

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ *CYP3A5* И *hOCT1* У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ МИЕЛОЛЕЙКОЗОМ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

Сафуанова Г. Ш.^{1,*}, Рябчикова Н. Р.¹, Хуснутдинова Э. К.², Каримов Д. О.³, Миннихметов И. Р.^{2,4}

¹ ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 450008, Уфа, Россия

² Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук», 450054, Уфа, Россия

³ ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия

⁴ ГБУЗ «Республиканский медико-генетический центр», 450076, Уфа, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. У больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) в зависимости от наличия или отсутствия мутаций в гене *BCR-ABL*, а также от типа мутаций, наблюдается различный терапевтический эффект при лечении ингибиторами тирозинкиназ (ИТК).

Цель работы: установить прогностическое значение полиморфных вариантов генов, участвующих в метаболизме ИТК: *CYP3A5* и *hOCT1* у больных ХМЛ в республике Башкортостан (РБ).

Материал и методы. Генетические исследования проведены у 114 больных с клинически и цитогенетически установленным диагнозом хронического миелолейкоза (ХМЛ). Мужчин было 55, женщин 59, медиана возраста составила 43 года (от 14 до 76 лет). Все больные получали лечение ИТК согласно национальным клиническим рекомендациям и критериям European Leukemia Net. Для сравнения больных с различной эффективностью лечения была сформирована группа из 64 больных, резистентных к проводимой терапии. Сравнимые группы были сопоставимы по полу и возрасту. Анализ полиморфных ДНК-локусов генов *hOCT1* и *CYP3A5* осуществляли методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК и ПДРФ-анализом с последующим электрофорезом в 7–8 % полиакриламидном геле.

Результаты. Не было обнаружено выраженных различий в распределении частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs776746 гена изофермента *P3A5* цитохрома *p450* (*CYP3A5*) ($p > 0,05$) между больными ХМЛ, у которых была разная эффективность лечения ИТК. При сравнении распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs683369 в гене переносчике органических катионов (*hOCT1*) обнаружено, что генотип $*C^*C$ статистически значимо чаще выявлялся у больных с оптимальным ответом на лечение по сравнению с больными, резистентными к лечению. Частота встречаемости генотипа $*C^*G$ была почти в два раза выше у больных ХМЛ, резистентных к терапии, — 42,86 %, по сравнению с группой больных с оптимальным ответом на лечение ИТК — 21,88 %.

Заключение. У больных ХМЛ исследование полиморфного локуса rs683369 гена *hOCT1* в отличие от rs776746 гена *CYP3A5* имеет прогностическое значение в оценке эффективности лечения ИТК. Частота встречаемости генотипа $*C^*G$ была значимо выше у больных ХМЛ, резистентных к терапии ИТК, генотип G^*G^* встречался реже и был ассоциирован с наименьшей продолжительностью жизни, а наличие генотипа C^*C^* оказалось благоприятным для общей выживаемости больных.

Ключевые слова: хронический миелолейкоз, эпидемиология, мутации, полиморфизм генов *CYP3A5* и *hOCT1*, ингибиторы тирозинкиназ, резистентность, прогноз, выживаемость

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что данная работа, ее тема, предмет и содержание не затрагивают конкурирующих интересов.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ: 18-29-14083 мк «Комплексное исследование проблемы правового регулирования вопросов пресимптоматической, пренатальной и преимплантационной ДНК-диагностики наследственных заболеваний человека».

Благодарность. Авторы благодарят гематологов республики Башкортостан за помощь в проведении исследования.

Для цитирования: Сафуанова Г.Ш., Рябчикова Н.Р., Хуснутдинова Э.К., Каримов Д.О., Миннихметов И.Р. Прогностическое значение полиморфных вариантов генов *CYP3A5* и *hOCT1* у больных хроническим миелолейкозом в Республике Башкортостан. Гематология и трансфузиология. 2019; 64(2): 165–174. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-165-174>

PROGNOSTIC VALUE OF *CYP3A5* AND *hOCT1* POLYMORPHIC GENE VARIANTS IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA IN THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN

Safuanova G. Sh.^{1,*}, Ryabchikova N. R.¹, Khusnutdinova E. K.², Karimov D. O.², Minniakhmetov I. R.^{2,4}

¹ Bashkir State Medical University, 450008, Ufa, Russian Federation

² Institute of Biochemistry and Genetics of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, 450054, Ufa, Russia

³ Ufa Scientific Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology, 450106, Ufa, Russia

⁴ Republican Medical Genetic Centre, 450076, Ufa, Russia

ABSTRACT

Introduction. Patients suffering from chronic myeloid leukemia (CML) demonstrate various degrees of therapeutic effect after treatment using tyrosine kinase inhibitors (TKI). The response is determined by the presence or absence of mutations in the *BCR-ABL* gene, as well as by the mutation type.

Aim. To establish the prognostic value of polymorphic variants of genes involved in the metabolism of TKI — *CYP3A5* and *hOCT1* — in patients with CML in the Republic of Bashkortostan (RB).

Materials and methods. A series of genetic studies was performed in 114 patients with a clinically and cytogenetically established diagnosis of chronic myeloleukemia (CML), among whom 55 and 59 were men and women, respectively, with the median age of 43 years, from 14 to 76 years. All the patients received TKI treatment according to national clinical guidelines and European Leukemia Net criteria. In order to compare patients with different treatment efficiencies, a group of 64 patients resistant to the therapy was formed. The groups under comparison were similar in gender and age. An analysis of polymorphic DNA loci of the *hOCT1* and *CYP3A5* genes was carried out using polymerase chain reaction of DNA synthesis and RFLP analysis followed by electrophoresis in 7–8 % polyacrylamide gel.

Results. No significant differences were found in the frequency distribution of alleles and genotypes of the rs776746 polymorphic locus of the isoenzyme *P3A5* cytochrome *p450* (*CYP3A5*) gene ($p > 0.05$) between CML patients with different TKI treatment efficiencies. When comparing the frequency distribution of alleles and genotypes of the rs683369 polymorphic variant in the (*hOCT1*) organic cation carrier gene, the **C*C* genotype was established to be statistically significantly more frequent in patients with an optimal response to treatment compared to those treatment resistant. The frequency of occurrence of the **C*G* genotype was almost two times higher in CML patients resistant to therapy and comprised 42.86 %, compared to the group of patients with an optimal response to TKI treatment with the value of 21.88 %.

