

Внутрихромосомная амплификация 21q (iAMP21) как маркер неблагоприятного прогноза при острых лимфобластных лейкозах из В-линейных предшественников

Ю.В. Ольшанская¹, А.Н. Казакова¹, А.А. Червова¹, Ю.В. Румянцева¹,
Д.В. Литвинов¹, Е.А. Зеркаленкова¹, О.И. Солдаткина¹, С.Н. Лагойко¹,
Н.В. Мякова¹, Г. Хенце², А.Г. Румянцев¹, А.И. Карачунский¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

² Pädiatrische Onkologie und Hämatologie Charité CVK, Universitätsmedizin Berlin

Детские острые лимфобластные лейкозы из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ) с внутрихромосомной амплификацией участка длинного плеча хромосомы 21 (iAMP21 – *intrachromosomal amplification of chromosome 21*) имеют крайне неблагоприятный прогноз при терапии согласно группе стандартного риска преимущественно за счет высокой частоты развития рецидивов. Терапия в соответствии с высокой группой риска кардинально меняет прогноз заболевания. В нашем исследовании проанализированы клинические особенности и результаты терапии детей с ВП-ОЛЛ и iAMP21, получавших лечение в рамках оригинального национального протокола лечения ОЛЛ у детей Москва–Берлин 2008 (ALL-MB 2008). Большинство пациентов было стратифицировано в группу стандартного и промежуточного рисков. При ВП-ОЛЛ с iAMP21 7-летняя бессобытийная выживаемость составила $0,48 \pm 0,24$ против $0,87 \pm 0,2$ в группе остальных пациентов; кумулятивная вероятность развития рецидива – $0,41 \pm 0,24$ и $0,07 \pm 0,2$ соответственно. Данная группа ВП-ОЛЛ требует изменения подхода к стратификации на группы риска и поиска новых подходов к терапии. Для точного и своевременного выявления iAMP21 необходимо исследование методом FISH в дебюте заболевания.

Ключевые слова: iAMP21, ОЛЛ из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ), FISH, хромосомные перестройки, прогноз.

Intrachromosomal amplification of chromosome 21 (iAMP21) is the marker of unfavorable prognosis in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia

Yu.V. Olshanskaya¹, A.N. Kazakova¹, A.A. Chervova¹, J.V. Rumiantseva¹, D.V. Litvinov¹, E.A. Zerkalenskova¹,
O.I. Soldatkina¹, S.N. Lagoiko¹, N.V. Myakova¹, G. Henze², A.G. Rumiantsev¹, A.I. Karachunskii¹

¹ Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

² Pädiatrische Onkologie und Hämatologie Charité CVK, Universitätsmedizin Berlin

Childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (BCP-ALL) with intrachromosomal amplification of chromosome 21 (iAMP21) has very unfavorable prognosis when treated according as standard risk group, mainly due to high risk of relapse. The outcome is improving dramatically when the patients were treated as high risk. In our study we analyzed clinical parameters and outcome in children with BCP-ALL and iAMP21 according to trial Moscow-Berlin 2008 (ALL-MB 2008). The majority of patients were stratified in standard and intermediate risk group. Seven years event free survival (EFS) in patients with iAMP21 and without iAMP21 was 0.48 ± 0.24 and 0.87 ± 0.2 respectively with cumulative incidence of relapse 0.41 ± 0.24 and 0.07 ± 0.2 . BCP-ALL with iAMP21 needs some changes in current stratification strategy and new approaches to treatment. For faster and accurate detection of iAMP21 evaluation by FISH technique must be applied.

Key words: iAMP21, B precursor acute lymphoblastic leukemia, FISH, chromosome rearrangement, prognosis.

Контактная информация:

Ольшанская Юлия Вячеславовна, канд. мед. наук, заведующая лабораторией цитогенетики и молекулярной генетики, НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России.

Адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1
Тел.: 8 (495) 287-6570

E-mail: yuliaolshanskaya@gmail.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2018-17-1-37-45

Correspondence:

Yulia Olshanskaya, M.D., Ph.D., Head of laboratory of cytogenetics and molecular genetics, Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation.

Address: Russia 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
Tel.: +7 (495) 287-6570

E-mail: yuliaolshanskaya@gmail.com

Внутрихромосомная амплификация участка длинного плеча хромосомы 21 (iAMP21 – *intrachromosomal amplification of chromosome 21*) – одна из значимых хромосомных перестроек, достоверно ухудшающих прогноз при острых лимфобластных лейкозах из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ) у детей [Moorman A.V.,

2007, Heerema N.A., 2013]. Частота встречаемости этой перестройки составляет примерно 2% детских ВП-ОЛЛ [1].

iAMP21 была определена как особая цитогенетическая подгруппа при рутинном скрининге методом FISH (флуоресцентная *in situ* гибридизация) для выявления транслокации t(12;21)/ETV6-RUNX1

в 2000–2003 годах [2–8]. При кариотипировании обычно визуализируются плохо идентифицируемые маркерные хромосомы в отсутствие нормальной второй хромосомы 21. При исследовании методом FISH с использованием ДНК-зонда к гену *RUNX1* наблюдается увеличение числа копий гена *RUNX1* свыше пяти с кластеризацией сигналов. Количество дополнительных копий может значительно варьировать.

Впоследствии исследовательские группы MRC и COG на ретроспективных когортах пациентов показали крайне неблагоприятное влияние этой перестройки на прогноз заболевания. Бессобытийная выживаемость составила 30–40%, преимущественно за счет высокой частоты развития рецидивов. Пациенты с *iAMP21* имеют низкое число лейкоцитов в дебюте заболевания, ранее при отсутствии других прогностически неблагоприятных параметров их обычно стратифицировали в группу стандартного риска и назначали терапию умеренной интенсивности [2, 9]. Среди других клинико-гематологических особенностей отмечено, что пациенты с *iAMP21* старше, чем в других генетических подгруппах, однако у пациентов старше 30 лет перестройка практически не встречается; преобладают девочки, число лейкоцитов редко превышает 10–15 тыс. в мкл [10]. Следует отметить, что в отечественном протоколе ALL-MB 2008, как и в ранних европейских протоколах лечения ОЛЛ, этот генетический маркер не применялся для стратификации.

iAMP21 считается основным драйверным событием в развитии данного вида лейкемии [11]. При кариотипировании и FISH значительно варьирует как количество сигналов от гена *RUNX1*, так и вид и число структурных перестроек внутри маркерной хромосомы 21, кроме того, описано значительное число дополнительных хромосомных перестроек, самые частые из которых – дополнительная хромосома X и моносомия 7, 10, 14. При исследовании методом MLPA (множественная лигазная амплификация зондов) выявлены многочисленные делеции и амплификации в генах, ответственных за дифференцировку и пролиферацию В-лимфоцитов, – *ETV6*, *RB1*, *CRLF2*. Описаны единичные случаи одновременного присутствия в лейкоэмических клетках *iAMP21* и *BCR/ABL* или *ETV6/RUNX1* транскриптов [10, 12]. В этих случаях *iAMP21* рассматривают как дополнительную перестройку.

Флуоресцентная *in situ* гибридизация признана наиболее надежным методом определения *iAMP21* [10]. Согласно принятым рекомендациям, к ВП-ОЛЛ с *iAMP21* относят случаи с тремя и более дополнительными копиями гена *RUNX1* на аномальной (маркерной) хромосоме 21 при FISH на метафазных пластинках или пять и более сигналов от региона *RUNX1* при исследовании интерфазных ядер [10]. Стандартным зондом для выявления *iAMP21* служит ДНК-зонд

для детекции химерного гена *ETV6/RUNX1*, который позволяет выявить как *t(12;21)*, так и *iAMP21*, а также делецию гена *ETV6* и дополнительные копии нормальной хромосомы 21. В отсутствие метафазных пластинок для исключения гиперплоидного клона с дополнительными копиями хромосомы 21 выполняют исследование методом FISH с ДНК-зондами к центромерам хромосом 4, 10 и 17. Учитывая случаи ассоциации *iAMP21* с *t(9;22)* и *t(12;21)*, исследование стратифицирующих транслокаций проводят обязательно.

