

МЕЛЬНИК М.<sup>1✉</sup>, ВАЛЬЧУК М.<sup>1</sup>, ЛЕВАНДІВСЬКА С.<sup>1</sup>, НАЗАР Р.<sup>2</sup>, КОРОЛЬЧУК О.<sup>3</sup>,  
КАРОЛЬ Ю.<sup>3</sup>, ГУЛЕЮК Н.<sup>1</sup>, МАКУХ Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Науковий медико-генетичний центр «ЛеоГЕН»,

Україна, 79005, м. Львів, вул. М. Максимовича, 7, ORCID: 0009-0009-9713-9044, 0009-0001-6886-1486, 0009-0000-0301-3200, 0000-0001-7697-4117, 0000-0001-7749-5353

<sup>2</sup> Львівський обласний лікувально-діагностичний онкологічний центр,

Україна, 79058, м. Львів, вул. Я. Гашека, 2а

<sup>3</sup> Комунальне некомерційне підприємство «5-та Львівська міська клінічна поліклініка»,

Україна, 79000, м. Львів, вул. Генерала Чупринки, 45

✉ mariamelnik465@gmail.com, 0678021746

## РЕЗУЛЬТАТИ МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ У ВИПАДКАХ ПІДОЗРИ ХРОНІЧНОЇ МІЕЛОЇДНОЇ ЛЕЙКЕМІЇ

**Мета.** Хронічна мієлоїдна лейкемія (ХМЛ) – це захворювання, яке є одним із найпоширеніших серед хронічних мієлопроліферативних процесів. Головною метою цього дослідження було вивчення частоти та особливостей хромосомних змін у пацієнтів із підозрою на ХМЛ або вже підтвердженим діагнозом за результатами наукового медико-генетичного центру «ЛеоГЕН». **Методи.** До методів, використаних у цій роботі, належать каріотипування, FISH (fluorescence in situ hybridization) та ЗТ-ПЛР (зворотна транскриптазна полімеразна ланцюгова реакція). Дослідження проводилося з січня 2022 року по жовтень 2024 року. **Результати.** FISH, каріотипування та ЗТ-ПЛР виконували на клітинах периферійної крові (ПК) та кісткового мозку (КМ) 39 пацієнтів. Аналіз FISH із використанням двоколірних зондів LSI BCR/ABL1 Cytocell здійснено на 35 зразках. У клітинах КМ 11 із 39 осіб методом каріотипування виявлено або спростовано наявність хромосомних перебудов, характерних для ХМЛ. На 12 зразках клітин КМ проведено ЗТ-ПЛР. **Висновки.** Отримані результати демонструють доцільність застосування молекулярно-цитогенетичних методів у клінічній практиці для покращення діагностики ХМЛ та оптимізації стратегії лікування. Наведено порівняння результатів досліджень ХМЛ різними методами та показано важливість їх комплексного застосування.

**Ключові слова:** хронічна мієлоїдна лейкемія, каріотипування, FISH, ЗТ-ПЛР.

ХМЛ – це клональне мієлопроліферативне захворювання, що вражає гемопоетичні стовбу-

рові клітини. ХМЛ є одним із найпоширеніших онкогематологічних процесів і може розвиватися у широкому віковому діапазоні, проте найчастіше зустрічається у людей віком від 30 до 50 років. Захворюваність на ХМЛ становить 1–2 випадки на 100 000 населення та складає 7–20 % усіх підтверджених випадків лейкемій [1, 2]. Для ХМЛ характерна набута генетична аномалія – специфічна «філадельфійська хромосома» (Ph-хромосома), що виникає внаслідок реципрокної транслокації t(9;22)(q34;q11.2) у стовбуровій кровотворній клітині. У результаті відбувається злиття гена ABL1 (Abelson gene), розташованого на довгому плечі 9-ї хромосоми, з геном BCR (breakpoint cluster region gene), розташованим на довгому плечі 22-ї хромосоми, що призводить до утворення злитого гена BCR/ABL1 [3].

