, 2.2.3, 2.2.4).

Статистичний аналіз результатів здійснювався за допомогою програм «Statistica 13.0» та «Excell 2007» з пакету «Microsoft office». Для аналізу результатів дослідження використовували коефіцієнт кореляції, t-критерій Стюдента – для визначення різниці між векторами середніх при їх сукупному розгляді. При обробці результатів були використані традиційні методи математичної статистики, в тому числі використовувались середні арифметичні (M), похибка середніх арифметичних (m) та критерій Стюдента за групами. Оцінка відмінностей проводилась з використанням критерію Пірсона.

3. Результати і обговорення.

3.1. Контрольна група

В якості контрольної групи аналізувались здорові діти, що проходили обстеження – у них для визначення біохімічних показників брався аналіз крові – клітини крові були використані для цитогенетичних досліджень. Контрольну групу склали діти віком від 0 до 14 років, які після обстеження були визнані здоровими.

Загалом, було досліджено 15 здорових дітей, що склали контрольну групу. Загалом, рівень ПРЦ у цій контрольній групі коливався від 0 до 6% клітин і становив в середньому $1,7 \pm 0,3$ %. С-анафаза в контрольній групі не зустрічалася зовсім (0 %). Крім того, було проведено дослідження червоного кісткового мозку 3 здорових дітей – пункція була зроблена в результаті помилкового діагнозу, що був здійснений у районних лікарнях. Хоча вибірка в цьому випадку була малою, але рівень ПРЦ був близький до контрольної групи – становив в середньому $3,0 \pm 0,3$ %, С-анафаза не зустрічалася зовсім (0%). Це наводить на думку про те, що феномени ПРЦ та С-анафази не властиві нормальним здоровим проліферуючим клітинам, а властиві клітинам при певних патологічних процесах. Було ще досліджено червоний кістковий мозок 3 здорових дорослих людей, що були донорами червоного кісткового мозку для трансплантації його пацієнтам з гематологічними патологіями.

Рівень ПРЦ та С-анафази в червоному кістковому мозку не відрізнявся у них від попередньої групи і становив в середньому $3,0 \pm 0,3$ % для ПРЦ і 0% для С-анафази.

3.2. Феномени ПРЦ та С-анафази у хворих на гострий лімфобластний лейкоз.

Всі хворі на ГЛЛ, яким було здійснено успішне каріотипування з отриманням препаратів з високим мітотичним індексом в І гострому періоді до початку лікування не отримували хіміотерапії, за винятком 1 пацієнта, що за 6 місяців до проведення аналізів отримав незначні ін'єкції преднізолону.

Всі хворі на стадії ремісії, яким було здійснене успішне каріотипування з високим мітотичним індексом, перебували на стадії повної ремісії мінімум 1 рік, рівень

бластів в червоному кістковому мозку складав 0 – 2 %. Лише 1 хворий з досліджених перебував, як пізніше виявилось, у неповній ремісії.

Всі досліджені хворі на ГЛЛ діти не мали попередніх злоякісних онкологічних захворювань та гематологічних захворювань. У всіх досліджених хворих на ГЛЛ дітей до початку лікування не було цитостатичної терапії. Тих хворих на ГЛЛ дітей, які мали цитостатичну терапію до забору аналізів, не вдалося каріотипувати – жодної мітотичної пластини отримати не вдалося.

3.3. Зв'язок феномену передчасного розділення центромер метафазних хромосом з патогенезом і перебігом гострого лімфобластного лейкозу

У лабораторії Львівської обласної дитячої спеціалізованої клінічної лікарні (ЛОДСКЛ) було проведено цитогенетичні дослідження 191 хворої на ГЛЛ дитини віком від 0 до 14 років включно. Проте якісні хромосомні препарати з високим мітотичним індексом (більше 100 мітозів), достатнім для дослідження ПРЦ, вдалося отримати тільки в 57 пацієнтів. Переважна частина представлених результатів отримані переважно в 1991 – 1999 роках, та було . Враховуючи важкий стан пацієнтів, що поступали на лікування, такий вихід результативності ми вважаємо високим. Лише невелика частина пацієнтів (менше 15 %) поступала на лікування на ранніх стадіях перебігу ГЛЛ. У різних лабораторіях світу, щодо аналогічних хворих, результативність в той час складала біля 30 %, при цьому дуже часто отримували препарати з дуже низьким мітотичним індексом, що робило неможливим дослідження ПРЦ і статистичний аналіз. Це пояснюється низькою причин: низькою здатністю лімфобластів переходити в культуру *in vitro* і ділитися в культурі, нечутливістю клітин до ФГА, посиленням метаболізмом злоякісного клону (внаслідок чого настає швидка інтоксикація продуктами метаболізму клітин в культурі), посилене споживання лімфобластами різних речовин (зокрема, глютаміну). Вищеописана методика, розроблена і застосована нами, була більш результативною, але не усунула всіх перешкод для отримання якісних хромосомних препаратів від хворих на ГЛЛ.

Багато пацієнтів, клітини яких не дали росту в культурі, знаходились в передлетальному стані і померли через короткий час після забору клітин, цілком можливо, що відсутність росту в культурі була зумовлена загальним станом організму.

Результати цитогенетичних досліджень з визначенням рівнів ПРЦ та С-анафази 57 хворих на ГЛЛ дітей в першій гострій період перебігу захворювання наведені в таблиці 3.3.1. У цій таблиці наведено форму ГЛЛ, рівень бластів в ПК, результати визначення ПРЦ та С-анафази як в периферійній крові, так і в червоному кістковому мозку. Результати клінічних досліджень цих же пацієнтів наведені в таблиці 3.3.1, де показані рівні лейкоцитів, гемоглобіну, тромбоцитів. Метою цієї роботи не був пошук хромосомних мутацій, що спричиняють онкогенез ГЛЛ, проте, такі дослідження нами проводились і було виявлено низку хромосомних мутацій в культурі клітин хворих на ГЛЛ.

Таблиця 3.3.1.

Результати цитогенетичних досліджень хворих на ГЛЛ - перший гострий період, периферійна кров, кістковий мозок. Показані умовні позначення пацієнтів, форма ГЛЛ, рівень бластів в ПК, рівні ПРЦ та С-анафази в периферійній крові та кістковому мозку.

№ з/п	Пацієнт, стать	Форма ГЛЛ		Бласти в ПК (%)	ПРЦ (%)		С-анафаза (%)	
		Імун.	FAB		КМ	ПК	КМ	ПК
1	БС ♂	pre-pre-B	L2	60	29	31	0	1
2	МЛ ♀	T	L2	41	22	25	1	1
3	НВ ♂	pre-B	L1	12	19	21	2	3
4	ЧО ♀	pre-B	L1	10	13	15	5	8
5	ГВ ♂	pre-B	L2	16	15	17	8	9
6	КЛ ♀	B	L2	7	4	5	1	2
7	ЗВ ♂	pre-B	L1	25	19	22	2	3
8	ШС ♂	pre-B	L2	93	53	64	11	15
9	ПМ ♀	pre-B	L1	4	9	10	1	1
10	ХМ ♀	pre-B	L2	0	3	4	0	1
11	КК ♂	pre-B	L1	62	35	39	2	5
12	МК ♀	pre-B	L1	45	33	36	1	3
13	АП ♂	B	L2	43	30	38	8	9
14	СО ♀	pre-B	L2	6	3	4	1	2
15	СН ♀	pre-B	L2	10	41	45	0	1
16	НЮ ♂	pre-B	L1	18	17	19	1	1
17	СС ♀	pre-B	L1	64	36	38	20	25
18	ГХ ♀	pre-B	L2	79	39	41	24	29
19	ІР ♂	pre-B	L1	30	15	17	9	10
20	ГЛ ♀	T	L1	38	18	19	7	9
21	ХА ♂	pre-B	L2	29	16	17	2	3
22	БВ ♂	pre-B	L2	92	45	52	5	9
23	ВО ♂	pre-B	L2	5	3	4	0	0
24	ММ ♀	pre-B	L1	4	2	3	0	1

25	ДА ♂	pre-B	L2	20	31	35	3	5
26	ФО ♂	pre-B	L1	50	25	27	5	7
27	ГР ♂	pre-B	L2	0	2	3	0	0
28	КО ♂	pre-B	L2	10	7	9	1	1
29	ТБ ♂	pre-B	L1	78	40	43	5	8
30	КТ ♀	pre-pre-B	L2	47	21	24	3	5
31	ЧР ♂	pre-B	L2	44	24	25	1	1
32	КЕ ♂	pre-B	L2	15	8	9	0	0
33	ЛУ ♀	pre-B	L2	100	75	89	13	11
34	ПО ♀	pre-B	L2	9	12	15	36	39
35	КМ ♂	pre-B	L2	43	53	61	7	8
36	ЧМ ♂	B	L2	2	3	8	36	43
37	СТ ♂	pre-B	L1	2	4	7	1	1
38	БЛ ♀	pre-B	L1	78	59	54	41	46
39	КН ♀	pre-B	L1	73	51	54	11	12
40	СН ♀	pre-B	L2	23	11	13	2	5
41	ЗМ ♂	pre-B	L2	35	17	19	3	7
42	СО ♂	pre-pre-B	L2	0	2	3	51	55
43	ШМ ♀	pre-B	L1	3	5	7	3	6
45	РД ♂	T	L2	6	11	12	4	10
46	ПР ♀	pre-pre-B	L1	0	4	5	2	1
47	РГ ♀	pre-B	L2	3	2	3	3	4
48	ІС ♀	B	L2	100	78	84	11	12
49	ГГ ♂	T	L2	100	81	85	10	13
50	ЛО ♂	T	L1	65	39	41	7	9
51	БХ ♀	pre-B	L3	74	75	71	15	20
52	БА ♂	pre-B	L1	81	95	93	5	7
53	ПЮ ♂	pre-B	L3	52	23	25	29	31
54	ДА ♂	pre-B	L2	1	1	2	0	0
55	ТТ ♂	pre-B	L3	95	91	95	2	3
56	ГА ♂	pre-B	L1	81	77	79	4	5
7	БЗ ♀	pre-B	L1	90	81	84	5	9
Сер.				39,35	29,16	31,70	7,63	9,58
Std. Err.				± 4,45	± 3,48	± 3,59	± 1,5	± 1,6

Таблиця 3.3.2.

Результати клінічних досліджень хворих на ГЛЛ – перший гострий період. Показані умовні позначення пацієнтів, форма ГЛЛ, рівень бластів в ПК, рівні гемоглобіну (Hb), лейкоцитів (Leu) та тромбоцитів (Tr).

№ з/п	Хворий, стать	Форма ГЛЛ		Бласти в ПК (%)	Hb (г/л)	Leu (тис./м ³)	Tr (тис./м ³)
		Імун.	FAB				
1	БС ♂	pre-pre-B	L2	60	73	35	25
2	МЛ ♀	T	L2	41	80	22	49
3	НВ ♂	pre-B	L1	12	88	15	89
4	ЧО ♀	pre-B	L1	10	90	11	93
5	ГВ ♂	pre-B	L2	16	74	19	90
6	КЛ ♀	B	L2	7	95	10	149
7	ЗВ ♂	pre-B	L1	25	90	12	59
8	ШС ♂	pre-B	L2	93	74	39	55
9	ПМ ♀	pre-B	L1	4	95	7	142
10	ХМ ♀	pre-B	L2	0	56	5	130
11	КК ♂	pre-B	L1	62	35	49	22
12	МК ♀	pre-B	L1	45	42	20	44
13	АП ♂	B	L2	43	30	19	40
14	СО ♀	pre-B	L2	6	59	15	137
15	СН ♀	pre-B	L2	10	79	13	98
16	НЮ ♂	pre-B	L1	18	83	10	87
17	СС ♀	pre-B	L1	64	58	32	29
18	ГХ ♀	pre-B	L2	79	51	25	21
19	ІР ♂	pre-B	L1	30	79	17	77
20	ГЛ ♀	T	L1	38	48	16	78
21	ХА ♂	pre-B	L2	29	88	10	69
22	БВ ♂	pre-B	L2	92	70	33	23
23	ВО ♂	pre-B	L2	5	104	5	125
24	ММ ♀	pre-B	L1	4	122	12	133
25	ДА ♂	pre-B	L2	20	87	13	73

26	ΦΟ ♂	pre-B	L1	50	80	19	65
27	ΓΡ ♂	pre-B	L2	0	101	8	102
28	ΚΟ ♂	pre-B	L2	10	86	7	112
29	ΤΒ ♂	pre-B	L1	78	63	34	34
30	ΚΤ ♀	pre-pre-B	L2	47	71	20	61
31	ΧΡ ♂	pre-B	L2	44	72	19	57
32	ΚΕ ♂	pre-B	L2	15	125	15	60
33	ΛΥ ♀	pre-B	L2	100	67	35	24
34	ΠΟ ♀	pre-B	L2	9	89	11	147
35	ΚΜ ♂	pre-B	L2	43	75	12	155
36	ΧΜ ♂	B	L2	2	103	8	179
37	ΣΤ ♂	pre-B	L1	2	100	8	188
38	ΒΛ ♀	pre-B	L1	78	66	25	36
39	ΚΗ ♀	pre-B	L1	73	71	20	19
40	ΣΗ ♀	pre-B	L2	23	89	11	78
41	ΖΜ ♂	pre-B	L2	35	90	10	164
42	ΣΟ ♂	pre-pre-B	L2	0	86	5	159
43	ΠΜ ♀	pre-B	L1	3	91	8	243
44	ΛΛ ♀	pre-B	L1	70	86	82	13
45	ΡΔ ♂	T	L2	6	81	5	240
46	ΠΡ ♀	pre-pre-B	L1	0	102	7	47
47	ΡΓ ♀	pre-B	L2	3	98	6	259
48	ΙΣ ♀	B	L2	100	76	99	19
49	ΓΓ ♂	T	L2	100	71	92	15
50	ΛΟ ♂	T	L1	65	81	23	215
51	ΒΧ ♀	pre-B	L3	74	70	31	35
52	ΒΑ ♂	pre-B	L1	81	69	210	22
53	ΠΟ ♂	pre-B	L3	52	70	21	43
54	ΔΑ ♂	pre-B	L2	1	104	1	190
55	ΤΤ ♂	pre-B	L3	95	65	92	18
56	ΓΑ ♂	pre-B	L1	81	82	20	210
57	ΒΖ ♀	pre-B	L1	90	91	122	17
				5	79,32	27,19	90,58
Err.				5	± 2,48	± 4,68	± 8,90

Хромосомні мутації, виявлені у досліджених хворих на ГЛЛ дітей в перший гострий період:

- t(9;14)
- t(9;22)ph⁺
- der3
- der2p
- der22
- Ydup q⁺
- 21s⁺
- 138XXXXXXXX
- inv9
- 13s⁺
- 69XXX
- 45XY, - C
- 51 XY, +3C, +D, +E
- 92XXYY
- 47XY, +E
- 44XY, - 2C
- 69XXY
- 40XY, - 6C
- 43XY, - C, - 2E
- 45 XY, - A
- 28 XY,
- 43XY, - 3C
- 36XY, - 5C, - 5E
- 44XY, - 2C
- 42XY, - 2C, - 2E
- 38 XY, - 6C, - 2E

Далеко не всі з цих виявлених аномалій були первинними мутаціями – причиною початку патогенезу ГЛЛ, більшість були вторинними, але всі були причинами виникнення аномальних клонів клітин і всі є свідченням нестабільності геному досліджених хворих на ГЛЛ.

Комплексний цитогенетичний аналіз хворих на ГЛЛ дітей на різних стадіях перебігу захворювання (у перший гострий період, на стадії ремісії, під час рецидиву, в контрольній групі) показав, що феномени ПРЦ та С-анафази зустрічаються з високою частотою як в кістковому мозку, так і в периферійній крові хворих на ГЛЛ в перший гострий період – рівень цих феноменів статистично достовірно відрізняється від показників контрольної групи та від показників хворих на ГЛЛ в період ремісії (таблиця 20.5.2.3, рис. 20.5.2.1). У хворих на ГЛЛ – нелікованих, в першому гострому періоді рівень ПРЦ коливався від 2 до 95 % і становив в середньому для червоного кісткового мозку $31,7 \pm 3,59$, для клітин периферійної крові $29,16 \pm 3,48$. Це статистично достовірно відрізняється від аналогічних показників як контрольної групи, так і групи хворих на ГЛЛ в ремісії ($p < 0,01$).

Таблиця 3.3.3. Середні значення рівнів ПРЦ та С-анафази у хворих на ГЛЛ в перший гострий період, в період ремісії та в контрольній групі.

Група	ПРЦ		С-анафаза	
	ПК	КМ	ПК	КМ
ГЛЛ I гострий період	$29,16 \pm 3,48$	$31,70 \pm 3,59$	$7,63 \pm 1,5$	$5,58 \pm 1,5$
ГЛЛ ремісія	$3,4 \pm 0,3$	$3,5 \pm 0,4$	$1,5 \pm 0,3$	0
Контрольна група	$1,7 \pm 0,3$	$3,0 \pm 0,3$	0	0

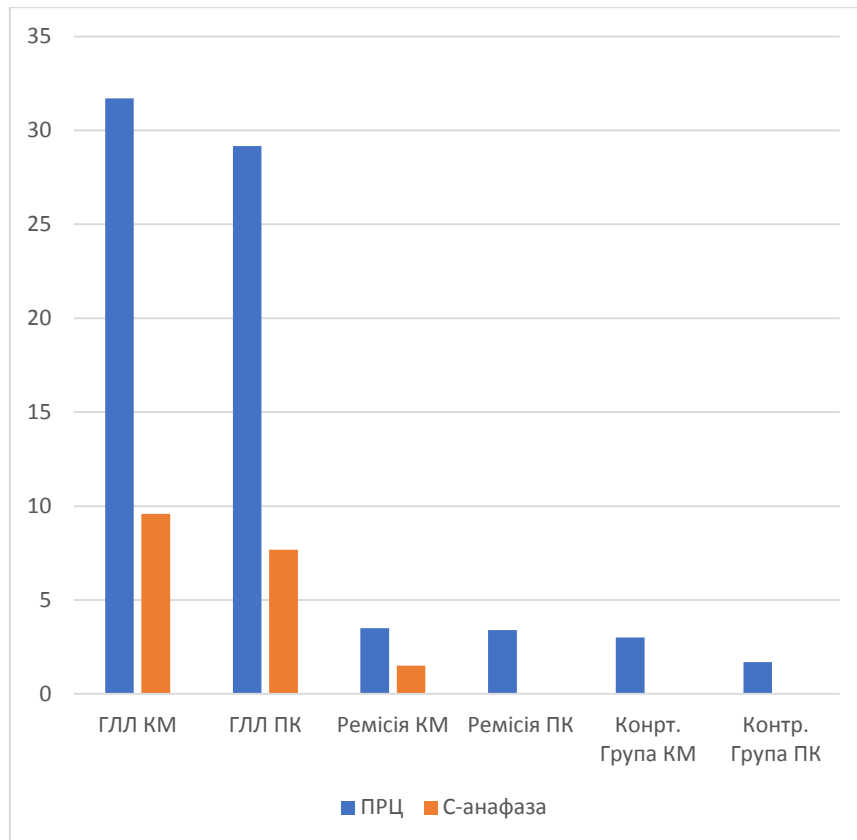


Рис. 3.3.1. Середні значення рівнів ПРЦ та С-анафази у хворих на ГЛЛ в перший гострий період, в період ремісії та в контрольній групі.

Рівень С-анафази в периферійній крові у хворих на ГЛЛ дітей в першому гострому періоді коливався від 0 до 55 % і становив в середньому: для червоного кісткового мозку $9,58 \pm 1,5$ %; для периферійної крові $7,63 \pm 1,5$ %. Це статистично достовірно відрізняється від аналогічних показників як контрольної групи, так і групи хворих на ГЛЛ в ремісії ($p < 0,01$). У контрольній групі С-анафаза не зустрічалася зовсім – ні в червоному кістковому мозку, ні в периферійній крові. У хворих на ГЛЛ в період ремісії в червоному кістковому мозку С-анафаза не зустрічалася зовсім, в периферійній крові поодинокі – в середньому на рівні $1,5 \pm 0,3$ %. Це більш ніж вдвічі відрізняється від рівнів С-анафази в першому гострому періоді.

Було досліджено 20 хворих на ГЛЛ дітей в період ремісії. Час перебування в ремісії у них становив від 3 місяців до 5 років. За основний критерій ремісії

брався рівень бластів у червоному кістковому мозку після завершення лікування, що не перевищував 2 %.