Conclusions. In CML patients, in contrast to rs776746 of the *CYP3A5* gene, the study of the rs683369 polymorphic locus of the *hOCT1* gene has a prognostic value for assessing the efficacy of TKI treatment. The frequency of occurrence of the **C*G* genotype was significantly higher in CML patients resistant to TKI therapy, while the *G*G** genotype was less common and associated with the shortest life expectancy. The presence of the *C*C** genotype was favourable for the overall survival of patients.

Keywords: chronic myeloleukemia, epidemiology, mutations, CYP3A5 and hOCT1 gene polymorphism, tyrosine kinase inhibitors, resistance, prognosis, survival

Conflict of interests: the authors declare that this work, its subject and content involve no competing interests.

Financial disclosure: this research was supported by the RFBR grant No. 18-29-14083 mk "A comprehensive study of the problem of legal regulation for issues of pre-symptomatic, prenatal and preimplantation DNA diagnostics of hereditary human diseases".

Acknowledgments. The authors express their sincere gratitude to the hematologists of the Republic of Bashkortostan for their assistance in conducting the study.

For citation: Safuanova G. Sh., Ryabchikova N.R., Khusnutdinova E.K., Karimov D.O., Minniakhmetov I.R. Prognostic value of CYP3A5 and hOCT1 polymorphic gene variants in patients with chronic myeloid leukemia in the republic of Bashkortostan. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2019; 64(2):165–174 [in Russian]. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2019-64-2-165-174>

Введение

В настоящее время накоплено большое количество данных о распространенности, заболеваемости, принципах диагностики и лечения больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) [1]. Успехи терапии позволили существенно изменить продолжительность и качество жизни больных ХМЛ и даже добиваться их излечения [2]. Однако существует проблема развития резистентности и прогрессии заболевания [3–6]. Проводятся исследования по изучению молекулярно-генетических основ ХМЛ, прогноза эффективности таргетной терапии на основании биологических характеристик ХМЛ и понимания молекулярно-биологических механизмов развития резистентности лечения [7–10]. Показано, что при наличии мутаций у больных с ХМЛ в 20 % случаев могут встречаться дополнительные хромосомные aberrации или комплексные аномалии, что значительно ухудшает 10-летнюю выживаемость и летальность у больных ХМЛ по сравнению с больными, не имеющими этих нарушений [11].

ХМЛ возникает в результате приобретенного повреждения хромосомного аппарата одной полипотентной стволовой клетки костного мозга. Причина такого повреждения хромосом у больных ХМЛ пока остается неизвестной [12–15]. Механизмом, обуславливающим развитие заболевания, является реципрокная транслокация t(9;22), (q34;q11), объединяющая гены тирозинкиназы *ABL1* (хромосома 9) с геном *BCR* (хромосома 22) с образованием филадельфийской хромосомы (Ph+) [16]. При этом химерный белок BCR-ABL1 обладает выраженной тирозинкиназной активностью, блокирует апоптоз и стимулирует автономную пролиферацию клеток [14, 17, 18]. На долю ХМЛ приходится 20 % от всех лейкозов у больных в возрасте 30–70 лет [6]. Ежегодно в России регистрируется около 2500 новых случаев ХМЛ (1–2 случая на 100 тыс. населения) [19]. Стандартизованная заболеваемость по 6 регионам России составляет 0,7–0,8 случаев на 100 000 населения [20].

В исследованиях установлены очень хорошие результаты лечения ингибиторами тирозинкиназ (ИТК), если к 12 месяцам терапии ИТК 1 линии достигается оптимальный ответ, то дальнейшая прогрессия исключается [15, 21]. Однако по мере накопления ко-

личества наблюдений становится очевидным, что число больных с резистентностью к иматинибу увеличивается с каждым годом [22]. Примерно у 15–30 % больных ХМЛ наблюдается первичная или вторичная резистентность к лечению иматинибом мезила-том [23–27]. Учитывая, что у больных ХМЛ, в зависимости от наличия или отсутствия мутаций в гене *BCR-ABL*, а также от типа мутаций, наблюдается различный терапевтический эффект на ИТК, актуальным является ранняя идентификация мутаций гена *BCR-ABL*, что позволяет своевременно определить факторы риска неблагоприятного прогноза течения заболевания, ответ на проводимую терапию и назначить адекватное лечение с целью получения ее максимальной эффективности [11]. Резистентность к терапии может проявляться и при отсутствии мутаций киназного домена, следовательно, есть необходимость изучения новых механизмов образования резистентного к лечению фенотипа, например генов, участвующих в метаболизме ИТК, наличия aberrантной экспрессии онкогенов и супрессоров опухолевого роста у больных ХМЛ [26, 28]. Поскольку в исследованиях, посвященных изучению однонуклеотидных полиморфизмов генов (SNR) при ХМЛ, чаще обнаруживалась ассоциация полиморфизма гена *CYP3A5* (rs 7776746) и гена *hOCT1* M408V (rs628031) с ответом на лечение иматинибом, была изучена связь этих полиморфизмов с резистентностью к терапии и общей выживаемостью больных в многонациональной Республике Башкортостан (РБ) [29–31]. Однако изучение влияния этногенетических особенностей больных на полученные результаты не проводилось в связи с малочисленностью выборки. Все это свидетельствует о необходимости продолжения исследований в этой области для более полного понимания патогенетических механизмов развития заболевания и персонализированного подхода к проводимому лечению в различных регионах.

Цель настоящей работы — установить прогностическое значение полиморфных вариантов генов, участвующих в метаболизме ИТК, *CYP3A5* и *hOCT1* у больных ХМЛ, и оценить их влияние на эффективность лечения и продолжительность жизни.

Материал и методы

В работе использованы образцы ДНК, выделенные из периферической крови 114 больных (55 мужчин и 59 женщин), проживающих в Республике Башкортостан, с клинически и цитогенетически установленным диагнозом ХМЛ. Все больные получали лечение препаратом ИТК согласно рекомендациям Европейского общества по лечению лейкозов European Leukemia Net (ELN) [15]. В группе больных, включенных в исследование, медиана возраста на момент постановки диагноза составила 43 года (от 14 до 76 лет). На момент исследования у 100 (87,7 %) больных была хроническая фаза ХМЛ, у 11 (9,6 %) больных — стадия акселерации и у 3 (2,6 %) больных — стадия бластного криза. Длительность терапии составила от 6 до 205 мес. (медиана — 65,5 мес.).