Виявлення генетичних маркерів ХМЛ проводять декількома методами, вибір яких обґрунтовується метою та термінами проведення досліджень. Стандартом діагностики описаної хромосомної аномалії є цитогенетичне дослідження клітин кісткового мозку [4]. Молекулярно-цитогенетичний метод FISH має вищу чутливість та дозволяє виявити приблизно 5 % випадків із замаскованими транслокаціями чи інсерціями. На молекулярно-генетичному рівні транскрипт BCR/ABL1 найчастіше досліджують методом ПЛР, що дозволяє оцінювати ефективність терапії [5].

Основним напрямом цього дослідження було визначення частки пацієнтів із t(9;22)(q34;q11.2) методом FISH для встановлення діагнозу ХМЛ та відстеження відповіді на лікування.

### Матеріали і методи

© МЕЛЬНИК М.І., ВАЛЬЧУК М., ЛЕВАНДІВСЬКА С., НАЗАР Р., КОРОЛЬЧУК О.,  
КАРОЛЬ Ю., ГУЛЕЮК Н., МАКУХ Г.

Дослідження проводилося на базі цитогенетичного відділу наукового медико-генетичного центру «ЛеоГЕН». Матеріалом для аналізу були субстратні клітини ПК або КМ, отримані під час діагностичної стеральної пункції або венепункції у пацієнтів, у яких на підставі клініко-гематологічних обстежень була підозра на ХМЛ або вже підтверджений діагноз.

Методи дослідження: каріотипування клітин КМ та ПК (стандартне цитогенетичне дослідження), FISH (флуоресцентна гібридизація *in situ*). ЗТ-ПЛР (зворотна транскриптазна полімеразна ланцюгова реакція).

Підготовку препаратів до гібридизації проводили за описаною методикою [6]. Аналіз FISH виконували за допомогою мікроскопа Motic Microscopes та програми Lucia Cytogenetics Karyo FISH із використанням зондів LSI *BCR/ABL1* Dual color Cytocell. Для виявлення ХМЛ здійснювали підрахунок 300–400 інтерфазних ядер для кожного пацієнта. У результаті гібридизації мітки фрагмент ДНК із червоним флуорохромом приєднувався до гена *ABL1* у ділянці q34 9-ї хромосоми, а фрагмент ДНК із зеленим флуорохромом – до гена *BCR* у локусі q11.2 22-ї хромосоми. Таким чином, у нормальних клітинах спостерігали два червоні сигнали на обох копіях 9-ї хромосоми та два зелені сигнали на обох копіях 22-ї хромосоми. У місцях утворення химерних генів *BCR/ABL1* на 22-й хромосомі та *ABL1/BCR* на 9-й хромосомі з'являлися сигнали жовтого кольору (рис. 1).

Підготовку клітин до каріотипування та приготування препаратів здійснювали за загаль-

ноприйнятими методиками [7–9]. Готові препарати аналізували при збільшенні  $\times 1000$  за допомогою світлового мікроскопа Olympus BX41 (Olympus, Японія) та програми Lucia Cytogenetics Kario (Чехія). Аналізували мінімум 20 метафазних пластинок, роздільна здатність становила 200–500 сегментів на гаплоїдний набір.

Дотримувались International System for Human Cytogenetic Nomenclature – ISCN 2020 (Міжнародна система номенклатури хромосом людини) [10].

Методику ЗТ-ПЛР в реальному часі виконано згідно з інструкцією набору для виявлення *BCR210-RT48/geneMAPTM BCR-ABL1* p210 (Mbcr) IS-MMR [11].

### Результати та обговорення

**Виявлення ХМЛ методом FISH.** Протягом серпня 2022 р. – жовтня 2024 р. метод FISH застосовано до 35 пацієнтів. Серед них було 20 чоловіків та 15 жінок віком від 19 до 77 років. Відсоток пацієнтів чоловічої статі з ХМЛ був більшим, ніж жіночої у співвідношенні 1,3:1. Перед початком дослідження виділено три групи пацієнтів, а саме первинно діагностовані з підозрою на ХМЛ (12 осіб), хворі з підтвердженим діагнозом (9 осіб) та ті, які вже отримували лікування (14 осіб). Кожному зразку присвоєно номер від 1 до 35 (*BCR/ABL1*-1...*BCR/ABL1*-35). Розподіл за статтю і віком представлено у таблиці 1.