У період ремісії рівні ПРЦ та С-анафази як у кістковому мозку, так і в периферійній крові статистично достовірно знижувались і статистично достовірно не відрізнялися від контрольної групи. У червоному кістковому мозку в дітей хворих на ГЛЛ в період ремісії рівень ПРЦ становив в середньому $3,5 \pm 0,4$ %, рівень С-анафази становив 0 %. У периферійній крові хворих на ГЛЛ дітей в період ремісії рівень ПРЦ становив $3,4 \pm 0,3$ %, а рівень С-анафази $1,5 \pm 0,3$ %. Всі ці отримані результати дозволяють пропонувати ПРЦ та С-анафазу як додаткові діагностичні маркери ГЛЛ, як додаткові критерії ремісії ГЛЛ. Результати дослідження клінічних показників у хворих на ГЛЛ на різних стадіях перебігу захворювання та в контрольній групі наведені в табл. 3.3.4.

Табл. 3.3.4. Середні клінічні показники досліджених хворих на ГЛЛ дітей в перший гострий період, в період ремісії та в контрольній групі. Позначення як в табл. 3.3.2.

Група	Hb (г/л)	Leu (тис./м ³)	Tr (тис./м ³)
ГЛЛ I гострий період	$79,32 \pm 2,48$	$27,19 \pm 4,68$	$90,58 \pm 8,90$
ГЛЛ ремісія	$90,43 \pm 3,78$	$3,25 \pm 0,51$	$180,44 \pm 7,43$
Контрольна група	$134,27 \pm 4,03$	$5,03 \pm 1,45$	$320,76 \pm 9,11$

Було здійснено чисельні кореляційні дослідження зв'язку феноменів ПРЦ з різними клінічними показниками хворих на ГЛЛ дітей в першому гострому періоді. Результати кореляційного аналізу наведені на рисунках нижче. Як бачимо, наявна висока кореляція між рівнем бластів в периферійній крові хворих на ГЛЛ дітей та рівнями ПРЦ в клітинах периферійної крові та червоного кісткового мозку. Для периферійної крові цей показник кореляції складає $r = 0,890$; для червоного кісткового мозку коефіцієнт кореляції складає $r = 0,896$. Все

це дозволяє припустити, що феномен ПРЦ у хворих на ГЛЛ притаманний в більшій мірі злякисним бластним клітинам, аніж нормальним лімфоцитам периферійної крові і нормальним клітинам червоного кісткового мозку.

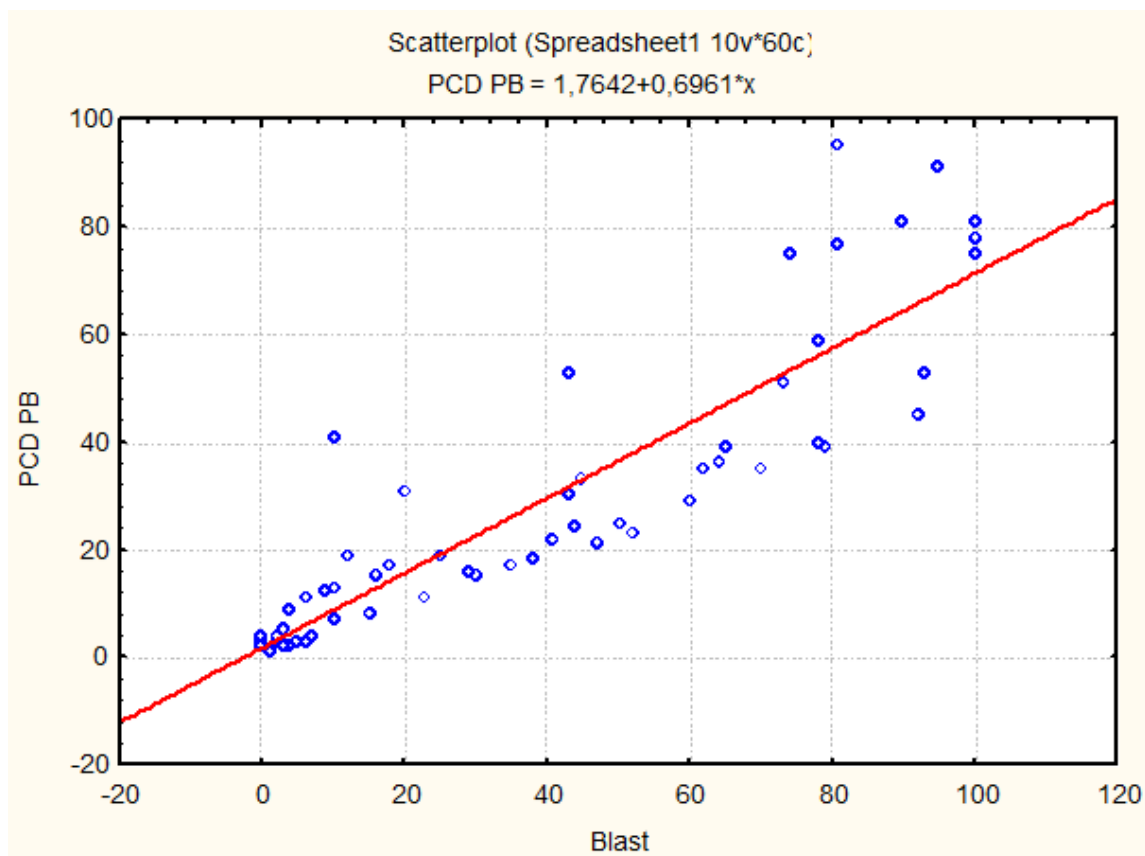


Рис. 3.3.2. Лінійна кореляція між рівнем бластів у периферійній крові та рівнем ПРЦ у периферійній крові хворих на ГЛЛ ($r = 0,890$).

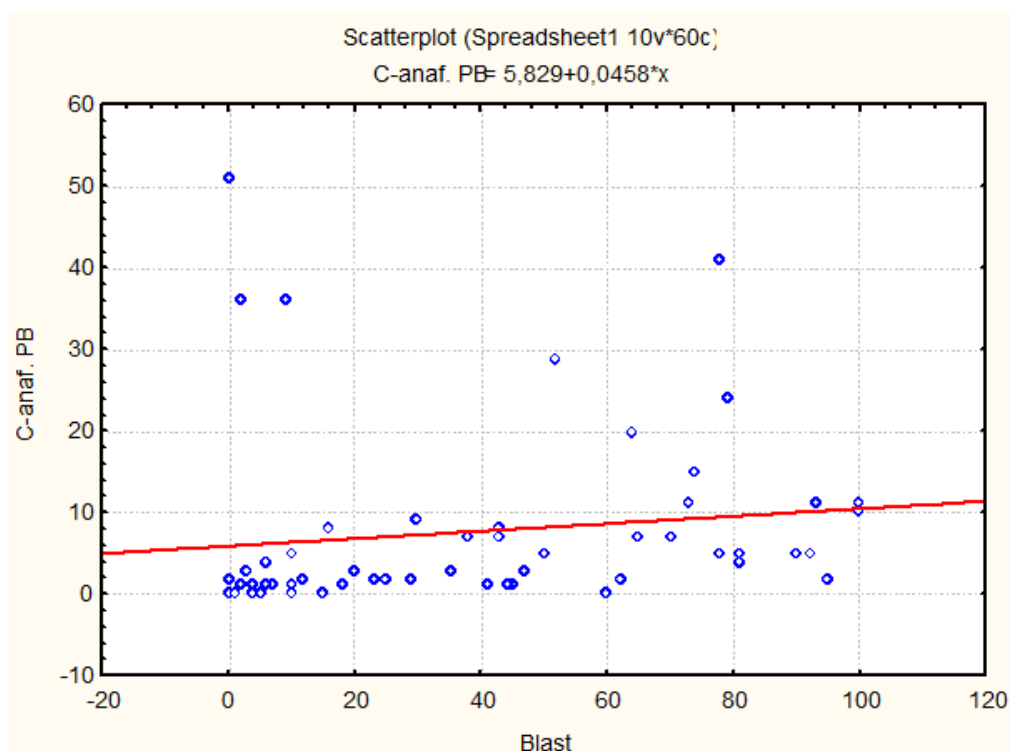


Рис. 3.3.3. Зв'язок між рівнем бластів у периферійній крові та рівнем С-анафази у периферійній крові хворих на ГЛЛ ($r = 0,139$) – кореляція відсутня.

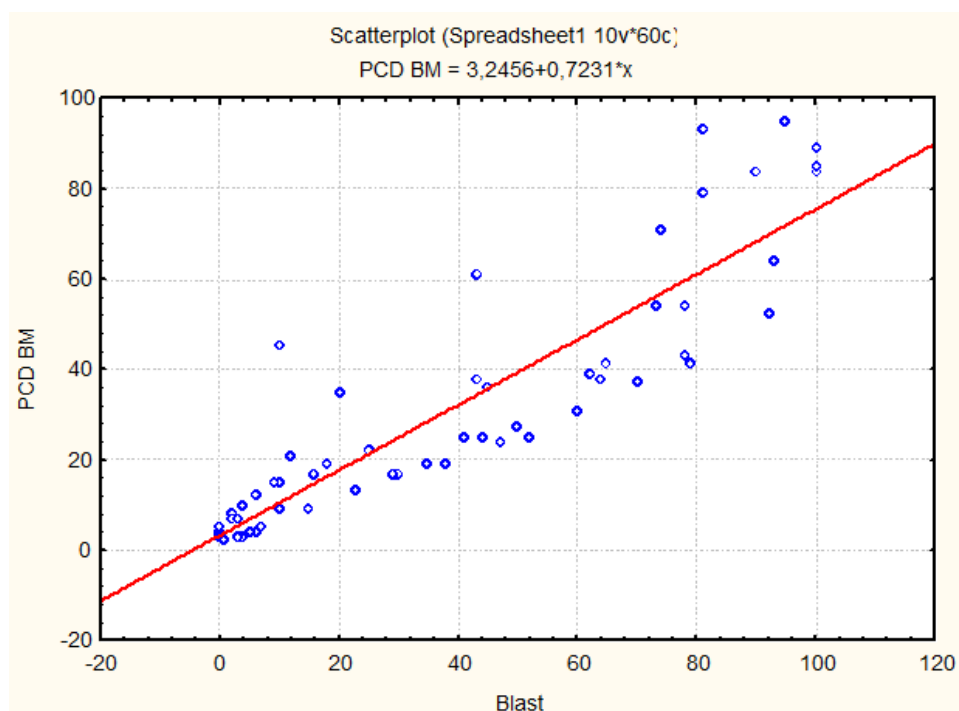


Рис. 3.3.4. Лінійна кореляція між рівнем бластів у периферійній крові та рівнем ПРЦ у кістковому мозку хворих на ГЛЛ ($r = 0,896$).

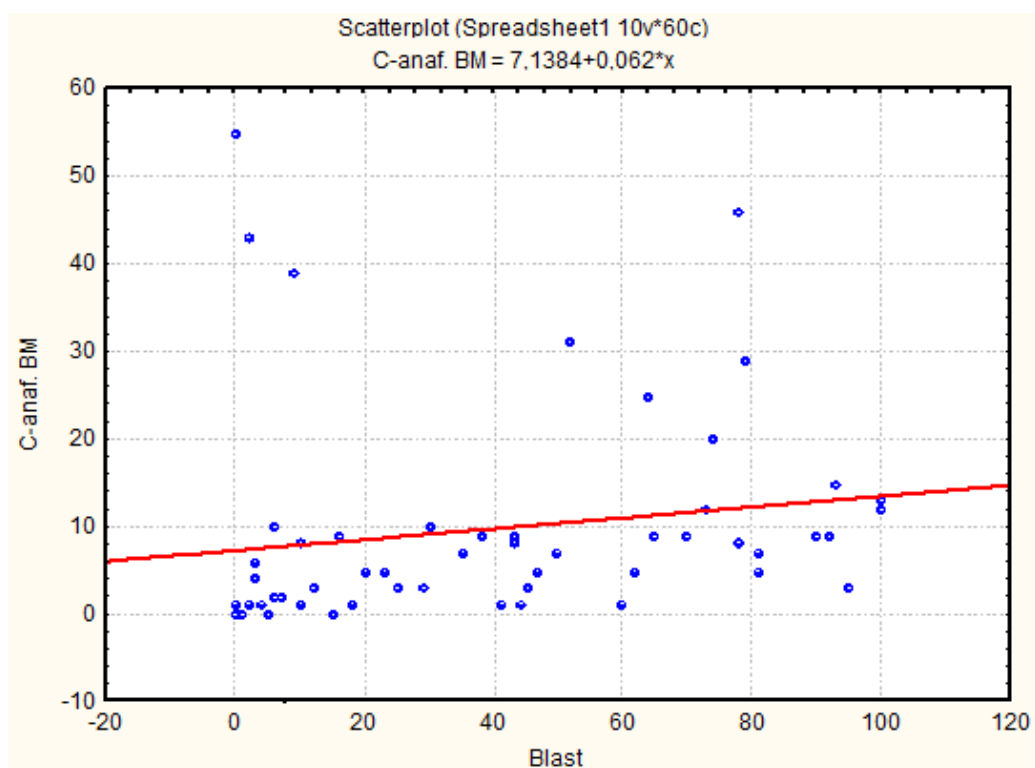


Рис. 3.3.5. Зв'язок між рівнем бластів у периферійній крові та рівнем С-анафази у кістковому мозку хворих на ГМЛ ($r = 0,171$) – кореляція відсутня.

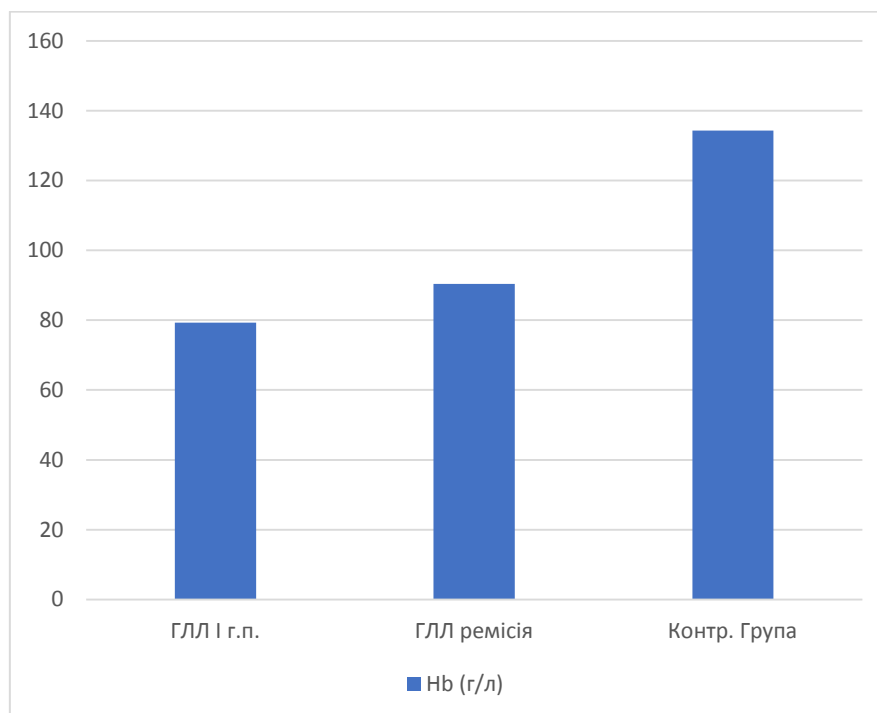


Рис. 3.3.6. Середні рівні гемоглобіну в досліджених хворих на ГЛЛ в I гострий період, в період ремісії та в контрольній групі.

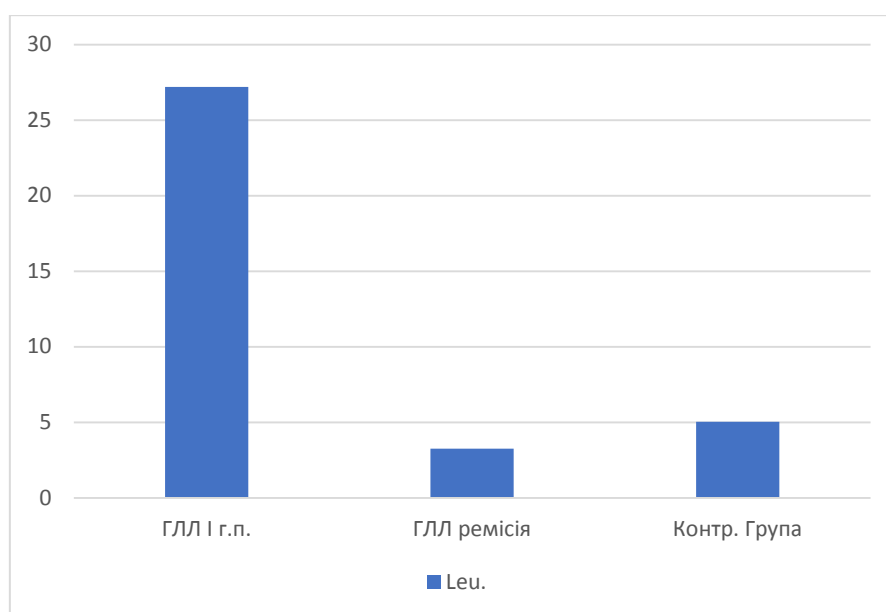


Рис. 3.3.7. Середні рівні лейкоцитів у досліджених хворих на ГЛЛ в I гострий період, в період ремісії та в контрольній групі в тис./м³.

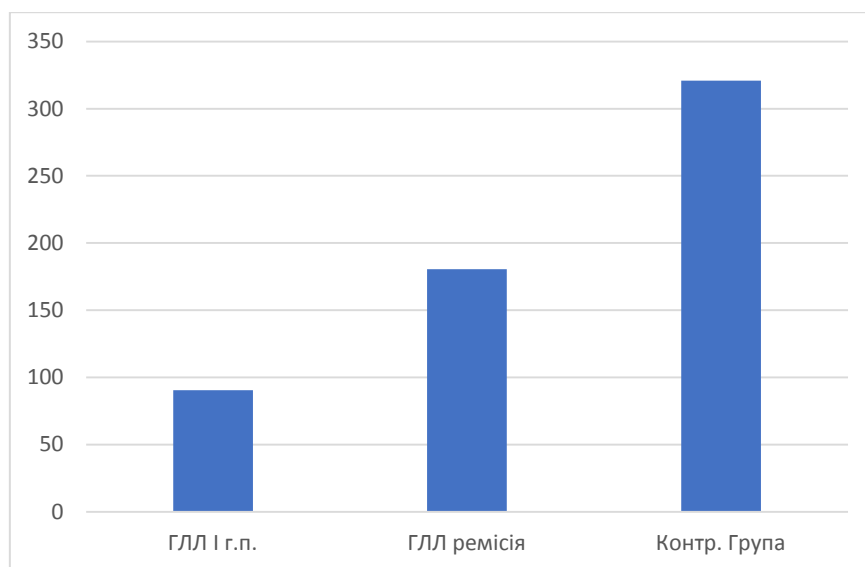


Рис. 3.3.6. Середні рівні тромбоцитів у досліджених хворих на ГЛЛ в I гострий період, в період ремісії та в контрольній групі в тис./м³.

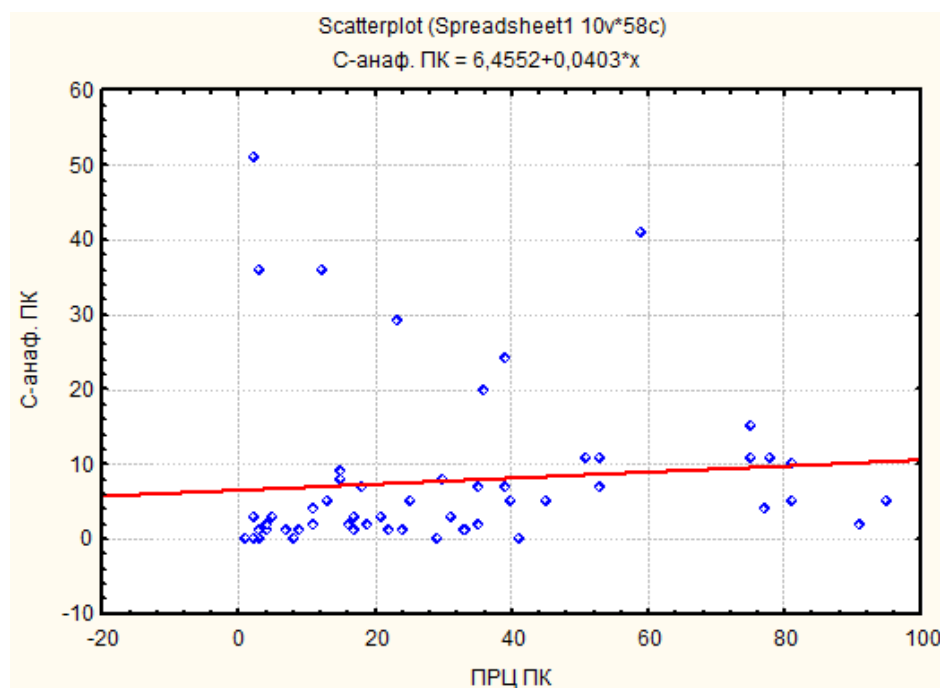


Рис. 3.3.7. Зв'язок між феноменами ПРЦ та С-анафази в периферійній крові хворих на ГЛЛ дітей в перший гострий період. Кореляція відсутня ($r = 0,096$).