Несмотря на разнообразие структуры маркерной хромосомы 21 и паттернов амплификации гена *RUNX1*, с помощью метода сравнительной геномной гибридизации было показано, что общий регион амплификации составляет 5,1–6,6 Mb хромосомы 21 и включает в себя, помимо гена *RUNX1*, целый ряд других генов, что затрудняет поиск конкретных патогенетических механизмов. Кроме того, амплификация сопровождается инверсиями, проксимальными и дистальными делециями, в том числе полной утратой теломерного участка хромосомы 21 [13].

Несмотря на увеличение числа копий гена *RUNX1* в результате амплификации, повышения экспрессии его при анализе экспрессионного профиля не выявлено [9, 13]. В то же время у 60% пациентов выявлены субклональные мутации в ряде генов, задействованных в активации сигнального пути RAS [14].

Механизм амплификации и столь массивной перестройки генетического материала 21 хромосомы до конца не понятен. Вероятно, в амплификации играет роль так называемый механизм *breakage-fusion-bridge* [9, 13]. В результате генетической нестабильности либо некоего катастрофического для 21 хромосомы события (хромотрипсис) возникают двухцепочечные разрывы 21 хромосомы с одновременной потерей теломерных участков, при попытке репарации которых путем микргоммологичной рекомбинации образуются мостики между реплицирующимися гомологами (*breakage-fusion-bridge cycle*) [15]. При расхождении хромосом в анафазе происходит разрыв образовавшейся структуры, но не обязательно в месте репарации, в результате чего дочерние клетки получают перестроенные 21 хромосомы [16].

Учитывая исключительную прогностическую значимость данного генетического маркера, доказанную в исследованиях MRC и COG, целью настоящей работы было определить клинико-гематологические характеристики и результаты терапии детей с ВП-ОЛЛ с *iAMP21* в рамках оригинального национального протокола лечения острых лимфобластных лейкозов у детей Москва–Берлин 2008 (ALL-MB 2008). Особенность данного протокола в отличие от западных состоит в низкой его интенсивности и отсутствии высокодозной химиотерапии для большинства пациентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование были включены 875 пациентов с ВП-ОЛЛ, обследованные с 2010 по 2014 год в лаборатории цитогенетики и молекулярной генетики НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России и получившие терапию в рамках мультицентрового исследования ALL-MB 2008 в различных клиниках России. Диагноз «ОЛЛ из В-линейных предшественников» устанавливали на основании стандартных морфологических показателей [17] и данных иммунофенотипирования согласно критериям группы EGIL [18, 19].

Кариотипирование проводили после краткосрочного культивирования по общепринятым методикам. Исследование методом FISH с ДНК-зондами к *ETV6/RUNX1*, *MLL*, *BCR/ABL*, трисомии 4, 10, 17 проводили последовательно, согласно инструкциям фирм-производителей, опираясь на данные кариотипирования. Все цитогенетические данные описывали в соответствии с критериями Международной цитогенетической номенклатуры ISCN 2013 [20].

Статистика. При сравнении групп пациентов по категориальным признакам использовали критерий χ^2 или критерий Фишера; для анализа количественных данных – критерии Манна–Уитни–Уилкоксона, Колмогорова–Смирнова. Анализ выживаемости проводили по методу Каплана–Майера, для сравнения кривых выживаемости использовали непараметри-

ческий *log-rank* критерий. Выживаемость рассчитывали от даты диагностики ОЛЛ до даты наступления неблагоприятного события или даты последнего контакта с пациентом. При оценке EFS событиями считались: смерть в индукции, смерть в ремиссии, рецидив, вторая опухоль, рефрактерность к терапии (*non-responder*). У пациентов, не достигших ремиссии, датой наступления события считали нулевую точку (дата диагноза). Кумулятивная частота (CI) рассчитана по методике *J. Kalbfleisch, R. Prentice*, для сравнения рисков использовали метод Грея.