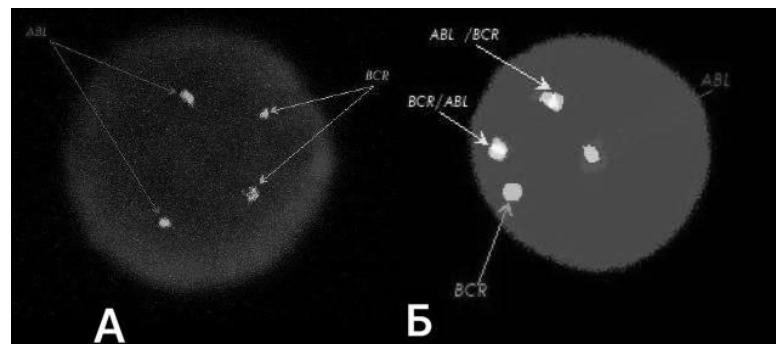


Рис. 1. Інтерфазні ядра клітин КМ, на яких виконано FISH з використанням мітки LSI *BCR/ABL1* DC DF (А – ядро з нормальним набором сигналів, є по два сигнали гена *BCR* та гена *ABL1*; Б – ядро з транслокацією t(9;22)(q34;q11.2)).

Таблиця 1. Розподіл пацієнтів за статтю та віком

| Клінічний<br>діагноз                    | Лікування                         | Стать   | Вік |       |       |       |       |     | Разом |
|-----------------------------------------|-----------------------------------|---------|-----|-------|-------|-------|-------|-----|-------|
|                                         |                                   |         | <30 | 30–39 | 40–49 | 50–59 | 60–69 | >70 |       |
| Група                                   |                                   |         |     |       |       |       |       |     |       |
| Первинна діагностика ХМЛ                |                                   |         |     |       |       |       |       |     |       |
| ХМЛ                                     | Не проводилася<br>діагностика ХМЛ | чоловік | 0   | 1     | 2     | 1     | 1     | 1   | 6     |
|                                         |                                   | жінка   | 2   | 2     | 1     | 1     | 0     | 0   | 6     |
| Група II                                |                                   |         |     |       |       |       |       |     |       |
| Пацієнти з підтвердженим діагнозом ХМЛ  |                                   |         |     |       |       |       |       |     |       |
| ХМЛ                                     | Не отримували<br>лікування        | чоловік | 0   | 1     | 1     | 1     | 1     | 1   | 5     |
|                                         |                                   | жінка   | 0   | 2     | 0     | 0     | 1     | 1   | 4     |
| Група III                               |                                   |         |     |       |       |       |       |     |       |
| Пацієнти з ХМЛ, що отримували лікування |                                   |         |     |       |       |       |       |     |       |
| ХМЛ                                     | Отримували<br>лікування           | чоловік | 1   | 0     | 2     | 2     | 3     | 1   | 9     |
|                                         |                                   | жінка   | 0   | 1     | 1     | 2     | 1     | 0   | 5     |

У 34 (97 %) зразках унаслідок гібридизації мітки з матеріалом виявлено типовий для FISH дослідження результат, тобто є інтерфазні ядра, у яких наявні по два химерні гени: *BCR/ABL1* на *der(22)* та *ABL1/BCR* на *der(9)* чи інтерфазні ядра, у яких не виявилося морфологічних змін хромосом. Атипову картину гібридизації знайдено в одному зразку (3 %), у якому наявні два сигнали гена *ABL1* (червоного кольору), два сигнали гена *BCR* (зеленого кольору) та один змішаний сигнал *BCR/ABL1* (жовтого кольору) (рис. 2). Отриманий набір сигналів вказує на можливість утворення гена *BCR/ABL1*, шляхом комплексної транслокації із залученням 9, 22 та додаткової хромосоми невстановленого походження.

У 8 пацієнтів (23 %) в більшості інтерфазних ядер є 1 сигнал від гена *ABL1*, 1 сигнал від гена *BCR* та 2 змішані сигнали *BCR/ABL1*, *ABL1/BCR*. Результат підтверджує наявність гена *BCR/ABL1* та типової транслокації *t(9;22)(q34;q11.2)*. Серед 14 пацієнтів, що проходили лікування, у 57 % спостерігалася повна цитогенетична відповідь, тоді як у 43 % – часткова або повністю відсутня.