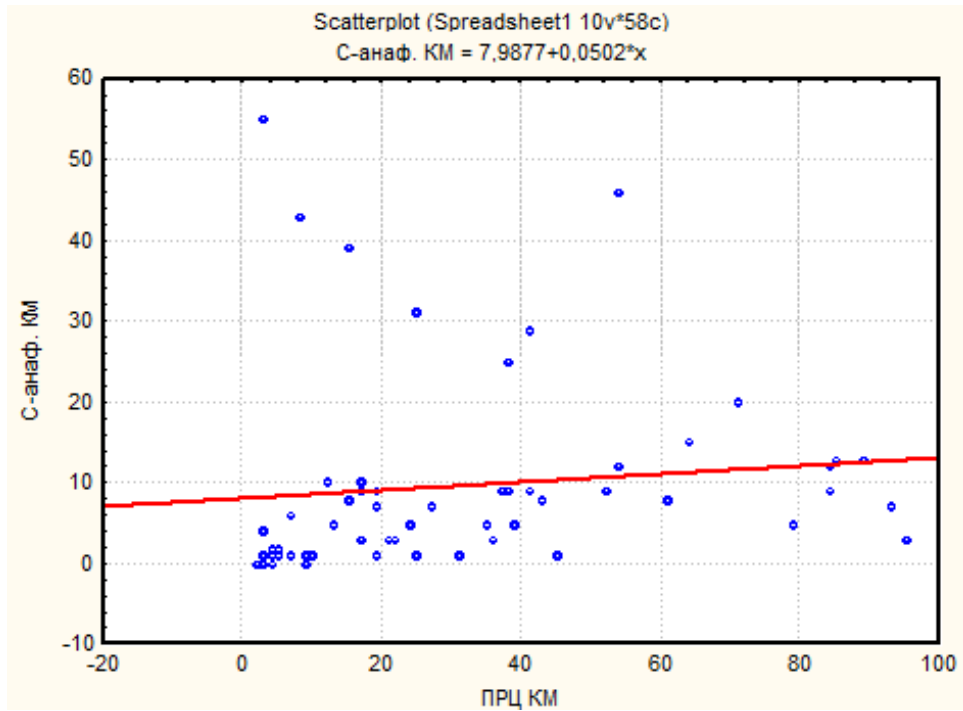


Рис. 3.3.8. Зв'язок між феноменами ПРЦ та С-анафазі в червоному кістковому мозку хворих на ГЛЛ дітей в перший гострий період. Кореляція відсутня ($r = 0,111$).

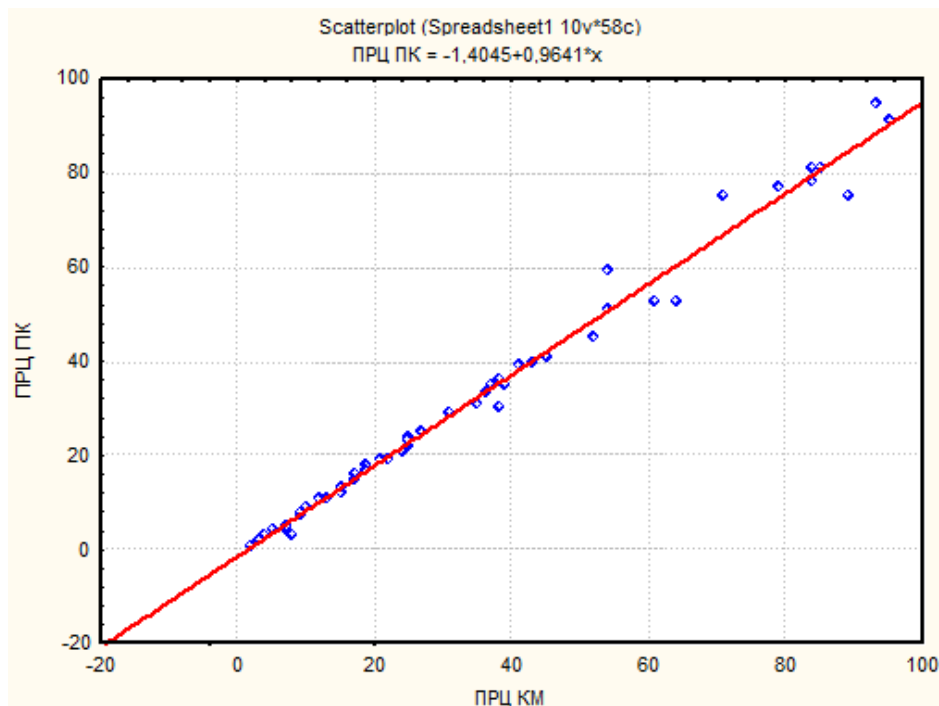


Рис. 3.3.9. Зв'язок між феноменами ПРЦ в червоному кістковому мозку та периферійній крові хворих на ГЛЛ дітей в перший гострий період ($r = 0,994$).

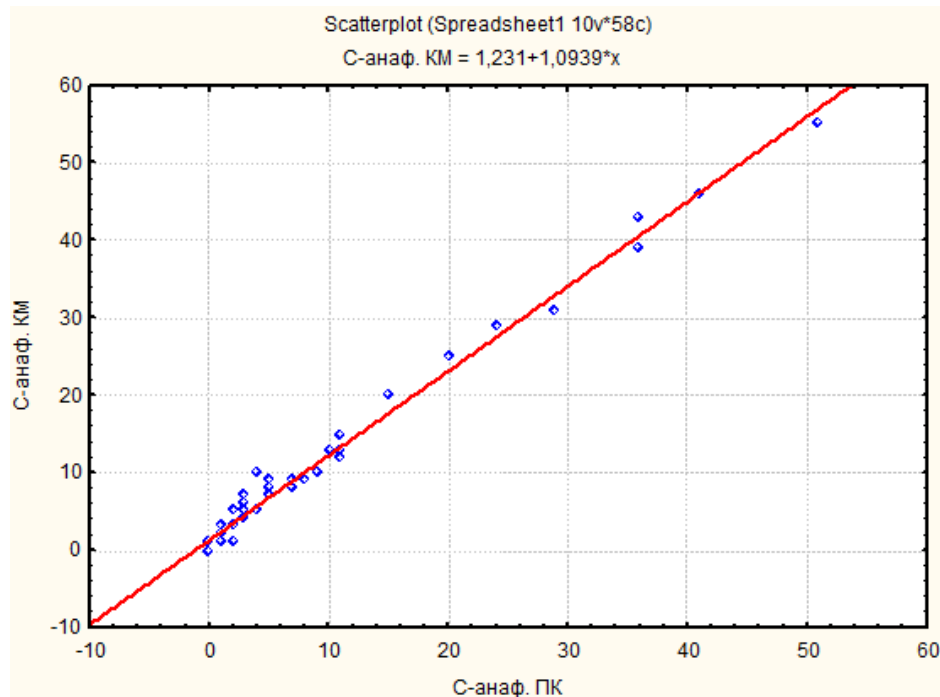


Рис. 3.3.10. Зв'язок між феноменами С-анафази в червоному кістковому мозку та периферійній крові хворих на ГЛЛ дітей в перший гострий період ($r = 0,993$).

На відміну від ПРЦ феномен С-анафази не пов'язаний з рівнем бластів у периферійній крові. Це підтверджує думку про те, що ПРЦ та С-анафаза принципово різні біологічні явища і відіграють зовсім іншу біологічну роль взагалі, і в патогенезі ГЛЛ, зокрема. Дослідження зв'язків між феноменами ПРЦ та С-анафази показало, що прояв і рівень цих феноменів не пов'язані між собою ні в кістковому мозку, ні в периферійній крові хворих на ГЛЛ дітей – кореляції відсутні (рис. 3.3.5, 3.3.6). У той же час нами було виявлено тісний зв'язок – високий рівень кореляції між феноменами ПРЦ в червоному кістковому мозку на периферійній крові хворих на ГЛЛ дітей ($r = 0,994$) та тісний зв'язок – високий рівень кореляції між феноменами С-анафази в червоному кістковому мозку та периферійній крові хворих на ГЛЛ дітей ($r = 0,993$) (рис. 3.3.7, 3.3.8). Проведено дослідження рівнів ПРЦ та С-анафази при різних формах ГЛЛ в перший гострий період – як по FAB-класифікації, так і по імунологічній класифікації. Результати досліджень наведені в таблиці 3.3.5 та на рис. 3.3.9, 3.3.10. Тут форми L2 та L3 об'єднані через малу вибірку форми L3.

Таблиця 3.3.3. Середні значення феноменів ПРЦ, С-анафази та основних клінічних параметрів при різних формах ГЛЛ в першому гострому періоді.

№ з/п	Форма ГЛЛ	Бласти в ПК (%)	ПРЦ (%)		С-анафаза (%)	
			ПК	КМ	ПК	КМ
1.	L1	40,40 ± 4,43	28,00 ± 4,89	29,80 ± 5,43	9,10 ± 1,65	11,20 ± 1,43
2.	L2	39,13 ± 5,03	29,40 ± 3,76	32,11 ± 4,85	7,32 ± 1,77	9,23 ± 0,78
3.	pre-pre-B	26,75 ± 5,67	14,00 ± 4,57	15,75 ± 5,94	2,50 ± 0,62	3,75 ± 1,76
4.	pre-B	39,41 ± 5,04	30,87 ± 4,00	33,29 ± 4,11	6,68 ± 1,43	8,54 ± 1,59
5.	B	38,00 ± 5,21	28,75 ± 4,23	33,75 ± 3,87	14,00 ± 4,34	16,50 ± 3,28
6.	T	50,00 ± 15,63	20,00 ± 5,65	22,00 ± 6,76	5,80 ± 1,52	8,40 ± 1,98

Як бачимо, щодо форм ГЛЛ по FAB-класифікації не простежується статистично достовірної відмінності по рівнях ПРЦ та С-анафази. У той же час чітко простежуються статистично достовірні відмінності між різними формами ГЛЛ за імунологічною класифікацією по рівнях ПРЦ і особливо по рівню С-анафази.

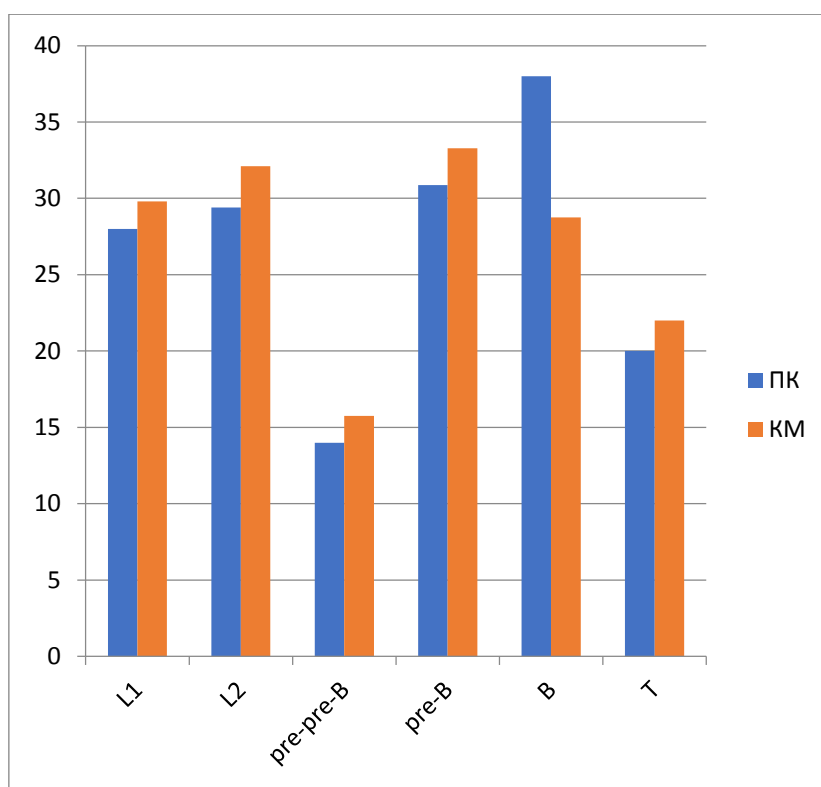


Рис. 3.3.9. Рівні феномену ПРЦ (%) в периферійній крові та кістковому мозку хворих на різні форми ГЛЛ в перший гострий період. Найвищі рівні ПРЦ спостерігалися в кістковому мозку хворих на В-ГЛЛ, та периферійній крові хворих на pre-B-ГЛЛ. Найнижчі рівні ПРЦ спостерігалися при pre-pre-B-ГЛЛ.

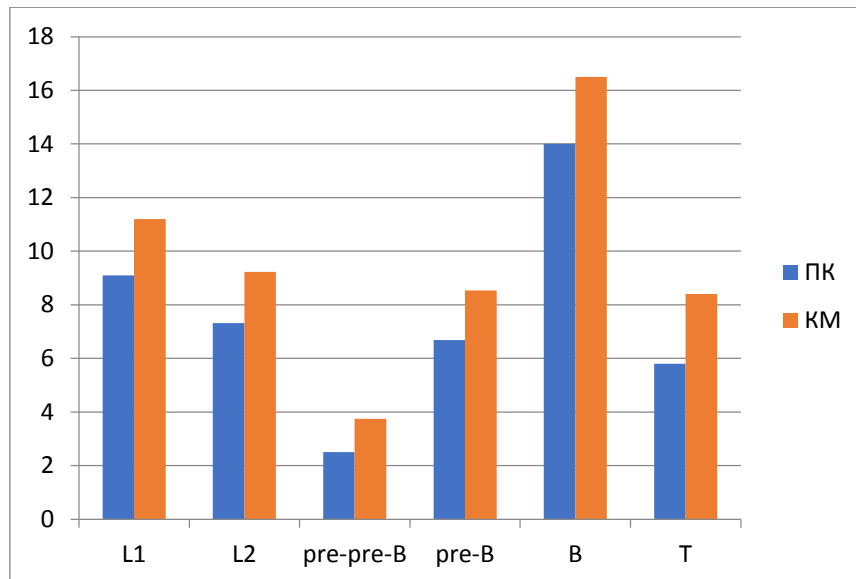


Рис. 3.3.10. Рівні феномену С-анафази (%) в периферійній крові та кістковому мозку хворих на різні форми ГЛЛ в перший гострий період. Найвищі рівні ПРЦ спостерігалися в кістковому мозку та периферійній крові хворих на В-ГЛЛ. Найнижчі рівні ПРЦ спостерігалися при pre-pre-B-ГЛЛ.

Це дозволяє пропонувати визначення ПРЦ та С-анафази як додатковий критерій не тільки діагностики ГЛЛ, але і діагностики імунологічних форм ГЛЛ, що мають різний перебіг захворювання. Не виключено, що при різних формах ГЛЛ задіяні різні молекулярні механізми, що впливають на поведінку центромери. Хоча, в наших дослідженнях вибірка Т- та В-форм ГЛЛ мала і тут потрібні додаткові дослідження.

Були проведені дослідження зв'язку феноменів ПРЦ та С-анафази з нестабільністю геному. Для цього було досліджено зв'язок рівня ПРЦ та С-анафази з частотою появи анеуплоїдних та поліплоїдних клонів клітин, що фіксувалися у досліджених хворих на ГЛЛ. Результати досліджень представлені в таблиці 3.3.6.

Таблиця 3.3.6.

Рівень поліплоїдних (Пол.) та анеуплоїдних (Ан.) клонів у периферійній крові досліджених хворих на ГЛЛ дітей.

Таблиця

№ з/п	Хворий	Форма ГЛЛ	Бласти в ПК (%)	ПРЦ в ПК (%)	Анеупл. (%)	Поліплоїд. (%)
1	БС ♂	pre-pre-B	60	29	4	3
2	МЛ ♀	T	41	22	3	2
3	НВ ♂	pre-B	12	19	5	1
4	ЧО ♀	pre-B	10	13	4	0
5	ГВ ♂	pre-B	16	15	2	1
6	КЛ ♀	B	7	4	0	0
7	ЗВ ♂	pre-B	25	19	3	2
8	ШС ♂	pre-B	93	53	48	7
9	ПМ ♀	pre-B	4	9	1	2
10	ХМ ♀	pre-B	0	3	0	0
11	КК ♂	pre-B	62	35	10	3
12	МК ♀	pre-B	45	33	9	4
13	АП ♂	B	43	30	10	3
14	СО ♀	pre-B	6	3	0	0
15	СН ♀	pre-B	10	41	12	5
16	НЮ ♂	pre-B	18	17	6	2
17	СС ♀	pre-B	64	36	11	4
18	ГХ ♀	pre-B	79	39	15	5
19	ІР ♂	pre-B	30	15	4	1
20	ГЛ ♀	T	38	18	5	2
21	ХА ♂	pre-B	29	16	4	3
22	БВ ♂	pre-B	92	45	17	5
23	ВО ♂	pre-B	5	3	0	0
24	ММ ♀	pre-B	4	2	0	0

25	ДА ♂	pre-B	20	31	0	2
26	ФО ♂	pre-B	50	25	9	2
27	ГР ♂	pre-B	0	2	0	0
28	КО ♂	pre-B	10	7	4	1
29	ТБ ♂	pre-B	78	40	19	3
30	КТ ♀	pre-pre-B	47	21	7	2
31	ЧР ♂	pre-B	44	24	8	3
32	КЕ ♂	pre-B	15	8	3	1
33	ЛУ ♀	pre-B	100	75	51	9
34	ПО ♀	pre-B	9	12	3	2
35	КМ ♂	pre-B	43	53	19	6
36	ЧМ ♂	B	2	3	0	0
37	СТ ♂	pre-B	2	4	0	0
38	БЛ ♀	pre-B	78	59	25	7
39	КН ♀	pre-B	73	51	18	5
40	СН ♀	pre-B	23	11	3	1
41	ЗМ ♂	pre-B	35	17	5	2
42	СО ♂	pre-pre-B	0	2	0	0
43	ШМ ♀	pre-B	3	5	0	0
44	ЛЛ ♀	pre-B	70	35	17	5
45	РД ♂	pre-B	6	11	4	1
46	ПР ♀	pre-pre-B	0	4	1	0
47	РГ ♀	pre-B	3	2	0	0
48	ІС ♀	B	100	78	58	11
49	ГГ ♂	pre-B	100	81	69	13
50	ЛО ♂	pre-B	65	39	14	4
51	БХ ♀	pre-B	74	75	31	8
52	БА ♂	pre-B	81	95	10	11
53	ПЮ ♂	pre-B	52	23	7	0
54	ДА ♂	pre-B	1	1	0	0
55	ТТ ♂	pre-B	95	91	28	14
56	ГА ♂	pre-B	81	77	34	12
57	БЗ ♀	pre-B	90	81	55	16
Ср.			39,35	29,16	11,56	3,44

Std. Err.	± 4,45	± 3,48	±2,09	±0,51
-----------	--------	--------	-------	-------

Дослідження кореляції між рівнем ПРЦ у клітинах периферійної крові та частотою анеуплоїдних та поліплоїдних клонів клітин у периферійній крові хворих на ГЛЛ дітей показало високий рівень кореляції між цими показниками (для ПРЦ та анеуплоїдії $r = 0,832$; для ПРЦ та поліплоїдії $r = 0,955$) (рис. 3.3.11 – 3.3.14.).

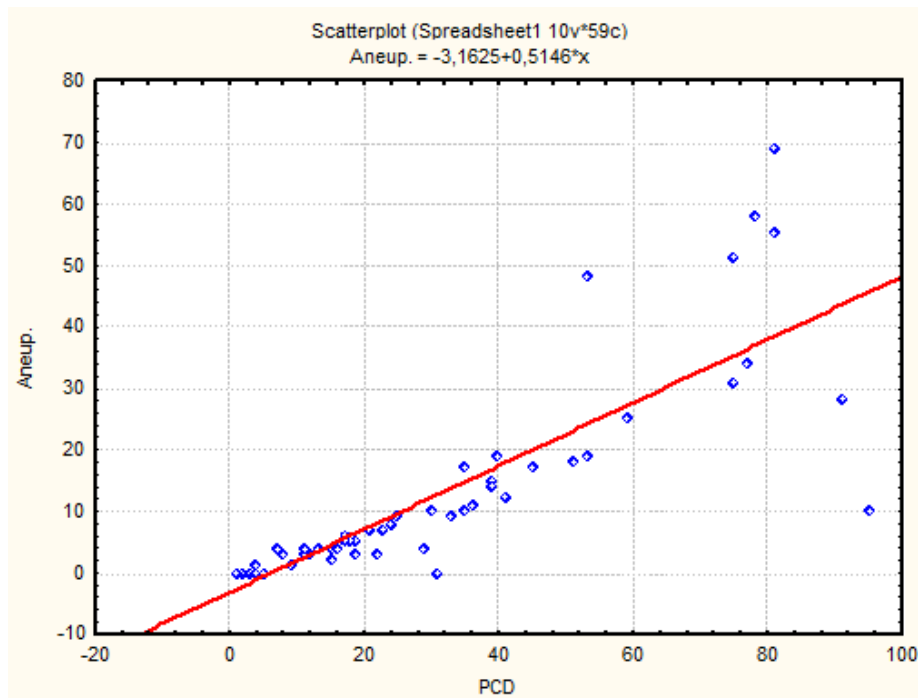


Рис. 3.3.11. Лінійна кореляція між частотою ПРЦ в клітинах периферійної крові хворих на ГЛЛ та частотою анеуплоїдних клітин в периферійній крові ($r = 0,832$).