Мультифакторный анализ был проведен с использованием модели пропорциональных рисков Кокса, логистической регрессии и деревьев принятия решений (*decision tree* и *random forest*). Для оценки качества моделей использовали оценки функции правдоподобия и основанные на ней информационные критерии Акаике и Шварца, а также ROC-анализ.

Статистический анализ выполнен с использованием программного обеспечения SPSS (v.23.0, IBM Inc.), XLSTAT (Addinsoft) и R-statistics. Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Кариотипирование и FISH. Внутривитриномная амплификация участка длинного плеча хромосомы 21 была выявлена у 19 (2,2%) из 875 пациентов при исследовании методом FISH (табл. 1, 2).

Таблица 1
Данные кариотипирования и FISH

№	Код	Возраст/пол	Число лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	Число сигналов в интерфазном ядре	Кариотипы пациентов
1	4196	13,4/ж	1,0	> 5, кластеры	50, XX, iso(9q), +14,+15, der(17), der(19), +22, +22 [7]/ 46, XX [5]
2	4123	5,8/м	5,7	> 5, кластеры	46, XY, add(12q24), der(21) [3]/46, XY [17]
3	4057	5,4/м	14,5	> 5, кластеры	45-47, X, -Y, +X, -14, +2mar [cp5]
4	3970	16,4/ж	23,6	> 5	46, XX, del(12p)?, dup(21) [7]
5	3681	15,7/м	14	> 5	46, XY, der(16)?, der(17)?, -21, +mar [8]/46, XY [2]
6	2792	4,85/ж	15,2	> 5, кластеры	48, XX, +2 mar [2]
7	2274	2,7/ж	5,5	> 5	48, XX, +2mar, +mar(ampRUNX1)? [5]
8	1652	15,7/м	3,1	> 5	84, XXXYY, -2, -6, -7, -7, -9, -13, -16, -17, -19, -20, -21, -21, +22, +22, +mark [20]
9	1037	8,4/ж	20	> 5, кластеры	46, XX, del(12)(p10), der(14)add(14q), der(18), der(21) [6]
10	4228	7,5/ж	11,5	> 5, кластеры	Нет митозов
11	3263	9,3/ж	45	> 5, кластеры	Нет митозов
12	2476	13,7/ж	2,6	> 5, кластеры	Нет митозов
13	2419	14,4/м	5,5	> 5	Нет митозов
14	2404	5/м	4,8	> 5, кластеры	Мазок костного мозга
15	2341	13,5/ж	1,1	> 5, кластеры	Нет митозов
16	2330	8,8/ж	4,6	> 5, кластеры	Нет митозов
17	2007	15,4/ж	4,3	> 5, кластеры	Нет митозов
18	1795	6,6/ж	12	> 5, кластеры	Нет митозов
19	1623	14/ж	1,2	> 5, кластеры	Нет митозов