**Цитогенетична діагностика ХМЛ.** З січня 2023 р. по жовтень 2024 р. каріотипування з

метою виявлення *t(9;22)(q34;q11.2)* проведено у 11 пацієнтів (7 чоловіків, 4 жінки) (табл. 2).

У 6 із 11 (55 %) випадків виявлено типову транслокацію *t(9;22)(q34;q11.2)*, що підтверджує діагноз ХМЛ. В одного пацієнта (9 %) знайдено додаткові хромосомні аберації, зокрема трисомії по 8-й та 12-й хромосомах і дві копії Ph-хромосоми. У решти 4 пацієнтів каріотип відповідає нормі (рис. 3).

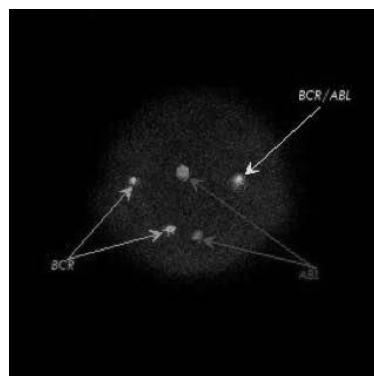


Рис. 2. Інтерфазне ядро клітин ПК, отримане методом FISH, результат: *nuc ish(ABL11x3) (BCRx3) (ABL11conBCRx1)[336]* (*nuc ish* – інтерфазне ядро, у квадратних дужках вказана кількість проаналізованих ядер).

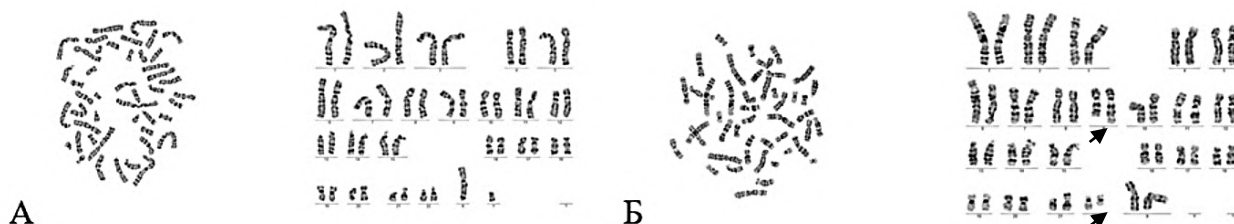


Рис. 3. Метафазні пластинки та каріограми пацієнтів (А – чоловічий каріотип 46,XY; Б – жіночий каріотип 46,XX з *t(9;22)(q34;q11.2)*).

Таблиця 2. Результати каріотипування (КМ – кістковий мозок, ПК – периферійна кров, у квадратних дужках – кількість проаналізованих метафаз, ■ – зразки, на яких проведено і каріотипування клітин, і FISH діагностику)