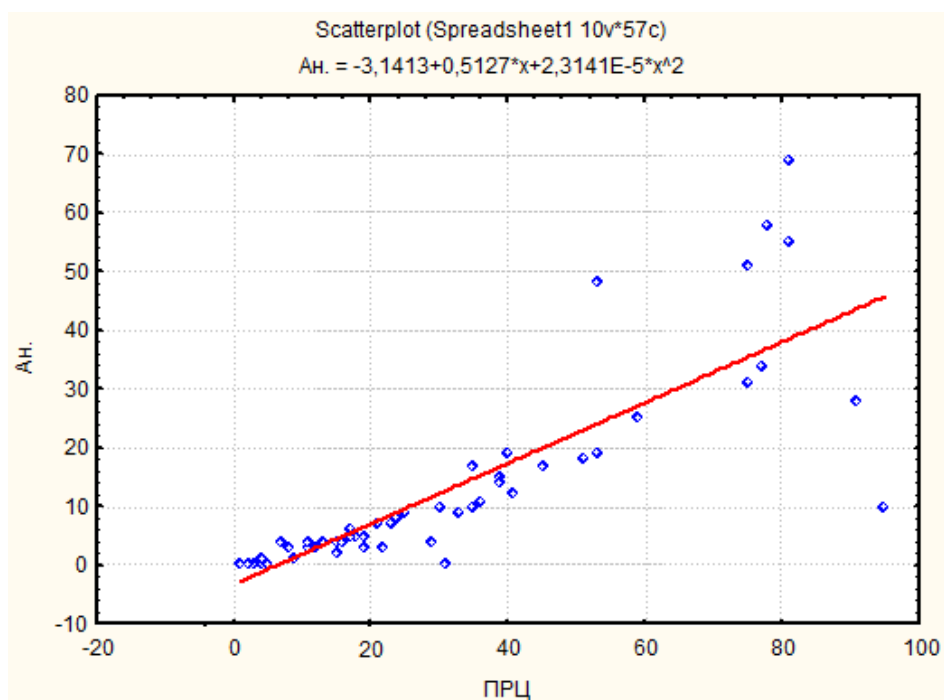


Рис. 3.3.12. Нелінійна (поліномінальна) кореляція між частотою ПРЦ в клітинах периферійної крові хворих на ГЛЛ та частотою анеуплоїдних клітин в периферійній крові.

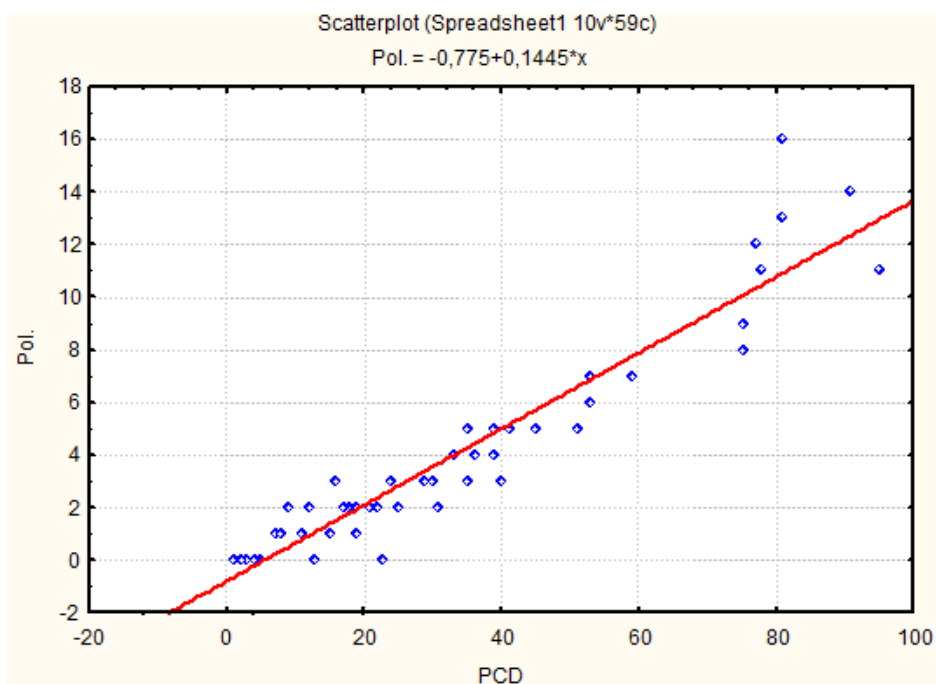


Рис. 3.3.13. Лінійна кореляція між частотою ПРЦ в клітинах периферійної крові хворих на ГЛЛ та частотою поліплоїдних клітин в периферійній крові ($r = 0,955$).

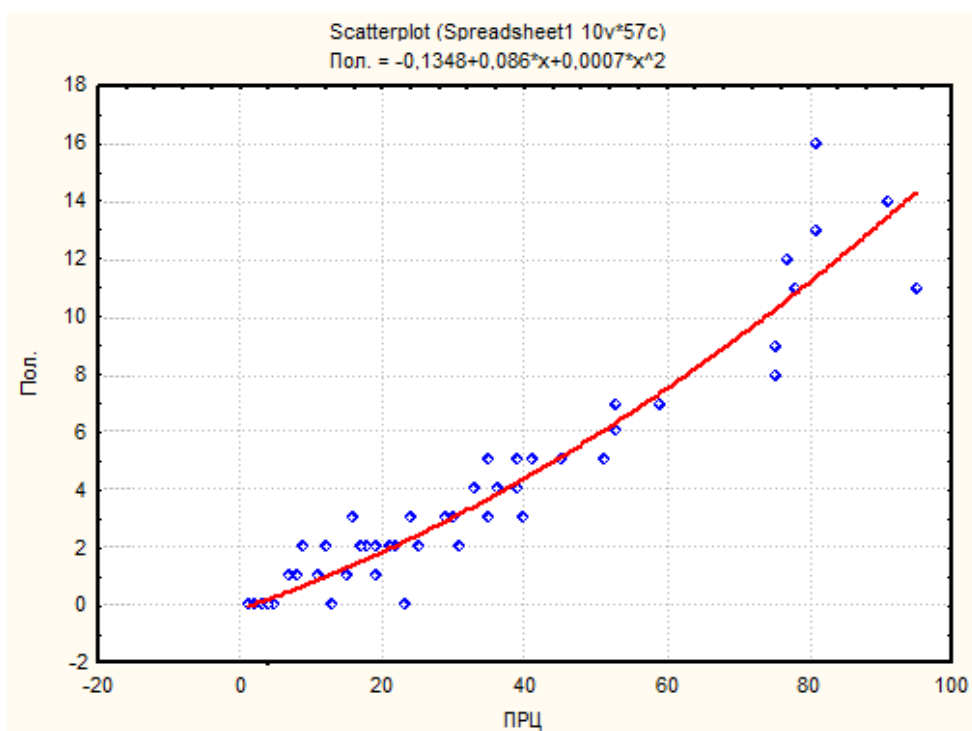


Рис. 3.3.14. Нелінійна (поліномінальна) кореляція між частотою ПРЦ в клітинах периферійної крові хворих на ГЛЛ та частотою поліплоїдних клітин в периферійній крові ($r = 0,955$).

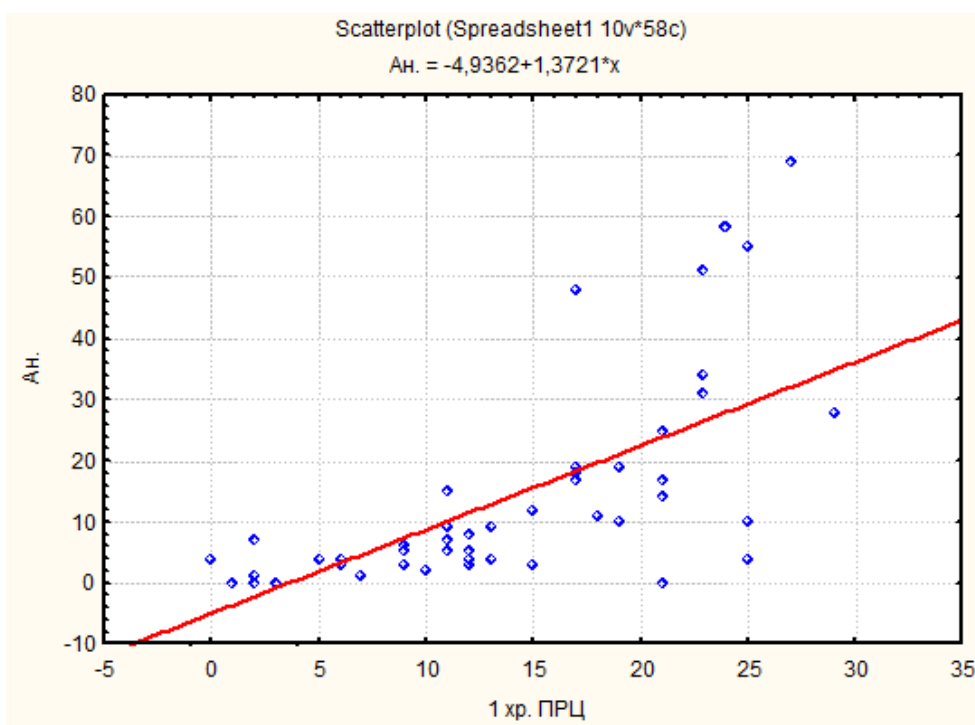


Рис. 3.3.15. Лінійна кореляція між однохромосомною ПРЦ (%) і рівнем анеуплоїдії клітин периферійної крові хворих на ГЛЛ дітей ($r = 0,704$).

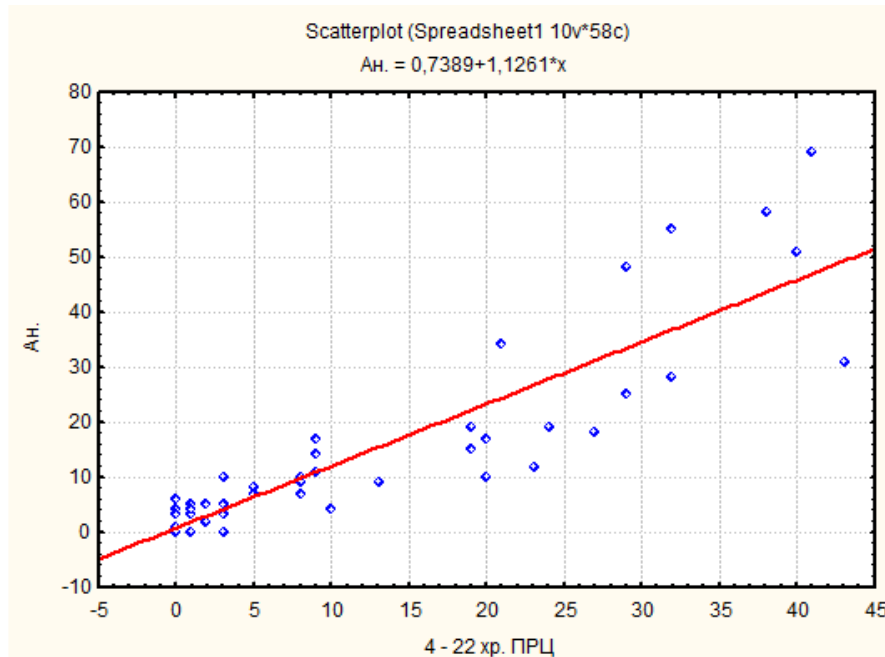


Рис. 3.3.16. Лінійна кореляція між 4-22 хромосомною ПРЦ (%) і рівнем анеуплоїдії клітин периферійної крові хворих на ГЛЛ дітей ($r = 0,896$).

Як бачимо, нелінійна кореляція близька за своїми показниками до лінійної.

Отримані результати дозволяють стверджувати, що феномен ПРЦ може бути однією з причин виникнення нестабільності геному при патогенезі ГЛЛ і як наслідок – причиною виникнення анеуплоїдних і поліплоїдних клонів при ГЛЛ, що іноді є більш злоякісні, аніж диплоїдні мутантні клони.

Було проведено дослідження не тільки частоти ПРЦ у хворих на ГЛЛ, але і рівень ПРЦ окремих груп хромосом в клітинах периферійної крові хворих на ГЛЛ. Ці дані наведені в табл. 3.3.6. та на рис. 3.3.7.

Таблиця 3.3.6.

Передчасне розділення центромер хромосом різних груп у хворих на ГЛЛ дітей.
Показане число випадків ГЛЛ хромосом різних груп на 100 досліджених клітин.

№ з/п	Хворий	ПРЦ в ПК (%)	A	B	C	D	E	F	G
1	БС ♂	29	4	1	9	2	11	0	4
2	МЛ ♀	22	3	0	7	0	4	4	5
3	НВ ♂	19	3	1	7	0	4	1	5
4	ЧО ♀	13	3	2	2	0	4	3	3
5	ГВ ♂	15	3	2	3	0	1	1	5
6	КЛ ♀	4	0	0	1	0	1	1	1
7	ЗВ ♂	19	4	1	5	1	2	4	3
8	ШС ♂	53	7	1	26	1	1	3	11
9	ПМ ♀	9	2	0	3	0	1	1	3
10	ХМ ♀	3	1	0	0	0	0	0	3
11	КК ♂	35	1	0	21	2	7	4	9
12	МК ♀	33	5	3	5	2	5	8	6
13	АП ♂	30	1	0	9	1	1	1	5
14	СО ♀	3	1	0	1	0	0	1	1
15	СН ♀	41	5	1	11	1	5	4	15
16	НЮ ♂	17	0	2	2	2	13	2	1
17	СС ♀	36	9	4	17	0	12	0	5
18	ГХ ♀	39	0	0	33	3	14	3	2
19	ІР ♂	15	0	2	5	1	1	0	3
20	ГЛ ♀	18	0	0	5	1	1	1	2
21	ХА ♂	16	5	0	7	0	0	0	8
22	БВ ♂	45	0	3	17	2	16	2	3
23	ВО ♂	3	0	0	1	0	0	0	3
24	ММ ♀	2	0	0	0	0	0	0	2
25	ДА ♂	31	5	1	14	1	21	2	6
26	ФО ♂	25	3	0	15	0	5	0	7

27	ГР ♂	2	0	0	0	0	0	0	2
28	КО ♂	7	3	0	6	0	0	0	3
29	ТБ ♂	40	11	1	7	1	5	1	15
30	КТ ♀	21	7	0	5	0	1	0	9
31	ЧР ♂	24	7	0	17	0	13	3	2
32	КЕ ♂	8	0	0	5	0	4	0	3
33	ЛУ ♀	75	1	2	23	0	17	3	5
34	ПО ♀	12	2	3	27	0	28	7	5
35	КМ ♂	53	9	0	51	0	27	6	6
36	ЧМ ♂	3	1	0	0	0	0	0	3
37	СТ ♂	4	1	1	4	0	3	0	2
38	БЛ ♀	59	7	15	64	0	28	5	13
39	КН ♀	51	8	2	35	0	13	2	11
40	СН ♀	11	2	0	3	0	2	0	7
41	ЗМ ♂	17	3	0	5	0	3	0	11
42	СО ♂	2	1	0	0	0	0	0	1
43	ШМ ♀	5	3	0	5	0	1	0	0
44	ЛЛ ♀	35	11	0	7	0	5	0	12
45	РД ♂	11	5	0	11	0	7	1	4
46	ПР ♀	4	0	0	2	0	0	0	3
47	РГ ♀	2	0	0	0	0	0	0	2
48	ІС ♀	78	13	1	17	1	5	1	32
49	ГГ ♂	81	15	3	27	2	17	2	19
50	ЛО ♂	39	11	0	17	0	10	0	12
51	БХ ♀	75	5	0	15	0	25	2	3
52	БА ♂	95	14	11	25	7	29	4	18
53	ПЮ ♂	23	5	2	15	1	21	5	8
54	ДА ♂	1	0	0	0	0	0	0	1
55	ТТ ♂	91	13	9	72	6	73	0	0
56	ГА ♂	77	2	4	46	0	46	5	21
57	БЗ ♀	81	0	0	51	0	32	0	23
Сер.			3,81	1,32	13,6	0,64	9,36	1,58	6,71
Std. Err.			±0,5	±0,4	±2,2	±0,21	±1,2	±0,26	±0,82

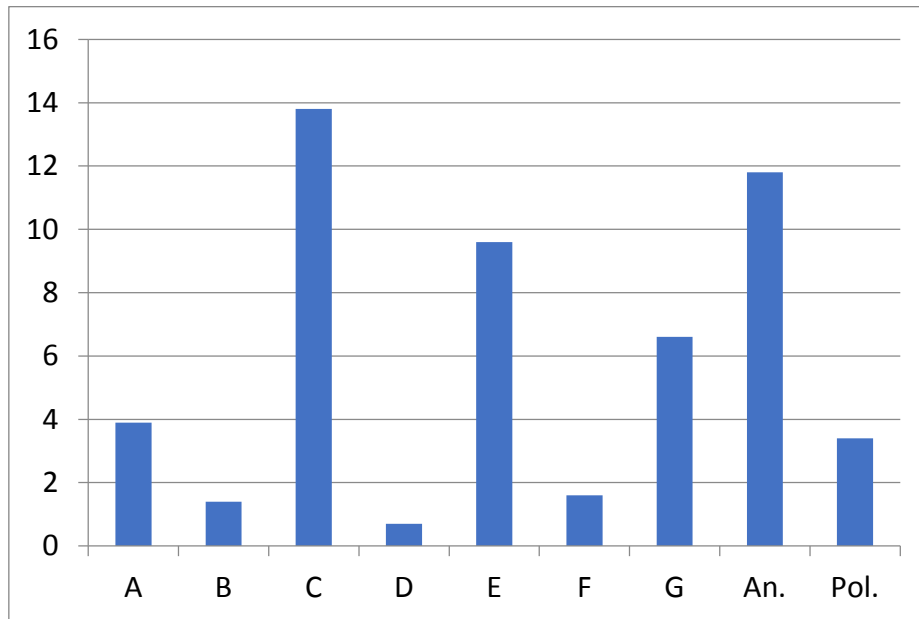


Рис. 3.3.17. Рівні ПРЦ окремих груп хромосом (показано число виявлених випадків ПРЦ хромосом різних груп на 100 клітин). Рівні анеуплоїдії та поліплоїдії (%) в периферійній крові хворих на ГЛЛ дітей.

Як бачимо з діаграми, найчастіше під феномен ПРЦ при ГЛЛ у дітей підпадають хромосоми груп С, Е та G. Найрідше підпадають під ПРЦ при ГЛЛ хромосоми групи D.

Був досліджений не тільки загальний рівень та рівень ПРЦ різних груп хромосом, але і частоти феномену ПРЦ, в який була задіяна різна кількість хромосом. Щодо цього випадки феномену ПРЦ розділили на наступні групи:

1. ПРЦ однієї хромосоми.
2. ПРЦ двох хромосом.
3. ПРЦ трьох хромосом.
4. ПРЦ від 4 до 22 хромосом.

Дані цих досліджень представлені в табл. 3.3.7. і відображені на рис. 3.3.16.

Таблиця 3.3.7.

Частоти феномену ПРЦ з участю різної кількості хромосом клітин периферійної крові хворих на ГЛЛ.