Таблица 2

Клинико-гематологическая характеристика пациентов

Показатель		Всего		He iAMP21		iAMP21		p
		n	%	n	%	n	%	
Всего		875	100	856		19	100	
Пол	мальчики	460	53	454	53	6	32	0,06
	девочки	415	47	402	47	13	68	
Возраст, лет	медиана (разброс)	4,2 (1,01–17,9)		4,1 (1,01–17,9)		9,3 (2,7–16,4)		0,0001
	< 5	524	60	521	61	3	16	0,0001
	≥ 5 и < 10	220	25	213	25	7	37	
	≥ 10 и < 18	131	15	122	14	9	47	
Группа риска	стандартный (SR)	455	52	440	51	15	79	0,04
	промежуточный (ImR)	327	37	325	38	2	11	
	высокий (HR)	93	11	91	11	2	11	
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л	медиана (разброс)	10,5 (0,5–750)		10,5 (0,5–750)		5,5 (1–45)		0,0001
Ответ на 8-й день, периферическая кровь	< 1000 бл. кл./мкл	768	96	752	96	16	100	0,4
	≥ 1000 бл. кл./мкл	32	4	32	4	0	0	
Ответ на 15-й день, костный мозг	< 10% бл. кл. в КМ	675	82	665	83	10	59	0,01
	≥ 10% бл. кл. в КМ	146	18	139	17	7	41	
Потерины для наблюдения, n		4		4		0		
Рецидивы, n		61		54		7		0,0001
Смерть в индукции, n		15		15		0		0,6
Смерть в ремиссии, n		30		28		2		0,09
Non-responder, n		2		2		0		0,8
EFS, %					87 ± 2		48 ± 24	0,00001
CI Relapses, %					7 ± 2		41 ± 24	0,00001

Анализ кариотипа удалось выполнить у 9 из 19 пациентов; в 9 случаях не было митозов, в одном случае для исследования имелись только мазки костного мозга для FISH-исследования. Мы связываем такой большой процент неудач в первую очередь с тем, что время доставки образцов в лабораторию из региональных клиник зачастую составляет 24 часа и более. В большинстве случаев имели место комплексные хромосомные перестройки и маркерные хромосомы (табл. 1).

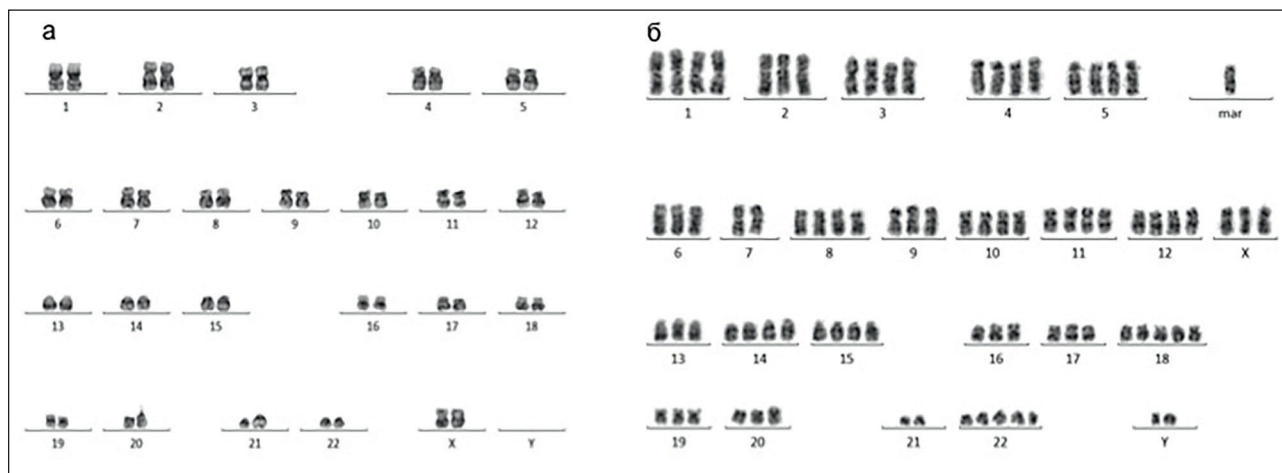
В двух случаях при FISH на метафазных пластинках было показано, что маркерные хромосомы представлены материалом хромосомы 21, а точнее повторяющимся сегментом 21q. Классическая гипердиплоидия была исключена у всех пациентов с неудавшимся кариотипированием (рис. 1, 2). Картина распределения сигналов при исследовании методом FISH была разнообразной: наиболее частые варианты – ядра с пятью отдельно лежащими и ядра с кластеризующимися сигналами в одном образце или большие кластеры – пятна в большинстве ядер,