Для сравнения больных с различной эффективностью лечения была сформирована группа из 64 больных, резистентных к проводимой терапии. Отсутствие гематологического и цитогенетического ответов после 3, 6, 12 и 18 мес. лечения, а также субоптимальный ответ и потеря уже достигнутого гематологического и цитогенетического ответов рассматривались как проявления резистентности. В эту группу входили 30 (47%) мужчин и 34 (53%) женщины, средний возраст — 46 лет. Сравнимые группы были сопоставлены по полу и возрасту.

Исследование было одобрено этическим комитетом. Больные дали информированное согласие на участие в исследовании.

Анализ полиморфных ДНК-локусов генов *hOCT1* и *CYP3A5* осуществляли методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК и ПДРФ-анализом с последующим электрофорезом в 7–8 % полиакриламидном геле.

Для определения полиморфных вариантов в генах *hOCT1* и *CYP3A5*, использовали метод полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Для амплификации использовали реакционную смесь объемом 25 мкл, которая содержала 2,5 мкл 10xTaq-буфера (67 mM трис-HCl (pH 8,8), 16,6 mM (NH₄)₂ SO₄, 2,5 mM MgCl₂, 0,01% Tween-20), 0,1 мкг геномной ДНК, смесь dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP по 200 мкМ каждого), 1 ед. ДНК-полимеразы *Termus aquaticus* (производства фирмы «Силекс», г. Москва) и 5–10 пМ локуспецифичных олигонуклеотидных праймеров. Результаты амплификации анализировали в 7 % полиакриламидном геле с последующей окраской в растворе бромистого этидия

(конечная концентрация 0,1 мкг/мл) и визуализацией в проходящем УФ-свете при длине волны 312 нм.

После амплификации 10 мкл амплификата обрабатывали 5 единицами соответствующей рестриктазы согласно рекомендациям производителя. Результаты рестрикционного анализа оценивали при проведении электрофореза в 7 % ПААГ с последующим окрашиванием бромистым этидием и визуализации под ультрафиолетовыми лучами. Данные о полиморфных вариантах и названия рестриктаз представлены в таблице 1.

Статистическая обработка полученных данных проводилась на персональном компьютере с использованием программы Microsoft Office Excel и пакета прикладных программ статистической программы Statistica 6.0 for Windows, SAS v.9.3. Для оценки продолжительности жизни в зависимости от генотипа полиморфных локусов генов *CYP3A5* и *hOCT1* был проведен анализ выживаемости методом Каплана — Мейера.

Результаты

При установлении диагноза у всех больных ХМЛ в РБ проведен анализ по критериям риска J. Sokal, Euro [2], с классификацией риска на низкий, промежуточный и высокий (табл. 2).

Таким образом, у больных ХМЛ в РБ выявлялся преимущественно низкий и промежуточный риск прогрессии заболевания. Наблюдение и лечение больных ХМЛ в РБ не выявило каких-либо региональных особенностей заболевания и соответствовало критериям ELN, что позволило организовать диагностику и лечение этой категории больных по общемировым стандартам.

Ранее было показано, что у некоторых больных ХМЛ в РБ мутации киназного домена гена *BCR-ABL* являются одной из основных причин резистентности к терапии иматинибом [10]. Больные с выявленными мутациями исключались из дальнейшего исследования полиморфных вариантов генов.

С целью изучения *BCR-ABL* независимых механизмов резистентности к лечению ИТК у больных ХМЛ в РБ проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs776746, локализованного в интроне 3 (chr7:99108475) гена изофермента P3A5 цитохрома р450 (*CYP3A5*) участвующего в фармакокинетики ИТК. Между больными с разной эффективностью лечения ИТК не было обнаружено выраженных

Таблица 1. Полиморфные варианты генов и названия рестриктаз, использованных при ПДРФ анализе

Table 1. Gene polymorphic variants of genes and restriction endonucleases applied for RFLP analysis

Ген, мкРНК Gene, microRNA	Полиморфный вариант, мутация Polymorphic variant, mutation	Рестриктаза Restriction Endonuclease
<i>hOCT1</i>	rs683369	Pdml (Fermentas)
<i>CYP3A5</i>	rs776746	Sspl (Fermentas)

Таблица 2. Структура больных ХМЛ по критериям риска
Table 2. Structure of patients with CML according to the risk criteria

Риск Risk	J. Sokal [2]		Euro [2]	
	абс. abs.	%	абс. abs.	%
Низкий риск Low-risk	63	34,3	120	65,2
Промежуточный риск Intermediate-risk	81	44,0	51	27,7
Высокий риск High-risk	40	21,7	13	7,1

Таблица 3. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs776746 в гене CYP3A5 у больных ХМЛ
Table 3. Frequency distribution for alleles and genotypes of the CYP3A5 gene rs776746 polymorphic locus in CML patients

Генотип, аллель Genotype, allele		Больные в целом Patients in total	Больные, резистентные к терапии ИТК Patients resistant to TKI therapy	Больные с оптимальным ответом на терапию ИТК Patients with optimal response to TKI therapy
G/G	n_i	81	46	27
	$p_i \pm s_p$	$71,68 \pm 4,24$	$71,88 \pm 5,62$	$73,68 \pm 7,14$
	$\chi^2(P)$		0,007 (0,92)	
G/A	n_i	32	18	11
	$p_i \pm s_p$	$28,32 \pm 4,24$	$28,12 \pm 5,62$	$28,95 \pm 7,36$
	$\chi^2(P)$		0,007 (0,92)	
A/A	n_i	0	0	0
	$p_i \pm s_p$	нет	нет	нет
	$\chi^2(P)$		нет	нет
G	N	113	64	38
	n_i	194	110	65
	$p_i \pm s_p$	$85,84 \pm 2,32$	$85,94 \pm 3,07$	$85,53 \pm 4,04$
	$\chi^2(P)$		0,006 (0,93)	
A	n_i	32	18	11
	$p_i \pm s_p$	$14,16 \pm 2,32$	$14,06 \pm 3,07$	$14,47 \pm 4,04$
	$\chi^2(P)$		0,006 (0,93)	

различий в распределении частот аллелей и генотипов данного полиморфного локуса ($p > 0,05$) (табл. 3).

Анализ распределения у больных ХМЛ частот генотипов полиморфного локуса rs776746 в гене CYP3A5 показал, что с наиболее высокой частотой (71,68 %) встречался гомозиготный генотип *G*G, гетерозиготный генотип *A*G определялся в 28,32 % случаев, гомозиготный генотип *A*A выявлен не был.