№ з/п	Хворий	ПРЦ в ПК (%)	С-анаф. в ПК (%)	1 хр. (%)	2 хр. (%)	3 хр. (%)	4-22 хр. (%)
1	БС ♂	29	0	25	3	1	0
2	МЛ ♀	22	1	15	4	2	1
3	НВ ♂	19	2	12	3	3	1
4	ЧО ♀	13	5	0	0	3	10
5	ГВ ♂	15	8	10	2	1	2
6	КЛ ♀	4	1	3	1	0	0
7	ЗВ ♂	19	2	12	3	1	3
8	ШС ♂	53	11	17	4	3	29
9	ПМ ♀	9	1	7	2	0	0
10	ХМ ♀	3	0	3	0	0	0
11	КК ♂	35	2	19	5	3	8
12	МК ♀	33	1	11	7	2	13
13	АП ♂	30	8	19	5	3	3
14	СО ♀	3	1	2	1	0	0
15	СН ♀	41	0	15	2	1	23
16	НЮ ♂	17	1	9	6	2	0
17	СС ♀	36	20	18	8	1	9
18	ГХ ♀	39	24	11	3	6	19
19	ІР ♂	15	9	13	2	0	0
20	ГЛ ♀	18	7	9	3	3	3
21	ХА ♂	16	2	12	2	1	1
22	БВ ♂	45	5	17	3	5	20
23	ВО ♂	3	0	3	0	0	0
24	ММ ♀	2	0	1	1	0	0
25	ДА ♂	31	3	21	5	2	3
26	ФО ♂	25	5	13	3	1	8

27	ГР ♂	2	0	1	1	0	0
28	КО ♂	7	1	6	1	0	0
29	ТБ ♂	40	5	17	2	2	19
30	КТ ♀	21	3	11	3	2	5
31	ЧР ♂	24	1	12	5	2	5
32	КЕ ♂	8	0	6	2	0	0
33	ЛУ ♀	75	11	23	7	5	40
34	ПО ♀	12	36	9	3	0	0
35	КМ ♂	53	7	19	7	3	24
36	ЧМ ♂	3	36	1	1	1	0
37	СТ ♂	4	1	2	1	1	1
38	БЛ ♀	59	41	21	5	4	29
39	КН ♀	51	11	17	4	3	27
40	СН ♀	11	2	9	1	1	0
41	ЗМ ♂	17	3	11	3	1	2
42	СО ♂	2	51	2	0	0	0
43	ШМ ♀	5	3	3	2	1	0
44	ЛЛ ♀	35	7	21	5	0	9
45	РД ♂	11	4	5	4	1	1
46	ПР ♀	4	2	2	1	1	0
47	РГ ♀	2	3	2	0	0	0
48	ІС ♀	78	11	24	9	7	38
49	ГГ ♂	81	10	27	10	3	41
50	ЛО ♂	39	7	21	5	4	9
51	БХ ♀	75	15	23	6	3	43
52	БА ♂	95	5	25	15	35	20
53	ПЮ ♂	23	29	2	11	2	8
54	ДА ♂	1	0	1	0	0	0
55	ТТ ♂	91	2	29	21	9	32
56	ГА ♂	77	4	23	11	12	21
57	БЗ ♀	81	5	25	13	11	32
Сер.		29,16	7,63	12,23	4,16	2,77	9,86
Std. Err.		± 3,48	± 1,50	± 1,10	± 0,54	± 0,67	± 1,71

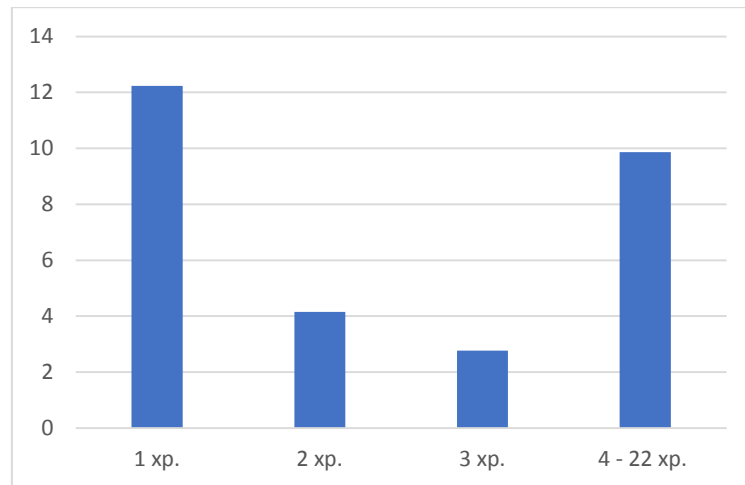


Рис. 3.3.18. Частоти ПРЦ із залученням у феномен різного числа хромосом у периферійній крові хворих на ГЛЛ дітей.

Як бачимо, при ГЛЛ в клітинах периферійної крові найбільш висока форма ПРЦ та, що охоплює всього одну хромосому. Форми ПРЦ, що охоплюють дві або три хромосоми трапляються значно рідше. Простежується висока позитивна кореляція між загальною частотою ПРЦ (а значить і бластозом) і частотою ПРЦ, що охоплює від 4 до 22 хромосом. При низькому рівні ПРЦ ця форма ПРЦ іноді не трапляється взагалі. Щодо інших форм ПРЦ (що охоплюють 1, 2, 3 хромосоми), то така кореляція менш очевидна (для однохромосомної ПРЦ кореляція з загальним рівнем ПРЦ $r = 0,887$).

Крім хворих на ГЛЛ дітей на різних стадіях перебігу захворювання було здійснено комплексний цитогенетичний аналіз 20 батьків хворих на ГЛЛ. Дані по цьому контингенту людей були отримані суперечливі. Коли забір крові проводився в день госпіталізації дитини, то в цих людей був відмічений підвищений рівень ПРЦ та С-анафази, хоча і значно нижчий, ніж у хворих людей в період бластної кризи. Коли ж забір крові у цих же людей проводився значно пізніше, то показники були близькі до значень рівня ПРЦ та С-анафази в контрольній групі. Це навело на думку, що підвищені рівні ПРЦ та С-анафази могли виникнути внаслідок стресу, а не в результаті наявності якоїсь спадкової патології. Але загалом, це потребує додаткових досліджень.

Окремо слід сказати і про культури клітин периферійної крові, що вирощувались без ФГА. В окремих випадках вдавалось отримувати хромосомні препарати з таких культур. І в кожному випадку відмічався 100 % рівень ПРЦ в таких культурах клітин. У пацієнтів з тотальним бластозом (рівень бластів в периферійній крові становив 100%) рівень ПРЦ + С-анафази сумарно складав 88 – 100 %, що теж підтверджувало думку, що ці феномени в більш степені притаманні бластним клітинам при ГЛЛ, аніж нормальним клітинам крові – як в периферійній крові так і в червоному кістковому мозку.

Було проведено дослідження прогностичного значення ПРЦ та С-анафази при ГЛЛ. Для цього аналізувалися три групи хворих з 57 досліджених хворих на ГЛЛ дітей в перший гострий період:

1. Хворі з високою летальністю, що померли не досягнувши ремісії.
2. Хворі, що померли внаслідок рецидиву захворювання після короткочасної ремісії.
3. Хворі, що досягли тривалої ремісії.

У результаті проведених досліджень було виявлено статистично достовірні відмінності щодо рівня С-анафази у цих трьох групах хворих. Результати наведені в таблицях 3.3.8 – 3.3.11 та на рис. 3.3.18.

Таблиця 3.3.8. Значення рівнів ПРЦ та С-анафази у хворих на ГЛЛ дітей з високою летальністю, що не досягли ремісії після стандартного лікування.

№ з/п	Хворий, стать	Форма ГЛЛ		Части ПК (%)	ПРЦ (%)		С-анафаза (%)	
		Імун.	FAB		К	М	ПК	КМ
1	БС ♂	pre-pre-B	L2	60	29	31	0	1
2	МЛ ♀	T	L2	41	22	25	1	1
3	КЛ ♀	B	L2	7	4	5	1	2
4	ПМ ♀	pre-B	L1	4	9	10	1	1
5	СН ♀	pre-B	L2	10	41	45	0	1
6	НЮ ♂	pre-B	L1	18	17	19	1	1
7	ВО ♂	pre-B	L2	5	3	4	0	0
8	ММ ♀	pre-B	L1	4	2	3	0	1
9	ЧР ♂	pre-B	L2	44	24	25	1	1

10	ТТ ♂	pre-B	L3	95	91	95	2	3
11	ГА ♂	pre-B	L1	81	77	79	4	5
Сер.				33,54	29,00	31,00	1,00	1,54
Std. Err.				± 9,98	± 9,02	± 9,26	± 0,36	± 0,41

Таблиця 3.3.9.

Значення рівнів ПРЦ та С-анафази у хворих на ГЛЛ дітей, що померли внаслідок швидкого рецидиву (рецидивів), після стандартного лікування.

№ з/п	Хворий, стать	Форма ГЛЛ		Інтенсивність в ПК (%)	ПРЦ (%)		С-анафаза (%)	
		Імун.	FAB		ПК	М	ІК	КМ
1	НВ ♂	pre-B	L1	12	19	21	2	3
2	КК ♂	pre-B	L1	62	35	39	2	5
3	МК ♀	pre-B	L1	45	33	36	1	3
4	СО ♀	pre-B	L2	6	3	4	1	2
5	ХА ♂	pre-B	L2	29	16	17	2	3
6	ДА ♂	pre-B	L2	20	31	35	3	5
7	КО ♂	pre-B	L2	10	7	9	1	1
8	КТ ♀	pre-pre-B	L2	47	21	24	3	5
9	ГГ ♂	T	L2	100	81	85	10	13
10	ЛО ♂	T	L1	65	39	41	7	9
Сер.				39,60	28,50	31,10	3,2	4,9
Std. Err.				± 9,51	± 6,95	± 7,21	± 0,94	± 1,14

Таблиця 3.3.9.

Значення рівнів ПРЦ та С-анафази у хворих на ГЛЛ дітей, що досягли тривалої ремісії після стандартного лікування.

№ з/п	Хворий, стать	Форма ГЛЛ		Бласти в ПК (%)	ПРЦ (%)		С-анафаза (%)	
		Імун.	FAB		ПК	КМ	ПК	КМ
1	ЧО ♀	pre-B	L1	10	13	15	5	8
2	ГВ ♂	pre-B	L2	16	15	17	8	9
3	ПС ♂	pre-B	L2	93	53	64	11	15
4	КМ ♀	pre-B	L2	0	3	4	0	1
5	АП ♂	B	L2	43	30	38	8	9
6	СС ♀	pre-B	L1	64	36	38	20	25
7	ГХ ♀	pre-B	L2	79	39	41	24	29
8	ІР ♂	pre-B	L1	30	15	17	9	10
9	ГЛ ♀	T	L1	38	18	19	7	9
10	БВ ♂	pre-B	L2	92	45	52	5	9
11	ФО ♂	pre-B	L1	50	25	27	5	7
12	ГР ♂	pre-B	L2	0	2	3	0	0
13	ТБ ♂	pre-B	L1	78	40	43	5	8
14	КЕ ♂	pre-B	L2	15	8	9	0	0
15	ЛУ ♀	pre-B	L2	100	75	89	13	11
16	ПО ♀	pre-B	L2	9	12	15	36	39
17	КМ ♂	pre-B	L2	43	53	61	7	8
18	НМ ♂	B	L2	2	3	8	36	43
19	СТ ♂	pre-B	L1	2	4	7	1	1
20	БЛ ♀	pre-B	L1	78	59	54	41	46
21	КН ♀	pre-B	L1	73	51	54	11	12
22	СН ♀	pre-B	L2	23	11	13	2	5
23	ЗМ ♂	pre-B	L2	35	17	19	3	7
24	СО ♂	pre-pre-B	L2	0	2	3	51	55
25	ІМ ♀	pre-B	L1	3	5	7	3	6
26	ЛЛ ♀	pre-B	L1	70	35	37	7	9
27	РД ♂	T	L2	6	11	12	4	10
28	ІР ♀	pre-pre-B	L1	0	4	5	2	1
29	РГ ♀	pre-B	L2	3	2	3	3	4
30	ІС ♀	B	L2	100	78	84	11	12
31	БХ ♀	pre-B	L3	74	75	71	15	20
32	БА ♂	pre-B	L1	81	95	93	5	7

33	ПО ♂	pre-B	L3	52	23	25	29	31
34	ДА ♂	pre-B	L2	1	1	2	0	0
35	ЗВ ♂	pre-B	L1	25	19	22	2	3
36	БЗ ♀	pre-B	L1	90	81	84	5	9
Сер.				41,06	29,39	32,08	10,94	13,28
Std. Err.				± 5,89	± 4,49	± 4,63	± 2,13	± 2,31

Як бачимо із наведених даних статистично достовірна відмінність між цими трьома групами хворих стосується тільки рівнів С-анафази в першому гострому періоді. У хворих, що померли не досягши ремісії, рівні С-анафази в перший гострий період були мінімальні, значно вищими були рівні С-анафази в перший гострий період у хворих, що померли внаслідок швидкого рецидиву. У кілька разів перевищували ці значення рівні С-анафази в хворих на ГЛЛ, що досягли тривалої ремісії.

Таблиця 3.3.11.

Прогностичне значення С-анафази при ГЛЛ. Наведені середні значення рівня С-анафази в перший гострий період (першої бластної кризи).

Контингент	ПК	КМ
Контрольна група	0	0
Леталь	1,00 ± 0,36	1,54 ± 0,41
Швидкий рецидив	3,2 ± 0,94	4,9 ± 1,14
Тривала ремісія	10,94 ± 2,13	13,28 ± 2,31

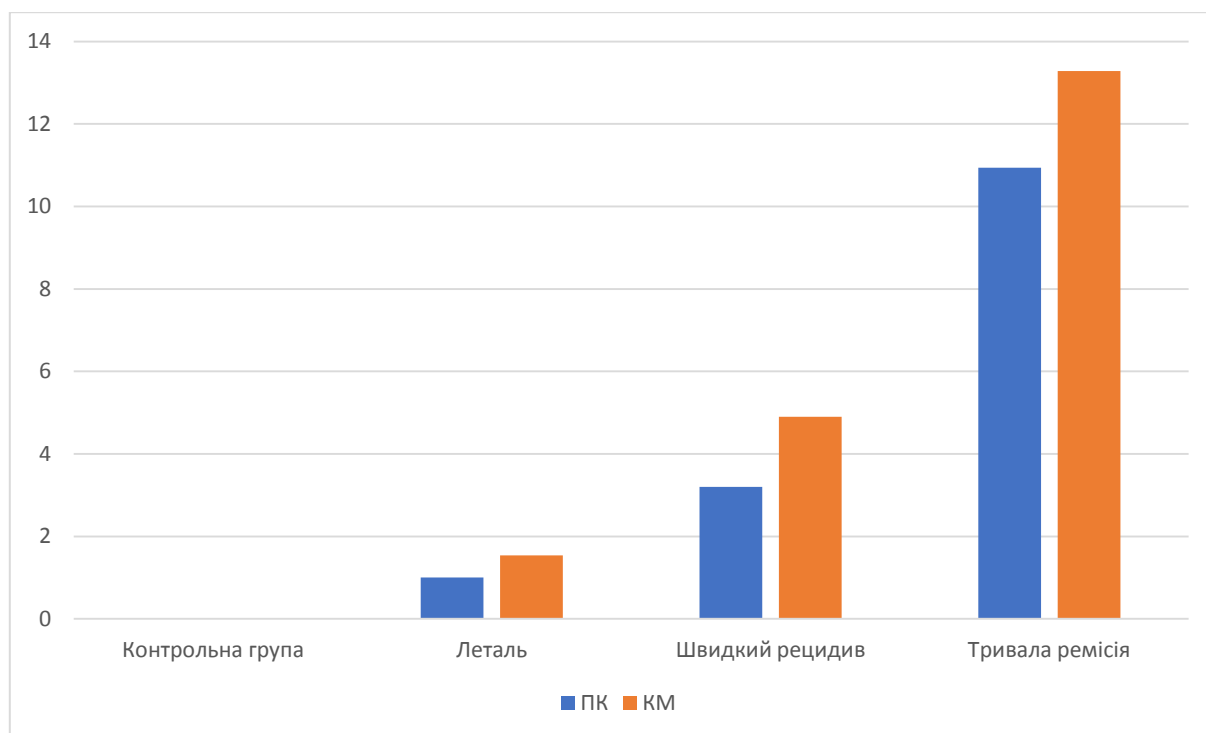


Рис. 3.3.20. Значення рівнів С-анафазу в першій гострій у різних групах хворих на ГЛЛ дітей – що померли і не досягли ремісії, що мали швидкий рецидив і що досягли тривалої ремісії.

Отже, виходячи з цих результатів ми можемо пропонувати визначення рівня С-анафазу не тільки як додатковий діагностичний маркер, але і як прогностичний маркер перебігу ГЛЛ у дітей.

Висновки

1. Феномени ПРЦ та С-анафази можна використовувати в якості додаткового діагностичного критерію гострого лімфобластного лейкозу.
2. Феномен ПРЦ притаманний переважно бластним онкотрансформованим клітинам, аніж нормальним клітинам периферійної крові чи червоного кісткового мозку – відмічена висока позитивна кореляція між числом бластів в периферійній крові та рівнем ПРЦ у хворих на ГЛЛ.
3. Феномени ПРЦ та С-анафази можна використовувати в якості додаткового критерію ремісії – в ремісії у хворих на ГЛЛ рівні ПРЦ та С-анафази знижуються і наближаються до показників контрольної групи.
4. Феномен С-анафази можна використовувати в якості додаткового прогностичного критерію – високі рівні С-анафази в перший гострий період є позитивним прогнозом перебігу ГЛЛ, є свідченням високої імовірності досягнення ремісії.
5. Феномен ПРЦ є однією з причин нестабільності геному при ГЛЛ – рівні ПРЦ в перший гострий період ГЛЛ корелюють з частотою анеуплоїдних клонів при ГЛЛ.

Список використаних джерел

1. Акопян Г. Р., Сиренко А. Г., Гнатейко О. З., Петрух А. В., Стойка Р. С. С-анафаза как цитогенетический маркер апоптоза клеток при остром лимфобластном лейкозе у детей // Экспериментальная онкология. – 1999. – N21(2). – С. 127 - 132.
2. Акопян Г. Р., Гнатейко О. З., Сиренко А. Г., Поліщук Р. С., Логінський В. Є., Новак В. Л. Передчасне розділення центромер метафазних хромосом при гострій лімфобластній лейкемії у дітей // Онкологія. – 1999. - N4. – С.283 - 289.
3. Акопян Г. Р., Сиренко А. Г., Гулеюк Н. Л., Дзись Е. И. Явление преждевременного расхождения хроматид во взаимосвязи с процессами дифференциации клетки // Тез. докл. Первый (третий) Российский съезд медицинских генетиков. - М., 1994. - С. 220 - 221.
4. Акопян Г. Р., Сиренко А. Г. та ін. Передчасне розділення центромер метафазних хромосом та баланс гетерохроматину в геномі клітин із різним ступенем дифереціації. Г. Р. Акопян, А. Г.Сиренко, Н. Л. Гулеюк, А. В. Петрух, П. Мале // Тези доп. 2 з'їзду мед. генетиків України. - Львів. - 1995.- С. 6.
5. Акопян Г. Р., Сиренко А. Г., Поліщук Р. С. Прогнозування сімейних випадків лейкемії на основі нових цитогенетичних маркерів онкотрансформації клітин // Матеріали V з'їзду ВУЛТ. Конф."Сучасні пробл. перв. мед-сан. допомоги" (28-29 травня, Київ). Укр. - Мед. Вісті, 1999, т. 3. – с. 45.
6. Албрерс Б., Брей Л., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки. Т. 3. – М.: Мир, 1987. – 282 с.
7. Владимирская Е. В., Румянцев А. Г. Особенности патогенеза острых лейкозов у детей // Гематол. трансфуз. – 1991. - № 1. – С. 8.
8. Владимирская Е. Б., Торубарова Н. А. Острые лейкозы и гоноплазии кровотообразования у детей. – М.: Медицина, 1994. – 207 с.
9. Воронцов И. М., Алексеев Н. А. Лейкозы у детей. – М.: Медицина, 1998. – 247 с.

10. Гематология детского возраста / Под ред. Н. А. Алексеева. - СПб.: Гиппократ, 1998. - С. 221-236.
11. Гематологические болезни у детей / Под ред. М. П. Павловой. - Минск: Высшэйшая школа, 1996. - С. 47 - 62.
12. Давиденкова Е. Ф., Шерман С. И., Колосова Н. Н. Клиника и генетика лейкозов. – Ленинград: Медицина, 1973. – 174 с.
13. Захаров А. Ф., Бенюш В. А. Хромосомы человека. – М.: Медицина, 1982. – 253 с.
14. Ковалева Л. Г. Острые лейкозы. – М.: Медицина, 1990. – 271 с.
15. Кіцера Н. І., Козій Р. С., Поліщук Р. С., Сіренко А. Г. Цитогенетичний та клініко-генеалогічний аналіз хронічної мієло-моноцитарної лейкемії у дитини // Лікарська справа. – 1999. – № 1 (1043). – С.129 - 131.
16. Козинец В. И., Макарова В. А. Исследование системы крови в клинической практике. – М.: Триада-Х, 1998. – 480 с.
17. Лозинська Р. М. Особливості каріотипу соматичних клітин у ранньому онтогенезі і при вагітності у людини. – Автореф. ... дис. канд. біол. наук. – К., 1992. – 20 с.
18. Лванга С. К. (ред.) Обучение медицинской статистике. Двадцать конспектов лекций и семинаров. – Женева: ВОЗ, 1989. – 216 с.
19. Майданников В. П. Педиатрия. – Харьков: Фолио, 2002. - С. 775 - 782.
20. Раевская Г. Б., Минков Е. Г., Цветкова Т. Г. Преждевременное рахождение центромер метафазных хромосом у больных наркоманией и алкоголизмом // Бюлетень експериментальної біології і медицини. – 1997. - № 124 (9). – С. 6.
21. Руководство по гематологии / Под ред. А. И. Воробьева. В 2 т. - М.: Медицина, 1985. - Т. 2. - С. 135 - 146.
22. Сіренко А. Г. Центромера і рак. – К.: Українська видавнича спілка, 2001. – 150 с.
23. Сіренко А. Г. Феномен передчасного розходження центромер і гострі лейкози. - К.: Українська видавнича спілка, 1999. – 92 с.