реже – ядра с 7–10 отдельными сигналами, часто разного размера. Обнаружение метафазной пластинки с маркерной хромосомой, выполненной материалом 21q или несколькими сигналами на одной 21 хромосоме, в значительной степени облегчает идентификацию маркеров, найденных в кариотипе, и служат критерием диагностики iAMP21. В одном случае имело место сочетание удвоенного гипоплоидного клона и внутрихромосомной амплификации 21q. Подробный кариотип пациентов с iAMP21 и распределение сигналов при FISH-исследовании приведены в таблице 1.

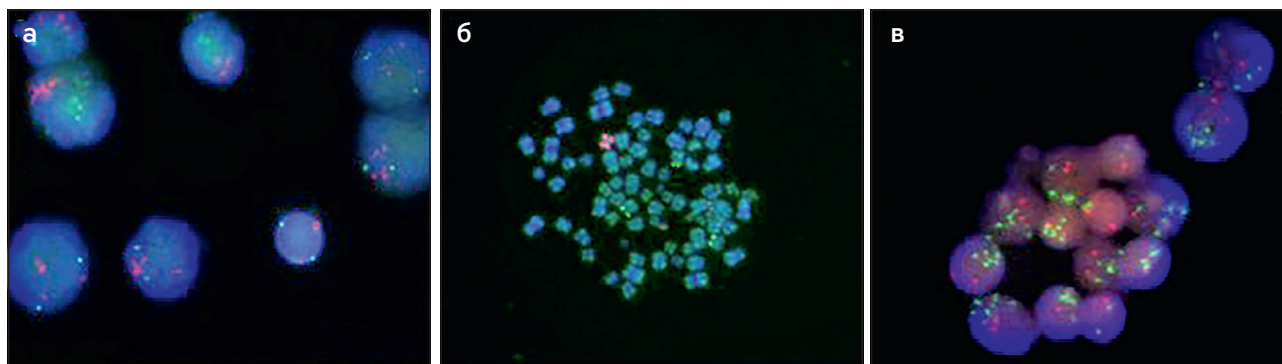
Клинико-гематологическая характеристика. Клинико-гематологическая характеристика и результаты терапии представлены в таблице 2. Среди пациентов с наличием iAMP21 преобладали девочки (соотношение 1:2,2). Медиана возраста составила 9,3 года (от 2,7 до 16,4 года). Возраст мальчиков распределился следующим образом: 3 пациента в возрасте 14,4–15,7 года (медиана – 15,6) и 3 пациента в возрасте 4,96–5,85 года

Рисунок 1

Кариотипы пациентов с IAMP21: **а** – 46, XX, der(21); **б** – 84, XXXYY, -2, -6, -7, -7, -9, -13, -16, -17, -19, -20, -21, -21, +22, +22, +22, +mark

**Рисунок 2**

Варианты распределения сигналов при iAMP21 при исследовании методом FISH: **а** – FISH с ДНК-зондом к t(12;21) Vysis LSI ETV6/RUNX1 ES (Abbott Molecular Inc.); ядра с пятью сигналами от гена RUNX1 (красные сигналы) и ядра с кластеризацией сигналов; **б** – FISH с ДНК-зондом к t(12;21) Vysis LSI ETV6/RUNX1 ES (Abbott Molecular Inc.); метафазная пластинка; маркерная хромосома представлена повторяющимися копиями гена RUNX1 (красные сигналы); **в** – FISH с ДНК-зондом к t(12;21) XL TEL/AML1 (MetaSystems Inc.); семь и более сигналов от RUNX1 (зеленые сигналы) с кластеризацией