Для оценки продолжительности жизни в зависимости от генотипа полиморфного локуса rs776746 гена CYP3A5 был проведен анализ выживаемости с помощью метода Каплана — Мейера (рис. 1). Средняя продолжительность жизни у больных с генотипом GA составила $190,3 \pm 15,1$ мес., с генотипом GG — $154,9 \pm 7,2$ мес. Различия в продолжительности жизни не достигли уровня статистической значимости (лонг-ранг тест, $p = 0,755$).

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs683369 в гене переносчика органических катионов (*hOCT1*) между группами больных с разной эффективностью лечения ИТК показало, что генотип *C*C достоверно чаще выявлялся у боль-

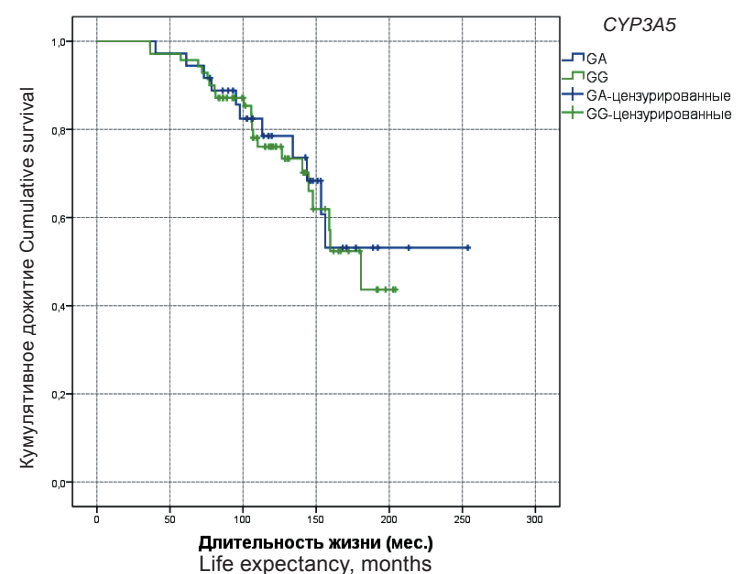


Рисунок 1. Общая выживаемость больных ХМЛ в зависимости от генотипа полиморфного локуса rs776746 гена CYP3A5

Figure 1. The overall survival of CML patients, depending on the genotype of the CYP3A5 gene rs776746 polymorphic locus

ных ХМЛ с оптимальным ответом на лечение — в 75,00 % случаев по сравнению с больными, резистентными к лечению — 53,57 % ($\chi^2 = 3,94$, $p = 0,04$, отношение шансов (ОШ) = 0,38; 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,14–1,00) (рис. 2).

При сравнении распределения частот встречаемости генотипа *C*G, она оказалась почти в два раза выше у больных ХМЛ, резистентных к терапии, — 42,86 % по сравнению с группой больных с оптимальным ответом на лечение ИТК — 21,88 % ($\chi^2 = 3,92$, $p = 0,04$, ОШ = 2,67 (95 % ДИ 0,99–7,21)).

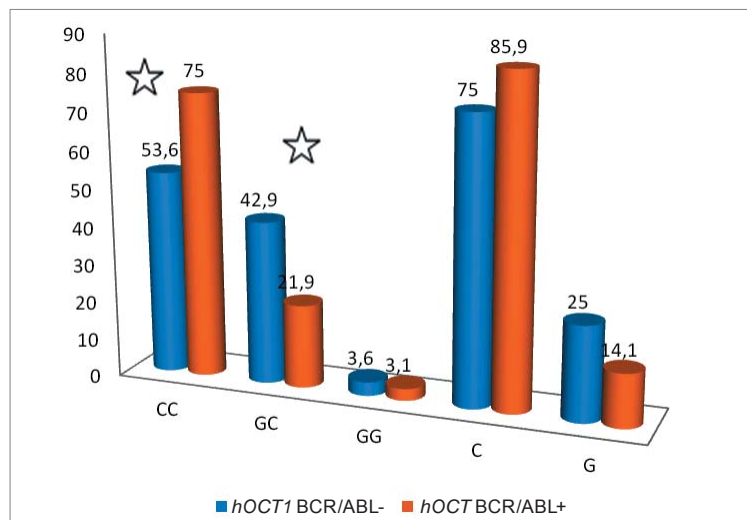


Рисунок 2. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs683369 гена *hOCT1* в выборке больных ХМЛ (больные, резистентные к терапии ИТК — BCR/ABL-; больные с оптимальным ответом на терапию ИТК — BCR/ABL+)

Figure 2. Frequency distribution for alleles and genotypes of the hOCT1 gene rs683369 polymorphic variant in a group of CML patients [BCR/ABL- denotes patients resistant to treatment with TKI; BCR/ABL+ denotes patients with an optimal response to TKI treatment]

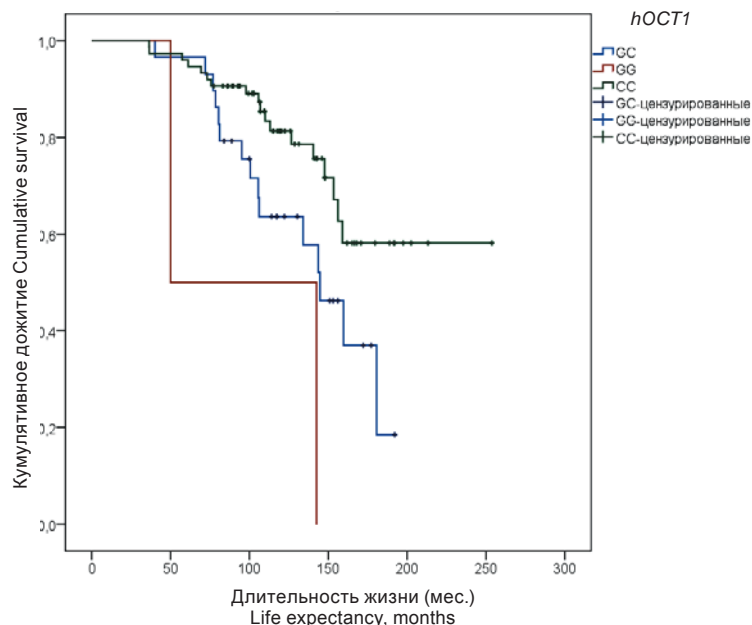


Рисунок 3. Общая выживаемость больных ХМЛ в зависимости от генотипа полиморфного локуса rs683369 гена *hOCT1*

Figure 3. The overall survival of CML patients, depending on the genotype of the *hOCT1* gene rs683369 polymorphic locus

При анализе выживаемости в зависимости от генотипа полиморфного локуса rs683369 гена *bOCT1* показаны статистически значимые различия (лонг-ранг тест, $p = 0,018$) (рис. 3).