| № дослідження                     | Результат                                                                                  | Інтерпретація результату                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| КРВ 25 (КМ)<br><i>BCR/ABL1-21</i> | 46,XX,t(9;22)(q34;q11.2)[30]                                                               | виявлено 30 метафазних пластинок із транслокацією t(9;22)(q34;q11.2)                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| КРВ 29 (ПК)                       | 46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)[23]                                                               | виявлено 23 метафазні пластинки із транслокацією t(9;22)(q34;q11.2) (філадельфійською (Ph) хромосомою)                                                                                                                                                                                                                                           |
| КРВ 31 (КМ)                       | 46,XX,t(9;22)(q34;q11.2)[15]/49,XX,+8,t(9;22)(q34;q11.2),+12,+der(22)t(9;22)(q34;q11.2)[5] | у 15 проаналізованих метафазних пластинках виявлено транслокацію t(9;22)(q34;q11.2). У 5 метафазних пластинках виявлено додаткові копії 8 та 12 хромосом (трисомії по 8 та 12 хромосомах) та дві копії Ph-хромосоми                                                                                                                              |
| КРВ 34 (КМ)<br><i>BCR/ABL1-18</i> | 46,XX[20]                                                                                  | у 20 проаналізованих метафазних пластинках встановлено жіночий каріотип. Кількісних порушень та великих структурних перебудов не виявлено                                                                                                                                                                                                        |
| КРВ 48 (ПК)<br><i>BCR/ABL1-24</i> | 46,XY[20]                                                                                  | у 20 проаналізованих метафазних пластинках встановлено чоловічий каріотип. Кількісних порушень та великих структурних перебудов не виявлено                                                                                                                                                                                                      |
| КРВ 49 (ПК)                       | 46,XX,t(9;22)(q34;q11.2)[20]                                                               | у 20 проаналізованих метафазних пластинках встановлено жіночий каріотип з транслокацією t(9;22)(q34;q11.2)                                                                                                                                                                                                                                       |
| КРВ 52 (КМ)<br><i>BCR/ABL1-25</i> | 46,XY[20]                                                                                  | у 20 проаналізованих метафазних пластинках встановлено чоловічий каріотип. Кількісних порушень та великих структурних перебудов не виявлено                                                                                                                                                                                                      |
| КРВ 54 (КМ)<br><i>BCR/ABL1-35</i> | 46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)[20]                                                               | у 20 (100 %) проаналізованих метафазних пластинках встановлено чоловічий каріотип з транслокацією між 9 та 22 хромосомами, транслокація (9;22)(q34;q11.2)                                                                                                                                                                                        |
| КРВ 70 (КМ)<br><i>BCR/ABL1-33</i> | 46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)[25]                                                               | у 25 метафазних пластинках встановлено чоловічий каріотип з реципрокною транслокацією між 9 хромосомою та 22 хромосомою t(9;22)(q34;q11.2)                                                                                                                                                                                                       |
| КРВ 73 (ПК)                       | 46,XX,t(9;22)(q34;q11.2)[27]/46,XX[3]                                                      | у 30 проаналізованих метафазних пластинках виявлено два клони клітин. У 27 метафазних пластинках виявлено жіночий каріотип з реципрокною транслокацією, яка утворилась між 34 локусом довгого плеча хромосоми 9 та 11.2 локусом довгого плеча хромосоми 22. У 3 метафазних пластинках виявлено жіночий каріотип без структурних та числових змін |
| КРВ 78 (КМ)                       | 46,XY[20]                                                                                  | у 20 проаналізованих метафазних пластинках встановлено чоловічий каріотип. Кількісних порушень та великих структурних перебудов не виявлено                                                                                                                                                                                                      |

**Моніторинг лікування ХМЛ методом кількісної ЗТ-ПЛР.** З 39-ти пацієнтів, у яких було здійснено діагностику ХМЛ стандартним цитогенетичним чи FISH дослідженнями, у 12-ти проведено кількісну ЗТ-ПЛР для моніторингу впливу лікування на перебіг захворювання чи

додаткового підтвердження діагнозу (табл. 3). У НМГЦ «ЛеоГЕН» проводиться ЗТ-ПЛР в реальному часі для виявлення найбільш поширеного транскрипту *BCR/ABL1* p210 та рівня його експресії.

Таблиця 3. Результати ЗТ-ПЛР (рівень відповіді нормалізовано за міжнародною шкалою ELN [12])