24. Сіренко А. Г. Феномен передчасного розділення центромер хромосом при гострому лімфобластному лейкозі // Бюлетень Всеукраїнського Наукового та Професійного Товариства ім. Миколи Міхновського: Медицина. Медична генетика. Екологія людини. – 1998. - №7. - С. 4 - 11.
25. Сіренко А. Г. Передчасна анафаза як новий цитогенетичний маркер неходжкінської лімфоми // Бюлетень Всеукраїнського Наукового та Професійного Товариства ім. Миколи Міхновського: Медицина. Медична генетика. Екологія людини. - 1998. – № 7. - С. 11 - 15.
26. Сіренко А. Г., Акопян Г. Р. Передчасне розділення центромер як цитогенетичний маркер гострої лейкемії у дітей // Збірник наукових праць «Проблеми екології та медичної генетики і клінічної імунології». - Вип. 4 (24). – К. - Луганськ. – 1999. – С. 122 - 133.
27. Смирнов В. Г. Цитогенетика. – М.: Высшая школа, 1991. – 247 с.
28. Созанский О. А., Яворская О. М., Савранский Э. Ф. Изучение хромосом кроветворных клеток эмбриона человека // Тезисы докладов V съезда ВОГИС им. Вавилова. – М., 1987. – С. 110.
29. Фильченков А. А., Стойка Р. С. Апоптоз (Физиологическая гибель клетки). – К.: Осень, 1995. – 24 с.
30. Фильченков А. А., Стойка Р. С. Апоптоз и рак. – К.: Морион, 1999. – 184 с.
31. Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека. Т. 2 – М.: Мир, 1990. – 320 с.
32. Шабалов Н. П. Детские болезни. - СПб.: Питер, 1999. - С. 736 - 746.
33. Шлома Д. В., Созанський О. О., Гулеюк Н. Л. Особливості хромосомного апарату та функціонального стану щитовидної залози при аменореях у жінок // Цитол. генет. – 1993. – Т. 27, № 4. – С. 55 – 61.
34. Acton A. Aplastic anemia. – Scholarly Editions, 2013. - 36 p.
35. Akaо Y., Seto M., Yamamoto K. The RCK gene associated with t(11;14) translocation is distinct from the AML/ALL-1 gene with t(4;11) and t(11;19) translocations // Cancer research. – 1992. – N 52(21). – P. 6083 – 6087.
36. Akopian H. R., Sirenko A. G., Sednieva I. A., Nevzgodina N. M. Chromosomal evaluation of apoptosis in embryonic tissues and placenta // Inf. Conf. «Placentogenic

- monitoring and ecotoxicologic aspects genetic disease». Krakow. Poland. - 2000. - P. 8.
37. Akopian G. R., Sirenko A. G. et al. Cytogenetic study of peripheral blood lymphocytes and bone marrow cells in acute infant lymphoblastic leukaemia. G.R.Akopian, A.G.Sirenko, N.L. Guleyuk, E.I. Dzis, Y.J. Havryluk, O.Z. Hnateiko // Abstr. World Congress «Child Health-2000», Vancouver, May, 28-June, 1, 1995. - P. 169.
38. Akopian G. R., Sirenko A. G. et all. Premature anaphases possibly rilates to apoptosis / G. R. Akopian, A. G. Sirenko, O. Z. Hnateiko, R. S. Stojka // Abstr.2-nd European Cytogenet.Conference July 3-6, 1999, Vienna, Austria. – Cytogenetic & Cell Genetic. – 1999. - V.85, N 1 - 2. - P. 34.
39. Akopian G. R., Sirenko A. G., Hnateiko O., Hulejuk N., Malet P. Premature anaphases as a possible cytogenetic indicator of apoptosis // Cytogenetic & Cell Genetic. - 1997. - V. 77. – N 1-2. – P. 93.
40. Alessandro E., Di Cola M., Vaccarella C. Nonrandom chromosome changes in multiple sclerosis // American Journal Medical Genetic. – 1990. – V. 37, N 3. – P. 406 – 411.
41. Anderson J. R., Vose J. M., Bierman P. J. At all. Clinical features and prognosis of follicular large-cell lymphoma: a report from the Nebraska // Lymphoma Study Group Journal Clinical Oncology. – 1993. - N 11. – P. 218 – 224.
42. Angell R., Ledger W., Yong E. Cytogenetic analysis of unfertilized human oocytes // Human Reproduction. – 1991. – N 6(4). – P. 568 – 573.
43. Angioni A., Ghione F., Miano C. Unusual t(3;12) (q284q13) in childhood acute lymphoblastic leukemia // Cancer Genetic & Cytogenetics. – 1991. – N 55(2). – P. 261 – 263.
44. Aplan P. D., Lombardi D. P., Reaman G. H., Sather H. N., Hammond G. D., Kirsch I. R. Involvement of the putative hematopoietic transcription factor SCL in T-cell acute lymphoblastic leukemia // Blood. - 1992. - N79 (5). – P. 1327 – 33.
45. Arieta M. I., Martinez B., Nunez M. Premature centromere division: a cytogenetic study // Cytologia (Tokyo). – 1995. – V. 60, N 2. – P. 159 – 165.

46. Aron E. Alfred Velpeau (1795 - 1867) Une carrière exceptionnelle // *Histoire des Sciences Médicales*. – 1994. - V. XXVIII. – P. 101 - 107.
47. Aurer L., Sparkes R., Schiller G. Ph-chromosome positive acute lymphoblastic leukemia is t(9;22) the initial abnormality? // *American Journal of Hematology*. – 1993. – N 43(1). – P. 61 – 62.
48. Auxenfants E., Morel P., Lai J. Secondary acute lymphoblastic leukemia with t(4;11): report on two cases and review of the literature // *Annals of Hematology*. – 1992. – N 65(3). – P. 143 – 146.
49. Bajalica S., Sorensen A., Pedersen T. et al. Chromosome painting as a supplement to cytogenetic banding analysis in non-Hodgkin's lymphoma // *Genes Chromosomes & Cancer*. - 1993. - N 7. – P. 231 - 239.
50. Bajnoczky K., Cardo S. «Premature anaphase» in a couple with recurrent miscarriage // *Human genetic*. – 1993. – V. 92, N 4. – P. 388 – 390.
51. Bajnoczky K., Mehes K. Parental centromere separation sequence and aneuploidy in the offspring // *Human Genetic*. – 1988. – V. 78, N 3. – P. 286 – 288.
52. Bakhoun S. F., Silkworth W. T., Nardi I. K., Nicholson J. M., Compton D. A., Cimini D. The mitotic origin of chromosomal instability // *Current Biology*. – 2014. – V. 24. – P. 148 – 149.
53. Bhatia K., Huppi K., McKeithan T., Siwarski D., Mushinski J. F., Magrath I. Mouse bcl-3: cDNA structure, mapping and stage-dependent expression in B lymphocytes // *Oncogene*. - 1991. - N6 (9), - P. 1569 – 73.
54. Bell W., Whang J., Carbone P. Cytogenetic and morphologic abnormalities in human bone marrow cells during cytosine arabinoside therapy // *Blood*. – 1966. – V. 27, N 6. – P. 771 – 781.
55. Bentz M., Cabot B., Moos M. Detection of chimeric BCR-ALB genes on bone marrow samples and blood smears in chronic myeloid and acute lymphoblastic leukemia // *Blood*. – 1994. – N 83(7). – P. 1922 – 1928.
56. Berger R. Cytogenetics of acute leukemia // *Leukemia*. – 1992. – N 6(2). – P. 7 – 11.

57. Berger R. Molecular cytogenetic of acute lymphoblastic leukemia // *Nouvelle revue française d'hématologie*. – 1991. – N 33(2). – P. 86 – 91.
58. Berger R. Translocation t(8;21) (q22;q22): cytogenetic and molecular biology // *Nouvelle revue française d'hématologie*. – 1994. – N 36(1). – P. 967 – 969.
59. Berger R., Coniat M., Derre J. et al. 5q-anomaly in acute lymphoblastic leukemia // *Cancer genetic & Cytogenetics*. – 1992. – N 61(2). – P. 201 – 203.
60. Bernat R., Delanoy M., Rothfield N. et al. Disruption of centromere assembly during interphase inhibits kinetochore morphogenesis and function in mitosis // *Cell*. – 1991. – N 66. – P. 1229 – 1338.
61. Bickel S., Wymar D., Orr-Weaver T. et al. Mutation analysis of the *Drosophila* sister-chromatid cohesion protein ORD and its role in the maintenance of centromeric cohesion // *Genetics*. – 1997. – N 146(4). – P. 1319 – 1331.
62. Biondi A., Rambaldi A., Rossi V. et al. Detection of ALL-1/AF4 fusion transcript by reverse transcription-PCR for diagnosis and monitoring of acute leukemia with the t(1;4) translocation // *Blood*. – 1993. – N 82(10). – P. 2943 – 2947.
63. Bloom K., Constanzo V. Centromere structure and function // *Prog. Mol. Subcell. Biol.* – 2017. – V. 56. – P. 515 – 539.
64. Borrero S., Antinolo G., Parody R. et al. Translocation (14;18) in a patient with common acute lymphoblastic leukemia (FAB L2) // *Cancer Genetics & Cytogenetics*. – 1993. – N 65(2). – P. 177 – 178.
65. Brinkley B., Zinkovski R., Mollon W. et al. Movement and segregation of kinetochores experimentally detached from mammalian chromosomes // *Nature*. – 1993. – N 336. – P. 251 – 254.
66. Buckton K. E., Whalley L. J., Christin J. I. et al. Chromosome changes in Alzheimer's Precemial Dementia // *Journal Medical Genetic*. – 1983. – V. 20, N1. – P. 45 – 51.
67. Buecher E. M., Fessler R., Beutler C. et al. Incidental findings of double minutes (DM), single minutes (SM), homogenously staining regions (HRS), premature chromosome condensation (PCC) and premature chromosome division (PCD)? // *Annals Genetic*. – 1987. – V 30, N 2. – P. 75 – 79.

68. Burger H., Nooter K., Zaman G. et al. Expression of the multidrug resistance-associated protein (MRP) in acute and chronic leukemia // *Leukemia*. – 1994. – N 8(6). – P. 990 – 997.
69. Burkin D., Jones C., Burkin H. et al. Sheep CENPB and CENPC genes show a high level of sequence similarity and conserved synteny with their human homologs // *Cytogenetics & Cell Genetics*. – 1996. – N 74 (1-2). – P. 86 – 89.
70. Bunn F. H., Aster J. C. Chapter 21: Acute Leukemia // *Pathophysiology of Blood Disorders*. — The McGraw-Hill Companies, Inc., 2011. — C. 244 — 259.
71. Cabanillas F., Pathak S., Trujillo J. Frequent nonrandom chromosome abnormalities in 27 patients with untreated large cell lymphoma and immunoblastic lymphoma // *Cancer Research*. – 1988. - N 48. – P. 5557 – 5564.
72. Cage W. The case of the late professor Hughes Bennett // *British Medical Journal*. – 1875. – V. 2 (771). – P. 453 – 454.
73. Calafell J., Badenas J., Egozcue J. et al. Premature chromosome condensation as sign of oocyte immaturity // *Human Reproduction*. – 1991. – N 6(7). – P. 1017 – 1021.
74. Chamla Y. C-anaphases in lymphocyte cultures versus premature centromere division syndromes // *Human Genetic*. – 1988. – V. 78, N 2. – P. 111 – 114.
75. Chan R., Hardy W., Laing M., Muller W. The Catalytic Activity of the ErbB-2 Receptor Tyrosine Kinase Is Essential for Embryonic Development // *Molecular Cell Biology*. - 2017. – N 22. – P. 1073 – 1078.
76. Chauffaille M., Coutinho V., Kerbauy J. et al. Simplified method for the analysis of cellular karyotype and phenotype in leukemias // *Revista Paulista de Medicina*. – 1992. – N 110 (3). – P. 97 – 101.
77. Chenevix-Trench G., Brown J. A., Tyler G. B. Chromosome analysis of 30 cases of non-Hodgkin's lymphoma // *Medical Oncology and Tumor Pharmacotherapy*. – 1988. - V. 5, N1. – P. 17 – 32.
78. Chin Y., Bosco J., Koh C. et al. Breakpoint cluster region (BCR) gene rearrangement studies in chronic myeloid and acute lymphoblastic leukemia // *Medical Journal of Malaysia*. – 1992. – N 47(2). – P. 110 – 113.

79. Cho S. Y., Kim S. Y., Jeon Y. L. A novel three-way ph variant t(8;9;22) in adult acute lymphoblastic leukemia // *Annals of Clinical and Laboratory Science*. - 2011. - vol. 41. - P. 71 - 78.
80. Clark M., Kumar P. (eds.) *Aplastic anemia: new insights for the Healthcare Professional*. Scholarly Editions. - Kumar & Clark's clinical medicine (7th ed.). Edinburgh: Saunders Elsevier, 2011. - 210 p.
81. Clarkson B. Consistent genetic abnormalities in human cancer as targets for selective therapies // *Mount Sinai Journal of Medicine*. - 1992. - N 59(5). - P. 400 - 404.
82. Cleary M. L., Smith S. D., Sklar J. Cloning and structural analysis of cDNAs for bcl-2 and a hybrid bcl-2/immunoglobulin transcript resulting from the t(14;18) translocation // *Cell*. - 1986. - N 47 (1). - P. 19 - 28.
83. Colsolini R., Pui C. H., Behm F. G. et al. In vitro cytotoxicity of docetaxel in childhood acute leukemias // *Journal Clinical Oncology*. - 1998. - V. 16, N 3. - P. 907 - 913.
84. Corona-Rivera A., Salamanca-Gomez F., Lucina Bobadilla-Morales L. et al. Cell cycle and centromere FISH studies in premature centromere division // *Medical Genetics*. - 2005. - N 6. - P. 33 - 43.
85. Croce C. M. Molecular biology of lymphomas // *Seminars in Oncology*. - 1993. - N 20. - P. 31 - 46.
86. Darwiche N., Freeman I. Characterization of components of the putative mammalian sisters chromatid cohesion complex // *Gene*. - 1999. - V. 233, N 1-2. - P. 39 - 47.
87. Dave B. J., Hess M. M., Pickering D. L. Rearrangements of chromosome band 1p36 in non-Hodgkin's lymphoma // *Clinical Cancer Research*. - 1999. - N 5. - P. 1401 - 1402.
88. Davey F., Lawrence D., McCallum J. et al. Morphologic characteristics of acute lymphoblastic leukemia (ALL) with abnormalities of chromosome 8, band q24 // *American Journal of Hematology*. - 1992. - N 40(3). - P. 183 - 191.

89. Devaraj P., Foroni L., Sekhar M. et al. E2/HLF fusion cDNA and the use of RT-PCR for the detection of residual disease in t(17;19) (q22;q13) acute lymphoblastic leukemia // *Leukemia*. – 1994. – N 8(7). – P. 1131 – 1138.
90. De Zern A. E., Brodsky R. A. Clinical management of aplastic anemia // *Expert Review of Hematology*. - 2014. – V. 4 (2). - P. 221 – 230.
91. Dietich C. U., Krone W., Hochsattel R. et al. Cytogenetic studies in tuberous sclerosis // *Cancer Genetic & Cytogenetic*. – 1990. – V. 45, N 2. – P. 161 – 178.
92. Dominigues A., Ramon-Morales F., Romero F. et al. Hpttg, a human homologue of rat pttg, is over expressed in hematopoietic neoplasm. Evidence for a transcriptional activation function of hpttg // *Oncogene*. – 1998. – V. 17, N 17. – P. 2187 – 2193.
93. Dowing J., Head D., Raimondi S. et al. The der(11)-encoded MLL/AF-4 fusion transcript is consistently detected in t(4;11) (q21;23)-containing acute lymphoblastic leukemia // *Blood*. – 1994. – N 83(2). – P. 330 – 335.
94. Eisenberg L. Rudolf Virchow: the physician as politician // *Medicine and War*. – 1986. – V. 2 (4). – P. 243 – 250.
95. Erikson J., Ar-Rushidi A. Transcriptional activation of the translocated c-myc oncogene locus in undifferentiated B-cell lymphomas // *Science*. – 1993. – N 219. – P. 963 – 967.
96. Fenaux P., Lai J. L., Miaux O. et al. Burkitt cell acute leukaemia (L3 ALL) in adults: a report of 18 cases // *Br. J. Haematol*. – 2004. - N 71 (3). – P. 371 - 376.
97. Fernandes R., Cotter T. Apoptosis or necrosis: intracellular levels of glutathione influence mode of cell death // *Biochemical Pharmacology*. – 1994. – N 48(4). – P. 675 – 681.
98. Finver S. N., Nishikura K., Finger L. R., Haluska F. G., Finan J., Nowell P. C., Croce C. M. Sequence analysis of the Myc oncogene involved in the t(8;14)(q24;q11) chromosome translocation in a human leukemia T-cell line indicates that putative regulatory regions are not altered // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 1988. – N 85 (9). – P. 3052 – 3056.
99. Fitzgerald P. Premature centromere division // *Human genetic*. – 1992. – N 90 (1-2). – P. 190 – 191.

100. Fletcher J., Tu N. Tantravahi R. et al. Extermely poor prognosis of pediatric acute lymphoblastic leukemia with translocation (9;22): updated experience // *Leukemia & Lymphoma*. – 1992. – N 81(1-2). – P. 75 – 79.
101. Fogu G., Gabbas A., Angius A. et al. Tranlocazione compresa (5;15;17) in caso di leukemia acuta promielocitica // *Haematologia*. – 1991. – N 72(2). – P. 209.
102. Fujimoto N., Marujama S., Ito A. et al. Establishment of an estrogen responsive rat pituitary cell sub-line MtT/E-2 // *Endocrinology Journal*. – 1999. – V 46, N 3. – P. 389 – 396.
103. Fujiwara M., Soga N., Kurokawa I. et al. De novo Ph-negative acute T-lymphoblastic leukemia with BCR gene rearrangement // *Leukemia*. – 1994. – N 8(3). – P. 510 – 512.
104. Fukagawa T., Brown W. Efficient conditional mutation of the vertebrate CENP-C gene // *Human Molecular Genetics*. – 1997. – N 6(13). – P. 2301 – 2308.
105. Forsburg S. L. The CINs of the centromere // *Biochemical Society Trans.* – 2013. – V. 41. – P. 1706 – 1711.
106. Fuster C., Miro R., Barrios L. et al. Introduction of premature centromere division affecting all chromosomes under culture conditions of fragile site expressions // *Cancer Genetics & Cytogenetics*. – 1992. – N 58(2). – P. 153 – 154.
107. Gabarron J., Jimenez A., Glover G. et al. Premature centromere division dominantly inherited in subfertile family // *Cytogenetic & Cell Genetic*. – 1986. – V. 43, N 1-2. – P. 69 – 71.
108. Gallo J., Misava S., Testa J. et al. Centromere spreading in acute nonlymphoblastic leukemia // *Cancer Genetic & Cytogenetic*. – 1984. – V 12, N 2. – P. 105 – 109.
109. Gansler T. Application of DNA cytometry in pediatric pathology // *Perspective Pediatric Pathology*. – 1992. – N 15. – P. 83 – 105.
110. Garg A., Aggarwal B. B. Nuclear transcription factor-kappaB as a target for cancer drug development // *Leukemia*. - 2002. - N16 (6). – P. 1053 – 68.
111. Gibbons B., Czepulkowski B. Cytogenetic in acute lymphoblastic leukemia // *Human Cytogenetic*. – 1992. – N 1. – P. 67 – 95.