Неблагоприятным для продолжительности жизни являлся генотип *GG*, средняя продолжительность жизни при его наличии составила $96,3 \pm 46,3$ мес. Продолжительность жизни у больных с генотипом *GC* занимала промежуточное значение $139,0 \pm 9,2$ мес. Наиболее благоприятным для прогноза являлся генотип *CC*, средняя длительность жизни при его наличии составляла $197,7 \pm 11,0$ мес.

Обсуждение

[illegible]

M351T — 20 % и *H396R* — 2 %. Наиболее высокий (медиана экспрессии 442,3 %) средний уровень экспрессии химерного гена наблюдался у больных с компанд-мутацией *T315I* + *M351T* — 9 %, а также больных с мутацией *M351T* (медиана экспрессии 94,6 %). Причем мутация *M351T* являлась самой распространенной мутацией [9]. По данным литературы [18], частота мутации *M351T* у больных ХМЛ в Германии составляет только 6 %, в Италии и Австралии — до 11 %. В обзоре, посвященном *BCR-ABL* зависимым и независимым механизмам резистентности к лечению ИТК, Е.Ж. Jabbou и соавт. [34] ставят задачи по разработке стратегии лечения при первичной и вторичной устойчивости к современным методам лечения.

Межиндивидуальная вариабельность ответа на лечение среди больных ХМЛ привела к поиску механизмов, ответственных за такую вариабельность. Изучаются *BCR-ABL* независимые механизмы резистентности к лечению ИТК. D. Kim и соавт. [29] показали, что, используя новый подход с оценкой нескольких ген-кандидатов, основываясь на фармакогенетике иматиниба, можно предсказать результаты лечения. В этом исследовании проведен скрининг 16 однонуклеотидных полиморфизмов (SNR) в 5 генах у 229 больных ХМЛ. Установлено, что генотип GG в *ABCG2* (rs2231137), генотип AA в *CYP3A5* (rs 7776746) были в значительной степени ассоциированы с неэффективным лечением иматинибом, а генотип GG в *SLC22A2* (rs683369) в поздней стадии коррелировал с высоким уровнем потери ответа или неудачей терапии [30]. У больных из Малайзии, у которых был выявлен гетерозиготный AG и гомозиготный вариант GG генотипа *CYP3A5*, был значительно меньше риск развития резистентности к иматинибу [35]. Другие авторы [31] в когорте 106 больных ХМЛ показали, что два полиморфизма гена *CYP3A5* (rs 7776746) и гена *hOCT1* M408V (rs628031) были достоверно связаны с полным цитогенетическим ответом (ПЦГО) через 6 месяцев и полным молекулярным ответом (ПМО) через 12 месяцев лечения. N.A. Named и соавт. [32] не нашли ассоциации полиморфизма гена *hOCT1* C480G с ответом на лечение у больных из Египта. В следующем исследовании генотип *G*G (480C>G (F160L), rs683369) в гене *hOCT1* при прогрессии ХМЛ коррелировал с высокой вероятностью появления ре-

зистентности к терапии [29]. M. Gromicho и соавт. [23] обнаружили, что в большинстве изученных ими резистентных клеточных линий были сверхэкспрессированы несколько белков переносчиков, а именно ABCB1, ABCG2, MVP и hOCT-1.

Несмотря на большое число опубликованных статей, посвященных исследованию полиморфизма генов, участвующих в фармакогенетике и фармакодинамике ИТК, неоптимальным ответом больных ХМЛ на таргетную терапию ИТК, до сих пор точно не известно, какой из них является самым решающим для приобретения резистентности клетками ХМЛ к иматинибу. В настоящем исследовании, в отличие от литературных данных, в выборке больных из РБ не встречался генотип AA в *CYP3A5* (rs 7776746), ассоциированный с резистентностью к ИТК, а между больными с разной эффективностью лечения ИТК не было обнаружено достоверных изменений в распределении частот аллелей и генотипов *CYP3A5*. Распределение частот генотипов полиморфного варианта rs683369 в гене переносчике органических катионов (*hOCT1*) между группами больных с разной эффективностью лечения ИТК показало, что генотип G*G* встречался редко и также был ассоциирован с наименьшей продолжительностью жизни больных, генотип *C*C* достоверно чаще выявлялся у больных ХМЛ с оптимальным ответом на лечение по сравнению с больными, резистентными к лечению. Частота встречаемости генотипа *C*G была почти в два раза выше у больных ХМЛ, резистентных к терапии ИТК. Изучение клинико-генетических ассоциаций при ХМЛ позволяет уточнить некоторые механизмы развития резистентности к терапии в разных регионах, совершенствовать индивидуализированный подход при выборе лечебной тактики и в общем прогнозе заболевания.

Таким образом, исследование полиморфного локуса rs683369 гена *hOCT1* в отличие от rs776746 гена *CYP3A5* имеет прогностическое значение в оценке эффективности лечения ИТК больных ХМЛ в РБ. Частота встречаемости генотипа *C*G была значимо выше у больных ХМЛ, резистентных к терапии ИТК, генотип G*G* встречался реже и был ассоциирован с наименьшей продолжительностью жизни, а наличие генотипа C*C* оказалось благоприятным для общей выживаемости больных.

Литература

1. Абдулкадыров К.М., Абдуллаев А.О., Авдеева Л.Б. и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и терапии хронического миелолейкоза. Вестник гематологии. 2013; 9(3): 4–40.
2. Туркина А.Г., Зарицкий А.Ю., Шуваев В.А. и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению хронического миелолейкоза. Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. 2017; 10.3: 294–316.
3. Челышева Е.Ю., Шухов О.А., Лазарева О.В. Мутации гена BCR-ABL при хроническом миелоидном лейкозе. Клиническая онкогематология. 2012; 5: 13–21.