| №  | Проведені дослідження                                                                                                                | Результати<br>(кількісна ЗТ-ПЛР показує кількість копій химерного гена <i>BCR/ABL1</i> <sup>p210</sup> )                                                                                 | Рівень досягнутої відповіді на лікування |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| 1  | 1. <i>BCR/ABL1</i> -3<br>2. Кількісна ЗТ-ПЛР<br>3. Кількісна ЗТ-ПЛР<br>4. Кількісна ЗТ-ПЛР                                           | nuc ish( <i>ABL1</i> x3)( <i>BCR</i> x3)( <i>ABL1</i> con <i>BCR</i> x2)[223]<br>>85 %<br>3,917 %<br>15 %                                                                                | втрата відповіді                         |
| 2  | 1. <i>BCR/ABL1</i> -4<br>2. Кількісна ЗТ-ПЛР<br>3. Кількісна ЗТ-ПЛР<br>4. Кількісна ЗТ-ПЛР                                           | nuc ish( <i>ABL1</i> , <i>BCR</i> )x2 [320]<br>не виявлено<br>0,004 %<br>не виявлено                                                                                                     | глибока молекулярна відповідь            |
| 3  | 1. <i>BCR/ABL1</i> -8<br>2. Кількісна ЗТ-ПЛР<br>3. Кількісна ЗТ-ПЛР                                                                  | nuc ish( <i>ABL1</i> , <i>BCR</i> )x2[300]<br>0,031 %<br>0,031 %                                                                                                                         | основна молекулярна відповідь            |
| 4  | 1. <i>BCR/ABL1</i> -13<br>2. Кількісна ЗТ-ПЛР                                                                                        | nuc ish( <i>ABL1</i> , <i>BCR</i> x2)[315]<br>не виявлено                                                                                                                                | не виявлено<br><i>BCR/ABL1</i> p210      |
| 5  | 1. <i>BCR/ABL1</i> -15<br>2. Кількісна ЗТ-ПЛР                                                                                        | nuc ish( <i>BCR</i> , <i>ABL1</i> )x2[340]<br>не виявлено                                                                                                                                | не виявлено<br><i>BCR/ABL</i> p210       |
| 6  | 1. <i>BCR/ABL1</i> -20<br>2. Кількісна ЗТ-ПЛР                                                                                        | nuc ish( <i>ABL1</i> x3)( <i>BCR</i> x3)( <i>ABL1</i> con <i>BCR</i> x2)[369]/( <i>ABL1</i> , <i>BCR</i> )x2[36]<br>1,627 %                                                              | відповідь відсутня                       |
| 7  | 1. КРВ 25 (КМ)<br>2. <i>BCR/ABL1</i> -21<br>3. Кількісна ЗТ-ПЛР<br>4. Кількісна ЗТ-ПЛР<br>5. Кількісна ЗТ-ПЛР<br>6. Кількісна ЗТ-ПЛР | 46,XX,t(9;22)(q34;q11.2.2)[30]<br>nuc ish( <i>ABL1</i> , <i>BCR</i> )x3( <i>ABL1</i> con <i>BCR</i> x2)[234]/( <i>ABL1</i> , <i>BCR</i> )x2[253]<br>>85 %<br>0,252 %<br>0,997 %<br>1,3 % | втрата молекулярної відповіді            |
| 8  | 1. <i>BCR/ABL1</i> -22<br>2. Якісна ПЛР<br>3. Кількісна ЗТ-ПЛР                                                                       | nuc ish( <i>ABL1</i> x3)( <i>BCR</i> x3)( <i>ABL1</i> con <i>BCR</i> x2)[3]/( <i>ABL1</i> x2)( <i>BCR</i> x2)[367]<br>не виявлено<br>0,015 %                                             | основна молекулярна відповідь            |
| 9  | 1. <i>BCR/ABL1</i> -29<br>2. Кількісна ЗТ-ПЛР                                                                                        | nuc ish( <i>ABL1</i> x3)( <i>BCR</i> x3)( <i>ABL1</i> con <i>BCR</i> x1)[336]<br>0,833 %                                                                                                 | рання молекулярна відповідь              |
| 10 | 1. Кількісна ЗТ-ПЛР<br>2. КРВ 70 (КМ)<br>3. <i>BCR/ABL1</i> -33                                                                      | 11 %<br>46,XY,t(9;22)(q34;q11.2.2)[25]<br>nuc ish( <i>ABL1</i> x3)( <i>BCR</i> x3)( <i>ABL1</i> con <i>BCR</i> x2)[328]/( <i>ABL1</i> x2)( <i>BCR</i> x2)[72]                            | відповідь відсутня                       |
| 11 | 1. КРВ 54 (КМ)<br>2. Кількісна ЗТ-ПЛР<br>3. <i>BCR/ABL1</i> -35                                                                      | 46,XY,t(9;22)(q34;q11.2.2)[20]<br>>85 %<br>nuc ish( <i>ABL1</i> x2)( <i>BCR</i> x2)[400]                                                                                                 | глибока молекулярна відповідь            |
| 12 | 1. КРВ 29 (ПК)<br>2. Кількісна ЗТ-ПЛР<br>3. Кількісна ЗТ-ПЛР                                                                         | 46,XY,t(9;22)(q34;q11.2.2)[23]<br>75,057 %<br>3,606 %                                                                                                                                    | відповідь відсутня                       |

5 пацієнтів (42 %) досягли молекулярної відповіді на терапію, з них у 2 (17 %) зафіксована глибока молекулярна відповідь; у 2 пацієнтів (17 %) спостерігалася втрата відповіді, що вказує на рецидив; у 3 пацієнтів (25 %) рівень транскрипту *BCR/ABL1* показав відсутність молекулярної відповіді, що вказує на потребу корекції терапевтичної стратегії.