112. Gibbons B., McCallum P., Watts E. et al. Near haploid acute lymphoblastic leukemia: seven new cases and review of the literature // *Leukemia*. – 1991. – N 5(9). – P. 738 – 743.
113. Goasguen J., Dossot J., Farbel O. et al. Expression of multidrug resistance-associated P-glycoprotein (P-170) in 59 cases of de novo acute lymphoblastic leukemia: prognostic implications // *Blood*. – 1993. – N 82 (11 - 12). - P. 3505 – 3507.
114. Godey C., Gonzales-Garcia J., Estaban M. et al. Kinetochores and chromatin diminution in early embryos of *Parascaris univalent* // *The Journal of Cell Biology*. – 1992. – V. 118, N 1. – P. 23 – 32.
115. Golub T., Berker G., Bohlander S., et al. Fusion of the TEL gene on 12p13 to the AML 1 gene on 21q22 in acute lymphoblastic leukemia // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 1995. – N 92 (11). – P. 4917 – 4921.
116. Gorman A., Samali A., McGowan A. et al. Use of flow cytometry techniques in studying mechanisms of apoptosis in leukemic cells // *Cytometry*. – 1997. – N 29(2). – P. 97 – 105.
117. Greaves M. Stem cell origins of leukemia and curability // *British Journal of Cancer*. – 1993. N 67(3). – P. 413 – 423.
118. Gruber A., Vitols S., Norgen S. et al. Quantitative determination of *mdr 1* gene expression in leukemia cells from patient with acute leukemia // *British Journal of Cancer*. – 1992. – N 66(2). – P. 266 – 272.
119. Hammond D. W., Goepel J. R., Aitken M. Cytogenetic analysis of a United Kingdom series of non-Hodgkin's lymphomas // *Cancer Genetics and Cytogenetics*. – 1992. - N 61. – P. 31 - 38.
120. Hara J., Kawa-Ha K. T-cell receptor alpha and delta gene assembly in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia // *Leukemia*. – 1992. – N 7(5-6). – P. 363 – 370.
121. Hardingham J., Peters G., Debrovich A. et al. A rare translocation (4;11) (q21; p14-15) in an acute lymphoblastic leukemia expressing T-cell and myeloid markers // *Cancer Genetics & Cytogenetics*. – 1991. – N 56(2). – P. 255 – 262.

122. Heaney A., Horwitz G., Wang Z. et al. Early involvement of estrogen-induced tumor transforming gene and fibroblast growth factor expression in prolactinoma pathogenesis // *Natural Medicine*. – 1999. – V. 5, N 11. – P. 1317 – 1321.
123. Heerema N., Palmer C., Weitman R. et al. Cytogenetic analysis in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia // *Leukemia*. – 1992. – N 6(3). P. 185 – 192.
124. Heikinheimo O., Lanzendorf S. E., Baka S. G., Gibbons W. E. Cell cycle genes c-mos and cyclin-B1 are expressed in a specific pattern in human oocytes and preimplantation embryos // *Human Reproduction*. – 1995. - N 10 (3). – P. 699 – 707.
125. Heim S., Mitelman F. *Cancer Cytogenetics. Chromosomal and Molecular Genetic Aberrations of Tumor Cells*. - New York: Alan R. Liss, 1995. – P. 266 - 309.
126. Higa T., Okabe M., Kunieda Y. Establishment and characterization of a new Ph-positive ALL cell line (ALL/MIK) presenting bcr gene rearrangement on bcr-2 and ALL-type bcr/alb transcript: suggestion of in vitro differentiation to monocytoid lineage // *Leukemia & Lymphoma*. – 1994. – N 12(3-4). – P. 287 – 296.
127. Hirt A., Leibundgurt K., Lethy A. et al. Cell birth and death in childhood acute lymphoblastic leukemia: how fast does the neoplastic cell clone expand // *British Journal Hematology*. – 1997. – V. 98, N 4. – P. 999 – 1001.
128. Hjalt T. A. H., Murray J. C. Genomic structure of the human retinoic acid receptor-alpha1 gene // *Mammalian Genome*. - 1999. - N 10. – P. 528 – 529.
129. Hoelzer D., Ludwig W. D., Thiel E. et al. Improved outcome in adult B-cell acute lymphoblastic leukemia // *Blood*. – 1996. – N 87 (2). – P. 495 - 508.
130. Hofmann W. K., Komor M., Wassmann B. et al. Presence of the BCR-ABL mutation Glu255Lys prior to STI571 (imatinib) treatment in patients with Ph+ acute lymphoblastic leukemia // *Blood*. – 2003. – N 102. – P. 659 - 661.
131. Hogge D. Cytogenetic and oncogenes in leukemia // *Current Opinion in Oncology*. – 1994. – N 6(1). – P. 3 – 13.
132. Hunger S., Brown R., Cleary M. et al. DNA-binding and transcriptional regulatory properties of hepatic leukemia factor (HLF) and the t(17;19) acute lymphoblastic leukemia chimera E2A-HLF // *Molecular & Cellular Biology*. – 1994. – N 14(9). – P. 5986 – 5996.

133. Hungerford D. Leucocytes culture from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosome by treatment with hypotonic KCl // *Stain Technology*. – 1965. – N 40. – P. 333 – 338.
134. Ito C., Reibeiro R. C., Behm F. G. et al. Cyclosporine A induces apoptosis in childhood acute lymphoblastic leukemia cells // *Blood*. – V. 91, N 3. – P. 1001 – 1007.
135. Izraeli S., Janssen J., Haas O. et al. Detection and clinical relevance of genetic abnormalities in pediatric acute lymphoblastic leukemia: a comparison between cytogenetic and PCR analyses // *Leukemia*. – 1993. – N 7(5). - P. 671 – 678.
136. Izraeli S., Lion T. Multiprimer-PCR for screening of genetic abnormalities in acute lymphoblastic leukemia // *British Journal of Hematology*. – 1991. – N 79(4). – P. 645 – 647.
137. Jabs E., Tuck-Muller C. M., Cusano R. et al. Studies of mitotic and centromeric abnormalities in Roberts syndrome: implication for a defect in the mitotic mechanism // *Chromosoma*. – 1991. – V. 100, N 4. – P. 251 – 261.
138. Jani-Sait S., Raimondi S., Look A. et al. A t(11;12) 11q23 leukemic breakpoint that disrupts the MLL gene // *Genes, Chromosomes & Cancer*. – 1993. – N 7(1). – P. 28 – 31.
139. Jenkins E., Sanz M., Ray J. et al. Distribution of diploidy, polyploidy and endoreduplication in fra(X) positive and negative lymphocytes, amniocytes and chorionic villi // *American Journal Medical Genetic*. – 1991. – N 38 (2 -3). – P. 434 – 436.
140. Ji W., Hernandez R., Zhang X. et al. DNA demethylation and pericentromeric rearrangements of chromosome 1 // *Mutation Research*. – 1997. – N 379(1). – P. 33 – 41.
141. Johansson B., Mertens F., Mitelman F. et al. Secondary chromosomal abnormalities in acute leukemia // *Leukemia*. – 1994. – N 8(6). – P. 953 – 962.
142. Jones N., Shannon P., Cutz E. et al. Increase in proliferation and apoptosis of gastric epithelial cells early in the natural history of *Helicobacter pylori* infection // *American Journal of Pathology*. – 1997. – N 151(6). – P. 1695 – 1703.

143. Juneja S., Lukeis R., Tan L., Cooper I. et al. Cytogenetic analysis of 147 cases of non-Hodgkin's lymphoma: nonrandom chromosomal abnormalities and histological correlations // *The British Journal of Haematology*. – 1990. - N 76. – P. 231 - 237.
144. Kamio T., Ito E., Ohara A. et al. Relapse of aplastic anemia in children after immunosuppressive therapy: a report from the Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group // *Hematologica*. - 2011. – № 96 (6). – P. 814 – 819.
145. Kajtar P., Mehes K. Bilateral Coats retinopathy associated with aplastic anemia and mild dyskeratotic sings // *American Journal Medical Genetic*. – 1994. – V. 49, N 2. – P. 374 - 377.
146. Kallio M., Lahdetie J. Famentation of centromeric DNA and prevention of homologous chromosome separation in male mouse meiosis in vivo by the topoisomerase II inhibitor etoposide // *Mutagenesis*. – 1996. – N 11(5). – P. 435 – 443.
147. Kasper D. L., Braunwald E., Fauci A. et al. Harrison's principles of internal medicine. 16th ed. - New York: McGraw-Hill, 2005. – 506 p.
148. Kehrer H., Krone W., Shindler D. et al. Cytogenetic studies of scin fibroblast cultures from a karyotypically normal female with diskeratosis congenita // *Clinical Genetic*. – 1992. – V. 41, N 3. – P. 129 – 134.
149. Kende G., Toren A., Mandel M. et al. Familial leukemia: description of two kindred and a review of the genetic aspects of the disease // *Acta Hematologica*. – 1994. – N 92(4). – P. 208 – 211.
150. Kenderian S. S., Al-Kali A., Gangat N. et al. Monosomal karyotype in Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia // *Blood Cancer Journal*. – 2013. - N 3. – P. 122 - 130.
151. Keser I., Gunduz G. Premature centromere division in three unrelated families // *Annales de Genetique*. – 1996. – N 39(2). – P. 87 – 90.
152. Kerrebrock A., Moore D., Wu J. et al. Mei-S332 a drosophila protein required for sister-chromatid cohesion, can localize to meiotic centromere regions // *Cell*. – 1995. – N 83. – P. 247 – 256.

153. Kita K., Nishii K., Ohishi K. et al. Frequent gene expression of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) receptor in CD7⁺ acute lymphoblastic leukemia // *Leukemia*. – 1993. – N 7(8). – P. 1184 – 1190.
154. Korman-Bortolotto M., de Arruda Cardoso S. Alzheimer's disease and ageing: a chromosomal approach // *Gerontology*. – 1993. – N 39(1). – P. 1 – 6.
155. Koury M., Horne D., Brown Z. et al. Apoptosis of late-stage erythroblasts in megaloblastic anemia: association with DNA damage and macrocyte production // *Blood*. – 1997. – N 89. – P. 4617 – 4623.
156. Kowalczyk J., Chobotow M., Sladowska G. et al. Translocation (Y;2) in childhood acute lymphoblastic leukemia // *Cancer Genetic & Cytogenetics*. – 1991. – N 56(1). – P. 7 – 10.
157. Krance R., Raimondi S., Dubovy R. et al. t(12;17) (p13; q21) in early pre-B acute lymphoid leukemia // *Leukemia*. – 1992. – V 6(4). – P. 251 – 255.
158. Kunieda Y., Okabe M., Kurosava M. et al. Chronic myeloid leukemia presenting ALL-type BCR/ALB transcript // *Annals of Hematology*. – 1994. – N 69(4). – P. 189 – 193.
159. Kurup S., Abramsson A., Li J. P., Lindahl U., Kjellen L., Betsholtz C., Gerhardt H., Spillmann D. Heparan sulphate requirement in platelet-derived growth factor B-mediated pericyte recruitment // *Biochemical Society Transactions*. - 2006. – N 34 (3). – P. 454 – 5.
160. Lampert F., Harbott J., Ritterbach J. et al. Cytogenetic findings in acute leukemia in infants // *British Journal of Cancer*. – 1992. – N 18. – P. 20 – 22.
161. Landis S. H., Murray T., Bolden S. *Cancer Statistics // CA: a cancer journal for clinicians*. – 1998. - N 48. – P. 6 - 29.
162. LeBeau M. M. Chromosomal abnormalities in non-Hodgkin's lymphomas // *Seminars in Oncology*. – 1990. – N 17. – P. 20 – 29.
163. LeBrun D. P. E2A basic helix-loop-helix transcription factors in human leukemia // *Frontiers in Bioscience*. - 2003. - N 8 (1–3). – P. 206 – 222.
164. Le Deley M. C., Reiter A., Williams D. et al. European Intergroup for Childhood Non-Hodgkin Lymphoma: Prognostic factors in childhood anaplastic large

cell lymphoma: results of a large European intergroup study // *Blood*. – 2008. – V. 111. – P. 1560.

165. Lee E. J., Petroni G. R., Schiffer C. A. et al. Brief-duration high-intensity chemotherapy for patients with small noncleaved-cell lymphoma or FAB L3 acute lymphocytic leukemia: results of cancer and leukemia group B study 9251 // *Journal Clinical Oncology* – 2001. - N 19 (20). – P. 4014 - 4022.

166. Lee I., Seong C. Cloning and expression of human cDNA encoding human homologue of pituitary tumor transforming gene // *Biochemistry and molecular biology international*. – 1999. – V. 47, N 5. – P. 891 – 897.

167. Lessard N., Fenneteau O., Sainty D. et al. Translocation t(1;19) in acute lymphoblastic leukemia patients with cytological presentation simulating L3-ALL (burkitt-like) // *Leukemia & Lymphoma*. – 1993. – N 11 (1 – 2). - P. 149 – 152.

168. Levine E. G., Bloomfield C. D. Cytogenetics of non-Hodgkin's lymphoma // *The Journal of the National Cancer Institute Monographs*. – 1990. - N 10. – P. 7 – 12.

169. Littlefield L., Joiner E., Sayer A. et al. Premature separation of centromeres in marrow chromosomes from an untreated patients with acute myelogenous leukemia // *Cancer Genetic and Cytogenetic*. – 1985. – V. 16, N 2. – P. 109 – 116.

170. Litz C., McClure J., Coad J. Methylation status of the major breakpoint cluster region in Philadelphia chromosome negative leukemia // *Leukemia*. – 1992. – N 6(1). – P. 35 – 41.

171. Loeber G., Kittler L., Beensen V. et al. Differential effects of treatment with UV-light 365 nanometres and 8 methoxypsoralen on chromosomes of healthy persons and psoriatic patients // *Biomedica biochimica acta*. – 1986. – V. 45, N 3. – P. 343 – 352.

172. Locasciulli A., Oneto R., Bacigalupo A. et al. Outcome of patients with acquired aplastic anemia given first line bone marrow transplantation or immunosuppressive treatment in the last decade: a report from the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) // *Haematologica*. - 2007. – V. 92 (1). – P. 11–8.

173. Lorenzen J., Thiele J., Fisher R. et al. The mummified Hodgkin cell: cell death in Hodgkin's disease // *Journal of Pathology*. – 1997. – N 182(3). – P. 288 – 298.
174. Lowe L., Heerema N., Cheerva A. et al. A new nonrandom chromosomal abnormality, t(2;16) (p11.2; p11.2), possibly associated with poor outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia // *Cancer Genetics & Cytogenetics*. – 1992. – N 64(1). – P. 60 – 64.
175. Madan K., Lindhout D., Palan A. et al. Premature centromere division (PCD): a dominantly inherited cytogenetic anomaly // *Human Genetic*. – 1987. – V. 77, N 2. – P. 193 – 196.
176. Marschalek R., Nilson I., Löchner K., Greim R., Siegler G., Greil J., Beck J. D., Fey G. H. The structure of the human ALL-1/MLL/HRX gene // *Leukemia & Lymphoma*. - 1997. - N27 (5–6). – P. 417 – 428.
177. Mathew P., Sanger W. G., Weisenburger D. D. Detection of the t(2;5)(p23;q35) and NPM-ALK fusion in Non-Hodgkin's lymphoma by two color fluorescence in situ hybridization // *Blood*. – 1997. - N 89. – P. 1678 – 1685.
178. Matsubara K., Kubota M., Adachi S. et al. Induction of apoptosis in childhood acute leukemia by chemotherapeutic agents: failure to detect evidence of apoptosis in vivo // *European Journal of Hematology*. – 1994. – N 52(1). – P. 47 – 52.
179. Maung Z., McLean F., Reid M. et al. The relationship between bcl-2 expression and response to chemotherapy in acute leukemia // *British Journal of Hematology*. – 1994. – N 88(1). – P. 105 – 109.
180. McCabe C. J., Gittoes N. PTTG – a new pituitary tumor transforming gene // *Journal Endocrinology*. – 1999. – V. 162, N 2. – P. 163 – 166.
181. Mehes K., Bajnonoczky K. Unusually early dividing chromosomes 13 – 15 in child with retinoblastoma and 13q deletion // *Human Genetic*. – 1982. – V. 61, N 25(4). – P. 78.
182. Mehes K., Buhler E. Premature centromere division: a possible manifestation of chromosome instability // *American Journal of Medical Genetic*. – 1995. – N 56(1). – P. 76 – 79.

183. Mehes K., Kosztolanyi G. Premature centromere division of a translocation-carrier autosome // *Human Genetic.* – 1990. – V. 85, N 3. – P. 379 – 380.
184. Mehes K., Kosztolanyi G. A possible mosaic form of delayed centromere separation and aneuploidy // *Human Genetic.* – 1992. – V. 88, N 4. – P. 477 – 478.
185. Mehes G., Tarnok A., Mehes K. Objective analysis of centromere separation // *Human Genetics.* – 1996. – N 97(3). – P. 365 – 366.
186. Mellentin J. D., Smith S. D., Cleary M. L. *lyl-1*, a novel gene altered by chromosomal translocation in T cell leukemia, codes for a protein with a helix-loop-helix DNA binding motif // *Cell.* - 1989. – N 58, - P. 77 – 83.
187. Melo J., Gordon D., Tuszynsky A. et al. Expression of the ABL-BCR fusion gene in Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia // *Blood.* – 1993. – N 81(10). – P. 2488 – 2491.
188. Merck M. Professional Edition, Aplastic anemia (Hypoplastic anemia). – London, 2007. – P. 120 – 145.
189. Michiell M., Giacca M., Fanin R. et al. MDR-1 gene amplification in acute lymphoblastic leukemia prior to antileukemic treatment // *British Journal of Hematology.* – 1991. – N 78(2). – P. 288 – 289.
190. Miller K., Mueller W., Winkler L. et al. Mitotic disturbance associated with mosaic aneuploidies // *Human Genetics.* – 1990. – V. 84, N 4. – P. 361 – 364.
191. Miniou P., Jeanpierre M., Bouchis D. et al. Alpha-satellite DNA methylation in normal individuals and in ICF patients: heterogeneous methylation in normal individuals and in ICF patients: heterogeneous methylation of constitutive heterochromatin in adult and fetal tissues // *Human Genetics.* – 1997. – V. 99, N 6. – P. 738 – 745.
192. Mitchell A., Jeppesen P., Nicol L. et al. Epigenetic control of mammalian centromere protein binding: does DNA methylation have a role? // *Journal of Cell Science.* – 1996. – N 109(9). – P. 2199 – 2206.
193. Mitchelmore C. E., Troelsen J. T., Sjoestroem H., Noren O. The HOXC11 homeodomain protein interacts with the lactase-phlorizin hydrolase promoter and

- stimulates HNF1alpha-dependent transcription // *Journal of Biological Chemistry*. - 1998. – N 273. – P. 13297 — 13306.
194. Mitelman F. *Catalog of Chromosome Aberrations in Cancer*. Ed. 5. - New York: Wiley-Liss, 1994. – 50 p.
195. Mitelman F., Heim S. Quantitative acute leukemia cytogenetics // *Genes, Chromosomes & Cancer*. – 1992. – N 5(1). – P. 57 – 67.
196. Mitelman F., Mertens F., Johansson B. A breakpoint map of recurrent chromosomal rearrangements in human neoplasia // *Nature Genetics*. – 1997. – N 15. – P. 417 – 474.
197. Moorhead P. S., Heyman A. Chromosome studies of patients with Alzheimer disease // *American Journal Medical Genetic*. – 1993. – V. 14, N 3. – P. 545 – 556.
198. Moorman A. V. Prognostic effect of chromosomal abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results from the UK Medical Research Council ALL97/99 randomised trial // *The Lancet Oncology*. – 2010. – Vol. 11, Issue 5. – P. 429 – 438.
199. Morgan G., Cotter F., Katz F. et al. Breakpoints at 11q23 in infant leukemia with the t(11;19) (q23; p13) are clustered // *Blood*. – 1992. – N 80(9). – P. 2172 – 2175.
200. Mrozek K., Bloomfield C. D. *Cytogenetics of non-Hodgkin's lymphoma and Hodgkin's disease* // *Neoplastic Diseases of Blood*. – New York: Churchill Livingstone, 1996. – P. 835 - 862.
201. Murphy S. B. Classification, staging and end results of treatment of childhood non-Hodgkins-lymphomas: dissimilarities from lymphomas in adults // *Seminar Oncology*. - 1980. – V. 7. – P. 332.
202. Murrey A. A snip separates sisters // *Nature*. – 1999. – V. 400. – P. 19 – 20.
203. Murthy S., Prabhara K. Mitotic disturbances associated with inversion 9qh. A case report // *Annals of Genetic*. – 1990. – V. 33, N 3. – P. 169 – 172.
204. Nazareth L., Thompson E. Leukemic cell apoptosis caused by constitutively active mutant glucocorticoid receptor fragments // *Recent Progress in Hormone Research*. – 1995. – V. 50. – P. 417 – 421.