References

1. Abdulkadyrov C.M., Abdullaev A.O., Avdeeva L.B., et al. Federal clinical guidelines for the diagnosis and treatment of chronic myeloid leukemia. Vestnik gematologii. 2013; 9(3): 4–40 (In Russian).
2. Turkina A.G., Zaritsky A.Y., Shuvaev V.A., et al. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of chronic myeloid leukemia. Klinicheskaya onkogematologiya. 2017; 10(3): 294–316 (In Russian).
3. Chelysheva E.I., Shukhov O.A., Lazarev O.V. BCR-ABL gene mutations in chronic myeloid leukemia. Klinicheskaya onkogematologiya. 2012; 5: 13–21 (In Russian).

4. Виноградова О.Ю., Куликов С.М., Куцев С.М. Проблемы организации лечения хронического миелолейкоза в России. Клиническая онкогематология. 2011; 4.4: 292–7.
5. Туркина А.Г., Голеньков А.К., Напсо Л.И. и др. Российский регистр по лечению хронического миелоидного лейкоза в рутинной клинической практике: итоги многолетней работы. Эффективная фармакотерапия. 2015; 10: 8–13.
6. Corbin A.S., La Rose P., Stoffregen E.P., et al. Several BCR-ABL kinase domain mutants associated with imatinib mesylate resistance remain sensitive to imatinib. *Blood*. 2003; 101(11): 4611–4.
7. Куцев С.И., Васильченко М.В., Морданов С.В. Роль мутаций гена BCR-ABL в развитии рефрактерности к иматинибу у пациентов с хроническим миелолейкозом. Клиническая онкогематология. 2009; 1.4: 303–9.
8. Виноградова О.Ю., Асеева Е.А., Воронцова А.В. и др. Влияние различных хромосомных аномалий в Ph-позитивных клетках костного мозга на течение хронического миелолейкоза при терапии ингибиторами тирозинкиназ. Онкогематология. 2012; 4: 24–34.
9. Рябчикова Н.Р., Миннихметов И.Р., Сафуанова Г.Ш. и др. Хронический миелолейкоз: молекулярный мониторинг в клинической практике. Онкогематология. 2013; 1: 1–16.
10. Baccarani M., Deininger M.W., Rosti G., et al. European Leukemia Net recommendations for the management of chronic myeloid leukemia 2013. *Blood*. 2013; 122(6): 872–84. DOI: 10.1182/ Blood -2013-05:501-569
11. Фоминых М.С., Абдулкадыров К.М., Туркина А.Г. и др. Персонализация терапии хронического миелолейкоза — прогностическое значение индивидуальной динамики уровня BCR-ABL. Гематология и трансфузиология. 2016; 6.1: 4–10.
12. Туркина А.Г., Челышева Е.Ю. Стратегия терапии хронического миелолейкоза: возможности и перспективы. Терапевтический архив. 2013; 85(7): 4–9.
13. Руквицин О.А. (редактор) Гематология: национальное руководство. М.: ГОЭТАР Медиа; 2015.
14. Абдулкадыров К.М., Шуваев В.А., Мартынкевич И.С. и др. Хронический миелолейкоз: многолетний опыт таргетной терапии. Клиническая онкогематология. 2016; 9: 54–60.
15. Baccarani M., Cortes J., Pane F., et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European Leukemia Net. *J Clin Oncol*. 2009; 27: 6041–51.
16. Druker D.J., Guilhot F., O'Brien S.G., et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2006; 355: 2408–17. DOI: 10.1056/NEJMoa062867
17. Волкова М.А. Терапия хронических лейкозов в 21 веке. Эффективная фармакотерапия в онкологии, гематологии и радиологии. 2009; 2: 2–7.
18. Branford S., Seymour J.F., Grigg A.A., et al. BCR-ABL messenger RNA levels continue to decline in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia treated with imatinib for more than 5 years and approximately half of all first-line treated patients have stable undetectable BCR-ABL using strict sensitivity criteria. *Clin. Cancer Res*. 2007; 13 (23): 7080–5.
19. Волкова С.А., Ковалишина О.В., Гостюжова Е.А. и др. Эффект от терапии иматинибом по данным клинико-эпидемиологического мониторинга хронического миелолейкоза в Нижегородской области за период 2000–2010 гг. Гематология и трансфузиология. 2011; 56(4): 17–9.
20. Куликов С.М., Виноградова О.Ю., Челышева Е.Ю. и др. Заболеваемость хроническим миелолейкозом в регионах России по данным популяционного исследования 2009–2012. Терапевтический архив. 2014; 86(7): 24–30.
21. Branford S. Monitoring after successful therapy for chronic myeloid leukemia. *ASH Annual Meeting and Exposition*. 2012; 105–110.
4. Vinogradova O.Y., Kulikov S.M., Kutsev S.M. Problems of the organization of chronic myeloid leukemia therapy in the Russian Federation. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2011; 4.4: 292–7 (In Russian).
5. Turkina A.G., Golenkov A.K., Napso L.I., et al. Chronic myeloid leukemia Russian register in routine clinical practice: results of the multi-year work. *Effektivnaya farmakoterapiya*. 2015; 10: 8–13 (In Russian).
6. Corbin A.S., La Rose P., Stoffregen E.P., et al. Several BCR-ABL kinase domain mutants associated with imatinib mesylate resistance remain sensitive to imatinib. *Blood*. 2003; 101(11): 4611–4.
7. Kutsev S.I., Vasilchenko M.V., Mordanov S.V. The role of BCR-ABL mutations in the development of imatinib refractoriness in patients with chronic myeloid leukemia. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2009; 1(4): 303–9 (In Russian).
8. Vinogradova O.Y., Aseeva E.A., Vorontsov A.V., et al. Effect of various chromosomal abnormalities in Ph-positive bone marrow cells on the course of chronic myeloid leukemia during therapy with tyrosine kinase inhibitors. *Onkogematologiya*. 2012; 4: 24–34 (In Russian).
9. Ryabchikova H.P., Minniakhmetov I.R., Safuanova G.S., et al. Chronic myeloid leukemia: molecular monitoring in clinical practice. *Onkogematologiya*. 2013; 1: 1–16 (In Russian).
10. Baccarani M., Deininger M.W., Rosti G., et al. European Leukemia Net recommendations for the management of chronic myeloid leukemia 2013. *Blood*. 2013; 122(6): 872–84. DOI: 10.1182/ Blood -2013-05:501-569
11. Fominykh M.S., Abdulkadyrov K.M., Turkina A.G., et al. Personalization of therapy for chronic myeloid leukemia is the prognostic value of the individual dynamics of BCR-ABL level. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2016; 6(1): 4–10 (In Russian).
12. Turkina A.G., Chelysheva E.J. Therapy strategy for chronic myeloid leukemia: opportunities and prospects. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2013; 85(7): 4–9 (In Russian).
13. Rukovitsin O.A. (editor) Hematology: national leadership. Moscow: GOETAR Media; 2015 (In Russian).
14. Abdulkadyrov K.M., Shuvaev V.A., Martynkevich I.S., et al. Chronic myeloid leukemia: many years of experience with targeted therapy. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2016; 9: 54–60 (In Russian).
15. Baccarani M., Cortes J., Pane F., et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European Leukemia Net. *J Clin Oncol*. 2009; 27: 6041–51.
16. Druker D.J., Guilhot F., O'Brien S.G., et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2006; 355: 2408–17. DOI: 10.1056/NEJMoa062867
17. Volkova M.A. Therapy of chronic leukemia in the 21st century. *Effektivnaya farmakoterapiya v onkologii, gematologii i radiologii*. 2009; 2: 2–7 (In Russian).
18. Branford S., Seymour J.F., Grigg A.A., et al. BCR-ABL messenger RNA levels continue to decline in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia treated with imatinib for more than 5 years and approximately half of all first-line treated patients have stable undetectable BCR-ABL using strict sensitivity criteria. *Clin. Cancer Res*. 2007; 13(23): 7080–5.
19. Volkova S.A., Kovalishina O.V., Gostuzhova E.A., et al. Efficiency of imatinib therapy: summing up the results of clinical epidemiological monitoring of chronic myeloid leukemia in the Country to Nizhny Novgorod over the period of 2000–2010. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2011; 56(4): 17–9 (In Russian).
20. Kulikov S.M., Vinogradova O.Y., Chelysheva E.Y., et al. Incidence of chronic myeloid leukemia in 6 regions of Russia according to the data of the 2009–2012 population-based study. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2014; 86(7): 24–30 (In Russian).
21. Branford S. Monitoring after successful therapy for chronic myeloid leukemia. *ASH Annual Meeting and Exposition*. 2012; 105–110.