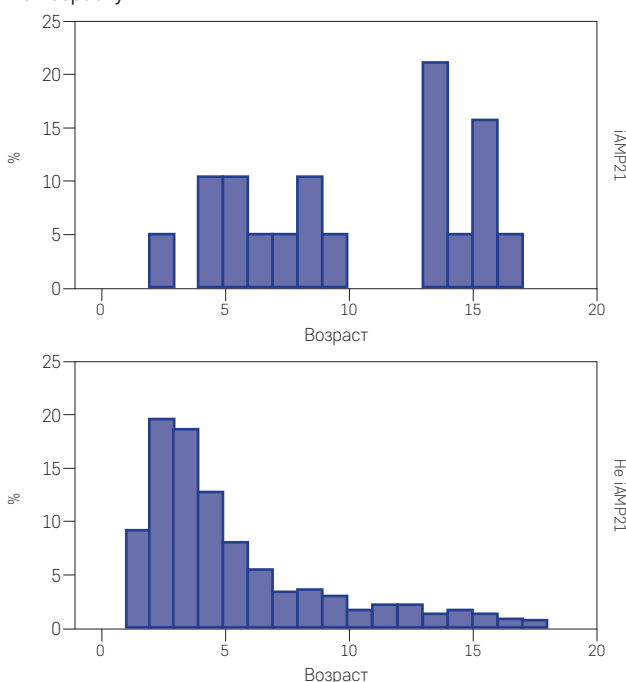


(медиана – 5,39). Для девочек медиана возраста составила 9,3 года (от 2,7 до 16,4 года) (рис. 3).

Преобладали пациенты с ВII иммунофенотипом (73,2%), в остальных случаях иммунофенотип определен как В-линейный (исследование проводили в отсутствие центрального референса). Медиана инициального числа лейкоцитов составила $5,5 \times 10^6/\text{л}$ ($1,0\text{--}45 \times 10^6/\text{л}$). Лишь у одного пациента число лейкоцитов в дебюте заболевания было больше $30 \times 10^6/\text{л}$ (критерий стратификации пациентов в группу промежуточного риска). Спленомегалия (≥ 4 см ниже реберной дуги) наблюдалась у двух пациентов (критерий стратификации пациентов в группу промежуточного риска), гепато-спленомегалия – у одного, гепатомегалия – у трех пациентов. Первоначально 16 пациентов были стратифицированы в группу стандартного риска (SRG); трое – в группу промежуточного риска (ImRG); два пациента (по одному из каждой группы риска), имевшие в костном мозге более 5% бластных клеток на 36-й день терапии, были переведены в группу высокого риска (HR). Пациентов с синдромом Дауна в данной когорте пациентов не было.

Рисунок 3

Особенности распределения пациентов с iAMP21 и без iAMP21 по возрасту



Результаты терапии. Среди пациентов с iAMP21 не было первично-рефрактерных, все пациенты достигли ремиссии; двое – после перевода в группу высокого риска, так как не достигли ремиссии на 36-й день терапии (табл. 2). Бластные клетки в периферической крови на 8-й день терапии (предфаза, дексаметазон – 6 мг/м²/сут) сохранялись у двух больных; на 36-й день у обоих констатировали ремиссию. Два пациента погибли в ремиссии заболевания от инфекционных осложнений. Медиана наблюдения составила 3,6 года. В группе пациентов с iAMP21 7-летняя бессобытийная выживаемость составила $0,48 \pm 0,24$, это достоверно ниже, чем во всей остальной когорте пациентов ($0,87 \pm 0,2$; $p = 0,0001$) (рис. 4).

У 7 (31,6%) пациентов развился рецидив заболевания. Кумулятивная вероятность развития рецидива (CIR) составила $0,41 \pm 0,24$, что достоверно выше, чем в группе без хромосомных перестроек ($0,07 \pm 0,2$; $p = 0,0001$) (рис. 5). Медиана времени до развития рецидива – 30 мес. (от 6 до 42 мес.); у 3 пациентов рецидивы возникли более чем через 6 мес. от окончания поддерживающей терапии. Из 7 пациентов с рецидивом заболевания четверо умерли от прогрессии лейкоза. Кумулятивная вероятность гибели от терапии составила $0,1 \pm 0,09$ (рис. 5). Общая выживаемость в группе с iAMP21 составила $0,65 \pm 0,21$ против $0,92 \pm 0,02$ в группе всех остальных пациентов (рис. 6).