Результати проведених досліджень демонструють високу ефективність цитогенетичних, молекулярно-цитогенетичних та молекулярно-генетичних методів у діагностиці ХМЛ. Використання методів каріотипування, FISH та ЗТ-ПЛР дозволяє не лише точно встановити діагноз, але й здійснювати моніторинг впливу терапії та виявляти прогресування захворювання.

Каріотипування, проведене на клітинах кісткового мозку та периферійної крові, виявило транслокацію t(9;22)(q34;q11.2) у 55 % пацієнтів, що підтверджує його значення у стандартній діагностиці ХМЛ. Додатково у 9 % випадків виявлено складні хромосомні перебудови, що можуть мати прогностичне значення. Це свідчить про необхідність проведення каріотипування як першочергового методу діагностики.

Аналіз методом FISH показав, що транслокація t(9;22)(q34;q11.2) підтвердилася у 23 % випадків серед досліджених пацієнтів. Це підкреслює значення даного методу для встановлення діагнозу ХМЛ, особливо у випадках, коли каріотипування не дозволяє виявити характерні хромосомні аномалії. Крім того, FISH є ефективним у визначенні додаткових генетичних змін, які можуть впливати на перебіг хвороби та її відповідь на терапію.

Молекулярно-генетичний аналіз методом ЗТ-ПЛР дозволив визначити рівень експресії транскрипту *BCR/ABL1*. У 42 % пацієнтів, спостерігалася молекулярна відповідь, ще у 42 % виявлено відсутність або втрату відповіді, що свідчить про необхідність корекції терапевтичної стратегії.

### Висновки

Каріотипування виявило транслокацію t(9;22)(q34;q11.2) у 55 % пацієнтів. Додатково у 9 % випадків виявлено складні хромосомні перебудови. Методом FISH у 23 % підтверджено

транслокацію t(9;22)(q34;q11.2). Аналіз методом ЗТ-ПЛР показав, що 42 % пацієнтів досягли молекулярної відповіді на терапію. Водночас ще у 42 % спостерігалася відсутність або втрата відповіді.

На діагностичному етапі первинними методами виявлення Ph-хромосоми та додаткових хромосомних аномалій є каріотипування і FISH. Якщо результати стандартного цитогенетичного аналізу неінформативні або є підозра на мозаїцизм, слід застосувати FISH за допомогою якого можна підтвердити діагноз ХМЛ, незалежно від типу транскрипту *BCR/ABL1*. У разі негативного результату FISH за наявності клінічних ознак ХМЛ необхідно виконати ЗТ-ПЛР для визначення транскрипту *BCR/ABL1* та оцінки його рівня експресії. Подальший моніторинг терапії передбачає застосування ЗТ-ПЛР. Отже, ведення пацієнтів з ХМЛ не може обмежуватися лише одним дослідженням, важливим є поєднання різних методів. Широке впровадження каріотипування, FISH та ЗТ-ПЛР у клінічну практику дозволяє покращити діагностику ХМЛ, своєчасно адаптувати лікування та підвищити ефективність терапії для пацієнтів. Результати цієї роботи підтверджують доцільність застосування мультидисциплінарного підходу до діагностики та вибору стратегії лікування для пацієнтів з ХМЛ. Подальші дослідження мають бути спрямовані на виявлення додаткових генетичних маркерів, що можуть впливати на ефективність лікування.