22. Мисюрин А.В., Мисюрина Е.Н., Тихонова В.В. и др. Частота встречаемости мутаций киназного домена гена BCR-ABL у больных хроническим миелолейкозом, резистентных к терапии иматинибом. Российский биотерапевтический журнал. 2016; 15(4): 102–9.
23. Gromicho M., Dinis D.J., Magalhaes M.M., et al. Development of imatinib and dasatinib resistance: dynamics of expression of drug transporters ABCB1, ABCC1, ABCG2, MVP, and SLC22A1. *Leukemia Lymphoma*. 2011; 52(10): 1980–90.
24. Тихонова В.В., Исаков М.А., Мисюрин В.А. Резистентность хронического миелолейкоза к ингибиторам тирозинкиназ: 10 лет изучения профиля мутаций гена BCR-ABL в России (2006–2016 гг.). Клиническая онкогематология. 2018; 11: 227–33.
25. Quintas-Cardama A., Kantarjian H., Cortes J. Mechanisms of Primary and Secondary Resistance to Imatinib in Chronic Myeloid Leukemia. *Cancer Control*. 2009; 16(2): 122–31.
26. Шуваев В.А., Абдукадыров К.М., Мартынкевич И.С., Фоминых М.С. Выбор терапии первой линии хронического миелолейкоза: моделирование клинико-экономических факторов. Клиническая онкогематология. 2015; 8.1: 78–83.
27. Mahon F.X. Discontinuation of tyrosine kinase therapy in CML. *Ann Hematol*. 2015; 94(2): 187. DOI: 10.1007/s00277-015-2320-4
28. Копнин Б.П. Опухолевые супрессоры и мутаторные гены. Канцерогенез. 2004; 125–56.
29. Kim D., Sriharsha L., Xu W., et al. Clinical Relevance of a Pharmacogenetic Approach Using Multiple Candidate Genes to Predict Response and Resistance to Imatinib Therapy in Chronic Myeloid Leukemia. *Clin Cancer Res*. 2009; 15(14): 4750–8. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0145
30. Vaidya S., Ghosh K., Shanmukhaiah C., Vundinti B.R. Genetic variations of hOCT1 gene and CYP3A4/A5 genes and their association with imatinib response in Chronic Myeloid Leukemia. *European Journal of Pharmacology*. 2015; 765(15): 124–30. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.08.034
31. Hamed N.A., Ghanem A.M., Neanea H., Maha M.A. Polymorphism of Human Organic Cationic Transporter 1 (C80G) in Egyptian Chronic Myeloid Leukemia Patients on Imatinib. *Am J Mol Biol*. 2018; 08 (02): 83–91. DOI: 10.4236/ajmb.2018.82007
32. Рябчикова Н.Р., Сафуанова Г.Ш., Никуличева В.И. Эпидемиология хронического миелолейкоза в Республике Башкортостан. Клиническая онкогематология. 2018; 11: 349–53. DOI: 10.21320/2500-2139-2018-11-4-349-353
33. Nguyen H.T., Nguyen A.T., Nguyen T.T., et al. Results of treatment of chronic myeloid leukemia with imatinib from the Vietnam National Institute of Hematology and Blood Transfusiology. *Hematology and transfusiology*. 2018; 63(10): 31–43. DOI: 10.258337/HAT.2018.26..1..003
34. Jabbour E.J., Cortes J.E., Kantarjian H.M. Resistance to Tyrosine Kinase Inhibition Therapy for Chronic Myelogenous Leukemia: A Clinical Perspective and Emerging Treatment Options. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2013; 13(5): 515–529. DOI: 10.1016/j.clml.2013.03.018
35. Maddin N., Husin A., Gan S.H., et al. Impact of CYP3A4*18 and CYP3A5*3 Polymorphisms on Imatinib Mesylate Response Among Chronic Myeloid Leukemia Patients in Malaysia. *Oncol Ther*. 2016; 4: 303–14. DOI: 10.1007/s40487-016-0035-x
36. Адильгереева Э.П., Лавров А.В., Смирнихина С.А. и др. Поиск новых маркеров эффективности терапии ингибиторами тирозинкиназ при хроническом миелолейкозе методом полноэкзомного секвенирования. Гематология и трансфузиология. 2018; 63(2): 134–43. DOI: 10.25837/HAT.2018.61..2..004
22. Misyurin A.V., Misyurina E.N., Tikhonova V.V., et al. The frequency of occurrence of mutations in the kinase domain of the BCR-ABL gene in patients with chronic myeloid leukemia resistant to imatinib therapy. *Rossiiskij bioterapevticheskiy zhurnal*. 2016; 15(4): 102–9 (In Russian).
23. Gromicho M., Dinis D.J., Magalhaes M.M., et al. Development of imatinib and dasatinib resistance: dynamics of expression of drug transporters ABCB1, ABCC1, ABCG2, MVP, and SLC22A1. *Leukemia Lymphoma*. 2011; 52(10): 1980–90.
24. Tikhonova V.V., Isakov M.A., Misyurin V.A. Resistance of chronic myeloid leukemia to tyrosine kinase inhibitors: 10 years of studying the mutation profile of the BCR-ABL gene in Russia (2006–2016)]. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2018; 11(3): 227–33 (In Russian).
25. Quintas-Cardama A., Kantarjian H., Cortes J. Mechanisms of Primary and Secondary Resistance to Imatinib in Chronic Myeloid Leukemia. *Cancer Control*. 2009; 16(2): 122–31.
26. Shuvaev V.A., Abdukadyrov K.M., Martynkevich I.S., Fominykh M.S. The choice of first line treatment of chronic myeloid leukemia: modeling of clinical and economic factors. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2015; 8 (1): 78–83 (In Russian).
27. Mahon F.X. Discontinuation of tyrosine kinase therapy in CML. *Ann Hematol*. 2015; 94(2): 187. DOI: 10.1007/s00277-015-2320-4
28. Kopnin B.P. Tumor suppressors and mutator genes. *Kancerogenez*. 2004; 125–56 (In Russian).
29. Kim D., Sriharsha L., Xu W., et al. Clinical Relevance of a Pharmacogenetic Approach Using Multiple Candidate Genes to Predict Response and Resistance to Imatinib Therapy in Chronic Myeloid Leukemia. *Clin Cancer Res*. 2009; 15(14): 4750–8. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0145
30. Vaidya S., Ghosh K., Shanmukhaiah C., Vundinti B.R. Genetic variations of hOCT1 gene and CYP3A4/A5 genes and their association with imatinib response in Chronic Myeloid Leukemia. *European Journal of Pharmacology*. 2015; 765(15): 124–30. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.08.034
31. Hamed N.A., Ghanem A.M., Neanea H., Maha M.A. Polymorphism of Human Organic Cationic Transporter 1 (C80G) in Egyptian Chronic Myeloid Leukemia Patients on Imatinib. *American Journal of Molecular Biology*. 2018; 08(02): 83–91. DOI: 10.4236/ajmb.2018.82007
32. Ryabchikova N.R., Safuanova G.Sh., Nikulicheva V.I. Epidemiology of chronic myeloid leukemia in the Republic of Bashkortostan. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2018; 11: 349–53 (In Russian). DOI: 10.21320/2500-2139-2018-11-4-349-353
33. Nguyen H.T., Nguyen A.T., Nguyen T.T., et al. Results of treatment of chronic myeloid leukemia with imatinib from the Vietnam National Institute of Hematology and Blood Transfusiology. *Hematology and transfusiology*. 2018; 63(10): 31–43. DOI: 10.258337/HAT.2018.26..1..003
34. Jabbour E.J., Cortes J.E., Kantarjian H.M. Resistance to Tyrosine Kinase Inhibition Therapy for Chronic Myelogenous Leukemia: A Clinical Perspective and Emerging Treatment Options. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2013; 13(5): 515–29. DOI: 10.1016/j.clml.2013.03.018
35. Maddin N., Husin A., Gan S.H., et al. Impact of CYP3A4*18 and CYP3A5*3 Polymorphisms on Imatinib Mesylate Response Among Chronic Myeloid Leukemia Patients in Malaysia. *Oncol Ther*. 2016; 4: 303–14. DOI: 10.1007/s40487-016-0035-x
36. Adilgerseyeva E.P., Lavrov A.V., Smirnihina S.A., et al. Search for new markers of the effectiveness of therapy with tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloleukemia using full-exome sequencing. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2018; 63(2): 134–43 (In Russian). DOI: 10.25837 / HAT.2018.61..2..004