205. Nowell P. C., Croce C. M. Chromosome translocations and oncogenes in human lymphoid tumors // *The American Journal of Clinical Pathology*. – 1990. - N 94. – P. 229 – 237.
206. Numata S., Kato K., Horibe K. et al. New E2A/PBX1 fusion transcript in a patient with t(1;19) (q23;p13) acute lymphoblastic leukemia // *Leukemia*. – 1994. – N 8(4). – P. 587 – 594.
207. Nylund S., Ruutu T., Saarinen U. et al. Detection of minimal residual disease using fluorescence DNA in situ hybridization: a follow-up study in leukemia and lymphoma patients // *Leukemia*. – 1994. – N 8(4). – P. 587 – 594.
208. Offit K., Chaganti R. S. K. Chromosomal aberrations in non-Hodgkin's lymphoma // *Biologic and clinical correlations. Hematology / Oncology Clinics of North America*. – 1991. - N 5. – P. 853 - 869.
209. Orr-Weaver T. L. The difficulty in separating sisters // *Science*. – 1999. – V. 285. – P. 344 – 345.
210. Paietta E., Gucalp R., Wiernik P. et al. Monosomy 7 in multilineage and acute lymphoblastic leukemia // *British Journal of Hematology*. – 1991. – N 79(2). – P. 152 – 155.
211. Palau F., Prieto F., Badia L. et al. Chromosome 5 abnormalities in acute lymphoblastic leukemia // *Cancer Genetic and Cytogenetics*. – 1991. – N 52(2). – P. 173 – 179.
212. Parry E. Chromosome segregation and aneuploidy // *Mutagenesis*. – 1995. – N 10(6). – P. 561 – 563.
213. Pathak S. Centromere or telomere: who is boss? // *Anticancer research*. – 1995. – P. 173 – 179.
214. Pei L. Genomic organization and identification of an enhancer element containing binding sites for multiple proteins in rat pituitary tumor-transforming gene // *Journal of Biological Chemistry*. – 1998. – V. 273, N 9. – P. 5219 – 5225.
215. Pei L. Pituitary tumor-transforming gene protein S10 and a novel human homologue of DNA in testicular cells // *Journal of Biological Chemistry*. – 1999. – V. 274, N 5. – P. 3151 – 3158.

216. Peinemann F., Bartel C., Grouven U. First-line allogeneic hematopoietic stem cell transplantation of HLA-matched sibling donors compared with first-line ciclosporin and/or antithymocyte or antilymphocyte globulin for acquired severe aplastic anemia // The Cochrane database of systematic reviews. - 2013. – Vol. 7. – P. 32 – 56.
217. Pennisi E. Cell division gatekeepers identified // Science. – 1998. – V. 279. – P. 477 – 478.
218. Perry C., Eldor A., Soreq H. Runx1/AML1 in leukemia: disrupted association with diverse protein partners // Leukemia Research. - 2002. - N26 (3). - P. 221 – 228.
219. Petrucci M., De Felice L., Riccardi M. et al. Stem cell factor and PIXY-321 in acute lymphoblastic leukemia: in vitro study on proliferative effects and apoptosis // Cytokines & Molecular Therapy. – 1996. – N 2(4). – P. 225 – 230.
220. Pluta A. F., McKay A. M., Ainsztein A. M., Goldberg I. G., Earnshaw W. C. The Centromere: Hub of Chromosomal Activities // Science. - 1995. – V. 270 (5242). – P. 1591 – 1594.
221. Preudhome C., Dervite I., Wattei E. et al. Clinical significance of p53 mutation in newly diagnosed Burkitt's lymphoma and acute lymphoblastic leukemia: a report of 48 cases // Journal of Clinical Oncology. – 1995. – N 13(4). – P. 812 – 820.
222. Priest J., Blakston R., Pearse L. et al. Molecular evidence for true isochromosome 21q // Human Genetic. – 1988. – V. 81, N 1. – P. 1 – 3.
223. Pui C., Crist W. Cytogenetic abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia correlates with clinical feature and treatment outcome // Leukemia & Lymphoma. – 1992. – N 7(4). – P. 259 – 274.
224. Pui C. H., Jeha S. New therapeutic strategies for the treatment of acute lymphoblastic leukemia // Nature Reviews Drug Discovery. – 2007. – vol. 6 (2). – P. 149 - 165.
225. Rabbitts T. H. Chromosomal translocations in human cancer // Nature. – 1994. - N 372. – P. 143 - 149.
226. Raimondi S., Robertson P., Pui C. et al. Hyperdiploid (47 – 50) acute lymphoblastic leukemia in children // Blood. – 1992. – N 79(12). – P. 3245 – 3252.

227. Rao N., Joshi N., Shinde S. et al. Premature separation of centromere and aneuploidy: an indicator of high risk in unaffected individuals from familial breast cancer families? // *European Journal of Cancer Prevention*. – 1996. – N 5(5). – P. 343 – 350.
228. Rasool O., Heyman M., Brandter L. et al. P15ink4B and p16ink4 gene inactivation in acute lymphoblastic leukemia // *Blood*. – 1995. – N 85(12). – P. 3431 – 3436.
229. Rattner J., Hendzel M., Furbee C. et al. Topoisomerase II α is associated with the mammalian centromere in a cell cycle- and species-specific manner and is required for proper centromere and kinetochore structure // *Journal of Cell Biology*. – 1996. – N 134(5). – P. 1097 – 1107.
230. Ravandi F., Kebriaei P. Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia // *Hematology & Oncology Clinics of North America*. – 2014. - Volume 23, Issue 5. – P. 1116 – 1126.
231. Reardon D., Hanson C., Roth M. et al. Lineage switch in Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia // *Cancer*. – 1994. – N 73(5). – P. 1526 – 1532.
232. Rechavi G., Bercowicz M., Rosner E. et al. Chromosomal aberrations suggestive of mutagen related leukemia after 21-years of «therapeutic» random exposure // *Cancer Genetic & Cytogenetics*. – 1990. – V. 48, N 1. – P. 125 – 130.
233. Reiter A., Schrappe M., Ludwig W. D. et al. Favorable outcome of B-cell acute lymphoblastic leukemia in childhood: a report of three consecutive studies of the BFM group // *Blood*. – 1992. - N 80 (10). – P. 2471 - 2478.
234. Rey S., Ponnathur V., Huang Y. et al. 1- β -D-arabinofuranosylcytosine-, mitoxantrone- and paclitaxel-induced apoptosis in HL-60 cells: improved method for detection of internucleosomal DNA fragmentation // *Cancer Chemotherapy & Pharmacology*. – 1994. – N 34(5). – P. 365 – 371.
235. Rezk S. A., Zhao X., Weiss L. M. et al. Epstein-Barr virus (EBV)-associated lymphoid proliferations, a 2018 update // *Human Pathology*. - 2018. – V. 79. – P. 18 – 41.

236. Rivera H., Dominigues M. C-anaphase versus premature centromere division // *Human Genetic.* – 1992. – N 90(1-2). – P. 187 – 188.
237. Romana S., Mauchauffe M., Le Coniat M. The t(12; 21) of acute lymphoblastic leukemia results in a tel-AML1 gene fusion // *Blood.* – 1995. – N 85(12). – P. 3662 – 3670.
238. Rovira C., Edstrom J. Centromeric polymerase III transcription units in *Chironomus pallidivittatus* // *Nucleic Acids Research.* – 1996. – N 24(9). – P. 1662 – 1668.
239. Rowley J. D. Chromosome studies in the non-Hodgkin's lymphomas: the role of the 14;18 translocation // *American Society of Clinical Oncology.* – 1988. - V. 6, N 5. – P. 919 – 925.
240. Rudd N. L., Teshima I. E., Martin R H. et al. A dominantly inherited cytogenetic anomaly: a possible cell division mutant // *Human Genetic.* – 1983. – V. 65, N 5. – P. 117 – 121.
241. Russo C., Carroll A., Kohler S. et al. Philadelphia chromosome and monosomy 7 in childhood acute lymphoblastic leukemia: a pediatric oncology group study // *Blood.* – 1991. – N 77(5). – P. 1050 – 1056.
242. Saes C., Japon M., Rumos F. et al. Hpttg is over-expressed in pituitary adenomas and other primary epithelial neoplasia // *Oncogene.* – 1999. – V. 18, N 39. – P. 5473 – 5476.
243. Sandberg A. Chromosome abnormalities in human leukemia // *Mutation research & fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis.* – 1991. – N 247(2). – P. 231 – 240.
244. Sanger W. G., Armitage J. O., Bridge J. A. et al. Initial and subsequent cytogenetic studies in malignant lymphoma // *Cancer.* – 1987. - N 60. – P. 3014 – 3019.
245. Sanyal M., Tung J. W., Karsunky H., Zeng H., Selleri L., Weissman I. L., Herzenberg L. A., Cleary M. L. B-cell development fails in the absence of the Pbx1 proto-oncogene // *Blood.* – 2007. - N 109 (10). – P. 4191 – 9.
246. Scappaticca S., Cerimele D., Tondi M. et al. Chromosome abnormalities in tuberous sclerosis // *Human Genetic.* – 1998. – V. 79, N 2. – P. 151 – 156.

247. Scheinberg P., Young N. S. How I treat acquired aplastic anemia // *Blood*. - 2012. V. 120 (6). – P. 1185 – 96.
248. Schiffer D., Cavalla P., Chio A. et al. Tumor cell proliferation and apoptosis in meduloblastoma // *Acta Neuropathologia*. – 1999. – N 87(4). – P. 362 – 370.
249. Schoch C., Rieder H., Freud M. et al. Twenty-three cases of acute lymphoblastic leukemia with translocation t(4;11) (q21; q23): the implication of additional chromosomal aberrations // *Annals of Hematology*. – 1995. – N 76(7). – P. 167 – 169.
250. Schuler D., Szende B. Apoptosis and acute lymphoblastic leukemia in children // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 1997. – N 824. – P. 28 – 37.
251. Schwab M., Cristian P., Amler L. C. Genomic instability in 1p and human malignancies // *Genes, Chromosomes and Cancer*. – 1996. - N 16. – P. 211 - 229.
252. Secker-Walker L. M., Cooke H. M., Browett P. J. et al. Variable Philadelphia breakpoints and potential lineage restriction of bcr rearrangement in acute lymphoblastic leukemia // *Blood*. – 1988. - N 72 (2). – P. 784 - 791.
253. Shah N. P., Witte O. N., Denny C. T. Characterization of the BCR promoter in Philadelphia chromosome-positive and -negative cell lines // *Molecular and Cellular Biology*. - 1991. – N 11. – P. 1854 - 1860.
254. Shiah S., Chuan S., Chau Y. et al. Activation of c-jun NH₂-terminal kinase and subsequens CPP32/Yamma during topoisomerase inhibitor β -lapachone-induced apoptosis through an oxidation dependent pathway // *Cancer Research*. – 1999. – N 59(2). – P. 391 – 398.
255. Shiraishi Y., Taguchi H., Niiya K. Diagnostic and prognostic significance of chromosome abnormalities in marrow and mitogen response of lymphocytes of acute nonlymphoblastic leukemia // *Cancer Genetic & Cytogenetics*. – 1982. – V. 5, N 1. – P. 1 – 24.
256. Shtil A., Mandlekar S., Yu R. Differential regulation of mitogen-active protein kinasis by microtubulin-binding agents in human breast cancer cells // *Oncogene*. – 1999. – N 18(2). – P. 377 – 384.

257. Sirenko A., Akopian G. Premature centromere division of the chromosomes at the different stages of acute lymphoblastic leukemia in infants // *Pediatric research*. - 1997. - 41(5). - P. 774.
258. Sirenko A. G., Acopian G. R., Petrukh A.V. Premature centromere division of metaphase chromosome and blood cell differentiation // *Cytometry*. - 1996. - N8. - P.99.
259. Sirenko A. G., Akopian G. R. PCD-phenomenon and blood cell differentiation // *Abstr. XII meeting of the International society of haematology (European and African Division. Istanbul, Turkiye, sept. 3-8 1995. - Istanbul, 1995. - P.29.*
260. Sithanandam G., Kolch W., Duh F. M., Rapp U. R. Complete coding sequence of a human B-raf cDNA and detection of B-raf protein kinase with isozyme specific antibodies // *Oncogene*. - 1990. - N 5 (12). – P. 1775 – 80.
261. Skarin A. T., Dorfman D. M. Non-Hodgkin's lymphomas. Current classification and management // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. - N 47. – P. 351 - 372.
262. Sladka M., Otova B. Chromosome 11 participation in acute lymphoblastic leukemia in Sprague-Dawley rats // *Folia Biologica*. – 1994. – N 40(4). – P. 173 – 183.
263. Smithgall T. E., Rogers J. A., Peters K.L., Li J., Briggs S. D., Lionberger J. M., Cheng H., Shibata A., Scholtz B., Schreiner S., Dunham N. The c-Fes family of protein-tyrosine kinases // *Critical Reviews in Oncogenesis*. - 1998. - N9 (1). – P. 43 – 62.
264. Sotomatsu M., Hayashi Y., Kawamura M. et al. Establishment of new human pre-B acute lymphoblastic leukemia cell line (KMO-90) with t(1;19) carrying p53 gene alterations // *Leukemia*. – 1993. – N 7(10). – P. 1615 – 1620.
265. Spina D., Leoncini L., Megha T. et al. Growth patterns of diffuse non-Hodgkin's lymphomas estimated from mitotic and apoptotic indices // *International Journal of Cancer*. – 1997. – N 73(2). – P. 178 – 183.
266. Stok W., Thirman M., Dodge R. et al. Detection of MLL gene rearrangement in adult acute lymphoblastic leukemia. A Cancer and leukemia Group B study // *Leukemia*. – 1994. – N 8(11). – P. 1918 – 1922.
267. Stone J., Sandberg A. Sex chromosome aneuploidy and aging // *Mutation Research*. – 1995. – N 338 (1 – 6). – P. 107 – 113.

268. Stursberg S., Riwar B. Cloning and characterization of mammalian SMC1 and SMC3 genes and proteins, componentus of the DNA recombination complex RC-1 // *Gene*. – 1999. – V. 228, N 1 – 2. – P. 1 – 12.
269. Taub J., Ravindranath Y., Mohamed A. et al. Acute lymphoblastic leukemia in 46,XX/47,XXY mosaic male: clonal origin of leukemia in the XY-bearing stem-cell line // *American Journal of Diseases of Children*. – 1993. – N 147(11). – P. 1254 – 1255.
270. Theodossiou C., Scalise A., Troy K. et al. Del (5q) in acute lymphoblastic leukemia with biphenotypic and early progenitor phenotype // *Cancer Genetics & Cytogenetics*. – 1992. – N 63(2). – P. 89 – 94.
271. Thirman M., Gill H., Burnett R. et al. Rearrangement of the MLL gene in acute lymphoblastic and acute myeloblastic leukemia with t(11q23) chromosomal translocations // *New England Journal of Medicine*. – 1993. N 329(13). – P. 909 – 914.
272. Tisdale J. F., Maciejewski J. P., Nunez O. et al. Late complications following treatment for severe aplastic anemia (SAA) with high-dose cyclophosphamide (Cy): follow-up of a randomized trial // *Blood*. - 2002. – V. 100 (13). – P. 4668 – 4670.
273. Uhlmann F., Lottspeich F. Sister-chromatid separation at anaphase onset is promoted by cleavage of the cohesion submit Scc1 // *Nature*. – 1999. – V. 400. – P. 37 – 42.
274. Urashima M., Iori H., Fujisava K. Establishment and characteristics of a T-cell acute lymphoblastic leukemia cell line JK-T1 with a chromosomal translocation between 8q24 and 14q13 // *Cancer Genetics & Cytogenetics*. – 1992. – N 64(1). – P. 86 – 90.
275. Vann Etten R. The molecula pathogenesis of the Philadelphia-positive leukemia: implications for diagnosis and therapy // *Cancer Treatment & Research*. – 1993. – V. 64. – P. 295 – 325.
276. Vig B. Siquence of centromere separation: occurrence, possible, significance and control // *Cancer Genetic & Cytogenetics*. – 1983. – N 8. P. 249 – 274.

277. Vig B. Out-of-phase separation of a G-group chromosome in a woman with chronic myelogenous leukemia // *Cancer Genetic & Cytogenetics*. – 1984. – V. 12, N 2. – P. 167 – 169.
278. Vig B. The centromere: kinetochore complex // *South-east Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health*. – 1995. – N 26(1). – P. 68 – 76.
279. Vig B., Sterners K., Paveletz N. Centromere structure and function in neoplasia // *Cancer Genetic & Cytogenetics*. – 1989. – N 43. – P. 151 – 178.
280. Vojdani A., Mordechai E., Brautbar N. et al. Abnormal apoptosis and cell cycle progression in humans exposed to methyl tertiary-butyl ether and benzene contaminating water // *Human & Experimental Toxicology*. – 1997. – N 16(9). – P. 485 – 494.
281. Wang D., Johnston C., Barros D'Sa A. et al. Expression of apoptosis-suppressing gene bcl-2 in human carotid body tumors // *Journal of Pathology*. – 1997. – N 183(2). – P. 218 – 221.
282. Watanabe Y., Nurse P. Cohesin Rec8 required for reductional chromosome segregation at meiosis // *Nature*. – 1999. – V. 400. – P. 461 – 464.
283. Westhorpe F. G., Straight A. F. The Centromere: Epigenetic Control of Chromosome Segregation during Mitosis // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. – 2015. – V. 7(1). - P. 015818.
284. Wetzler M., Dodge R. K., Mrózek K. et al. Prospective karyotype analysis in adult acute lymphoblastic leukemia: the cancer and leukemia Group B experience // *Blood*. – 1999. - N 93 (11). – P. 3983 - 3993.
285. Wodzinski M. A., Watmore A. E., Lilleyman J. S. et al. Chromosomes in childhood acute lymphoblastic leukemia: karyotypic patterns in disease subtypes // *Journal Clinic Pathology*. – 1991. – V. 44(1). – P. 48 – 51.
286. Woo J. S., Alberti M. O., Tirado C. A. Childhood B-acute lymphoblastic leukemia: a genetic update // *Experimental Hematology & Oncology*. - 2014. - N 3 (16). – P. 66 – 86.

287. Xia Y. Brown L., Tsan J. et al. The translocation t(1;14) (p34;q19) in human T-cell leukemia: chromosome breakage 25 kilobase pairs down-stream of the TAL1 protooncogene // *Genes, Chromosomes & Cancer*. – 1992. – N 4(3). – P. 211 – 216.
288. Yigou Hu Acute lymphoblastic leukemia: genetic events and molecular signatures // *American journal of biomedical sciences*. – 2014. – V. 6(14). – P. 238 – 253.
289. Yunis J. J., Oken M. M., Kaplan M. E., Ensrud K. M., Howe R. B., Theologides A. Distinctive chromosomal abnormalities in histologic subtypes of non-Hodgkin's lymphoma // *The New England Journal of Medicine*. – 1982. - N 307. – P. 1231 - 1236.
290. Zamoyska R., Basson A., Filby A., Legname G., Lovatt M., Seddon B. The influence of the src-family kinases, Lck and Fyn, on T cell differentiation, survival and activation // *Immunological Reviews*. - 2003. – N 191. – P. 107 – 118.
291. Zhang P., Wong C., Liu D. et al. p21(CIP1) and p57(KIP2) control muscle differentiation at the myogenin step // *Genes & Development*. – 1999. – N 13(2). – P. 213 – 224.
292. Zhang S. Centromere spreading and out-of-phase chromatid separation in Burkitt's lymphoma and nasopharyngeal carcinoma // *Cancer Genetic & Cytogenetics*. – 1986. – N 23(3). – P. 211 – 217.
293. Zhong S., Salomoni P., Pandolfi P. P. The transcriptional role of PML and the nuclear body // *Nature Cell Biology*. — 2000. — V. 2, N 5. — P. 85 — 90.
294. Zollino M., Leone G., Sica S. et al. Trisomy 4 in acute lymphoblastic leukemia // *Cancer Genetic & Cytogenetic*. – 1993. – N 65(2). – P. 115 – 119.
295. Zou H., McGarry T. Identification of a variable sisters-chromatid separation inhibitor involved in transformation and tumorigenesis // *Science*. – 1999. – V. 285, N 5426. – P. 418 – 422.
296. Zou H., Huang P., Robertson L. et al. High molecular weight DNA fragmentation: a critical event in nucleoside analogue-induced apoptosis in leukemia cells // *Clinical Cancer Research*. – 1995. – V. 1, N 2. – P. 1005 – 1013.

297. Zou D., Ma M. S., Zhao R. Z., Li M. Y. Centromere separation and centromeric aberrations in ovarian tumors // *Cancer Genetic & Cytogenetics*. – 1995. – V. 80, N 1. – P. 63 – 65.
298. Zuerman J. Roberts syndrome. I. Cytological evidence for a disturbance in chromatid pairing // *Clinical Genetic*. – 1979. – V. 16, N 6. – P. 441 – 447.
299. Zuhao Y., Hsu T., Wang R. Exaggerated precocious centromere separation in cells of a human breast cancer line treated with a green tea extract // *International Journal Oncology*. – 1998. – V. 12, N 3. – P. 617 – 620.
300. Zuu Y., Hsu T., Wang R. et al. Cytogenetics and prognosis in childhood lymphoblastic leukemia results of MRC UK ALL X // *British Journal Hematology*. – 1997. – V. 99, N 1. – P. 93 – 100.