### References

1. Heim S., Mitelman F. Cancer Cytogenetics. New York : Wiley-Liss, 1997. 316 p.
2. Tretyak N. M. Cytostatic and Supportive Therapy of Hemoblastoses: Treatment Standards. Kyiv : Avtograf. 2007. 174 p. [in Ukrainian]
3. Cianciulli A. M., Marzano R., Merola R., et al. Complex variant Philadelphia translocation involving the short arm of chromosome 9 in a case of chronic myeloid leukemia. *Haematologica*. 2004. Vol. 89. P. 127–128. <https://doi.org/10.1155/2014/691630>.
4. Cortes J. E., Talpaz M., O'Brien S. et al. Staging of chronic myeloid leukemia in the imatinib era: an evaluation of the World Health Organization proposal. *Cancer*. 2006. Vol. 106. P. 1306–1315. <https://doi.org/10.1002/cncr.21745>.
5. Van Dongen J., Macintyre E., Gabert J., et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. Report of the BIOMED-1 Concerted Action: Investigation of minimal residual disease in acute leukemia. *Leukemia*. 1999. Vol. 13. P. 1901–1928. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2401592>.
6. Pinkel D., Straume T., Gray J. W. Cytogenetic analysis using quantitative high sensitivity, fluorescence hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1986. Vol. 83. P. 2934–2938. doi: 10.1073/pnas.83.9.2934.
7. Pienkowska-Grela B. Analiza cytogenetyczna w nowotworach hematologicznych. *Poradnik*. Warszawa, 2004. 59 p.
8. Cytogenetic Methods for Studying Human Chromosomes. *Methodological Recommendations*. Kyiv, 2003. 24 p. [in Ukrainian]
9. Wang H. C., Fedoroff S. Banding in human chromosomes treated with trypsin. *Nature New Biology*. 1972. Vol. 235. P. 52–53. <https://doi.org/10.1038/newbio235052a0>.
10. McGowan-Jordan J., Simons A., Schmid M., eds. International System for Human Cytogenomic Nomenclature (ISCN) 2020. Basel : Karger, 2020. <https://doi.org/10.1159/isbn.978-3-318-06612-3>.
11. GENMARK Sağlık Ürünleri. Instructions for use: geneMAP™ BCR-ABL1 p210 (Mbc) IS-MMR Detection Kit. Issue 2.1. Istanbul, Turkey : Genmark Sağlık Ürünleri. 2021. 22 p.

12. Baccarani M., Deininger M. W., Rosti G., et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2013. Vol. 122. P. 872–884. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-05-501569>.

**MELNYK M.<sup>1</sup>, VALCHUK M.<sup>1</sup>, LEVANDIVSKA S.<sup>1</sup>, NAZAR R.<sup>2</sup>, KOROLCHUK O.<sup>3</sup>, KAROL Y.<sup>3</sup>, HULEIUK N.<sup>1</sup>, MAKUH H.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Scientific Medical-Genetic Center “LeoGEN”,

Ukraine, 79005, Lviv, Mykhaila Maksymovycha str., 7, ORCID: 0009-0009-9713-9044, 0009-0001-68861486, 0009-0000-0301-3200, 0000-0001-7697-4117, 0000-0001-7749-5353

<sup>2</sup> Lviv Oncology Regional Treatment and Diagnostic Center,

Ukraine, 79058, Lviv, Yaroslav Hasek str., 2a

<sup>3</sup> Municipal non-profit enterprise “5th City Clinical Polyclinic of Lviv”,

Ukraine 79000, Lviv, General Chuprynka str., 45

## **RESULTS OF MOLECULAR-CYTOGENETIC STUDIES IN CASES OF SUSPECTED CHRONIC MYELOID LEUKEMIA**

**Aim.** Chronic myeloid leukemia (CML) is a myeloproliferative disease and one of the most common chronic myeloproliferative disorders. The main objective of this study was to investigate the frequency and characteristics of chromosomal changes in patients with suspected or confirmed CML based on the results from the scientific medical-genetic center “LeoGEN”. **Methods.** The methods used in this study include GTG-karyotyping, FISH (fluorescence *in situ* hybridization), and RT-PCR (reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction). The research was conducted from January 2022 to October 2024. **Results.** FISH, GTG, and RT-PCR were performed on peripheral blood (PB) and bone marrow (BM) cells of 39 patients. FISH analysis using LSI *BCR/ABL1* dual-color Cytocell probes was performed on 35 samples. In BM cells of 11 out of 39 individuals, the GTG method identified or ruled out chromosomal changes. RT-PCR was performed on 12 BM cell samples. **Conclusions.** The results demonstrate the necessity of incorporating molecular and cytogenetic methods into clinical practice to improve CML management and optimize treatment strategies. A comparison of CML research results using different methods is presented, highlighting the importance of their integrated application.

**Keywords:** chronic myeloid leukemia, karyotyping, FISH, RT-PCR.