Информация об авторах

Сафуанова Гузьяль Шагбановна*, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой терапии и общей врачебной практики с курсом гериатрии ИДПО ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: SafuanovaGSH@gmail.com; 450005, г Уфа, ул. Достоевского, 132. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2627-0626>

Рябчикова Наира Рафаэлевна, ассистент кафедры терапии и общей врачебной практики с курсом гериатрии ИДПО ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: naira_mail@bk.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8836-3890>

Хуснутдинова Эльза Камилевна, доктор биологических наук, и.о. директора «Института биохимии и генетики» — обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук», e-mail: elzakh@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2987-3334>

Каримов Денис Олегович, кандидат биологических наук, заведующий отделом токсикологии и генетики с клиникой экспериментальных животных ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека», e-mail: karimovdo@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0039-6757>

Миннихметов Ильдар Рамилевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека «Института биохимии и генетики» — обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук», и ГБУЗ «Республиканский медико-генетический центр», e-mail: Floyd12@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7045-8215>

*** Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 20.02.2019

Принята к печати: 14.05.2019

Information about the authors

Guzyal Sh. Safuanova*, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Therapy and General Medical Practice with a Course of Geriatrics, Bashkir State Medical University, e-mail: SafuanovaGSH@gmail.com; 450005, Ufa, Dostoevskogo str., 132. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2627-0626>

Naira R. Ryabchikova, Researcher, Department of Therapy and General Medical Practice with a Course of Geriatrics, Bashkir State Medical University, e-mail: naira_mail@bk.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8836-3890>

Elsa K. Khusnutdinova, Dr. Sci. (Biol.), Acting Director, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, e-mail: elzakh@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2987-3334>

Denis O. Karimov, Cand. Sci. (Biol.), Head of the Department of Toxicology and Genetics with an Experimental Animal Clinic, Ufa Scientific Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology, e-mail: karimovdo@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0039-6757>

Ildar R. Minniakhmetov, Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Laboratory of Human Molecular Genetics, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Republican Medical Genetic Centre, e-mail: Floyd12@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7045-8215>

*** Corresponding author**

Received 20 Feb 2019

Accepted 14 May 2019