При многофакторном анализе наличие iAMP21 было независимым прогностическим фактором выживаемости наряду с t(4;11), t(9;22), гипоплоидным кариотипом, инициальным числом лейкоцитов и ответом на терапию на 15-й день лечения.

Двоим пациентам из группы высокого риска была выполнена трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Пациенту № 4 через 3 мес. от начала заболевания выполнили ТГСК от полностью совместимого донора; через 18 мес. у него развился комбинированный рецидив заболевания (костный мозг, ЦНС); была проведена повторная ТГСК от гаплоидентичного родственного донора через 3 мес., в данный момент пациент находится в ремиссии 9 мес. Пациент № 15, которому была выполнена ТГСК от совместимого неродственного донора с TcRab-деплецией, погиб от трансплантационно-ассоциированных осложнений.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Наше исследование подтверждает полученные ранее другими группами клинико-гематологические характеристики ВП-ОЛЛ с внутрихромосомной амплификацией участка длинного плеча хромосомы 21 (iAMP21). Частота встречаемости iAMP21 составила

Рисунок 4

Бессобытийная выживаемость в группах больных ВП-ОЛЛ с iAMP21 и без iAMP21

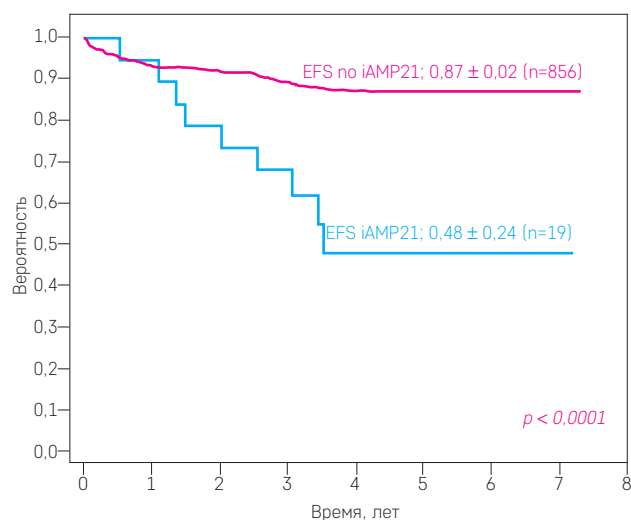


Рисунок 5

Кумулятивная вероятность развития рецидива и гибели от терапии в группах больных ВП-ОЛЛ с iAMP21 и без iAMP21

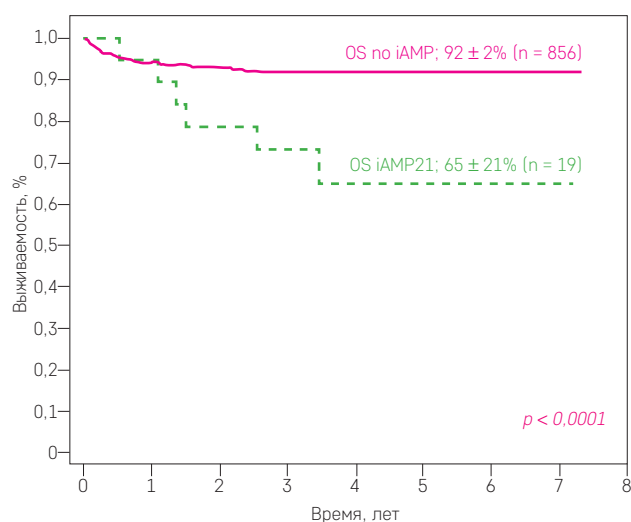
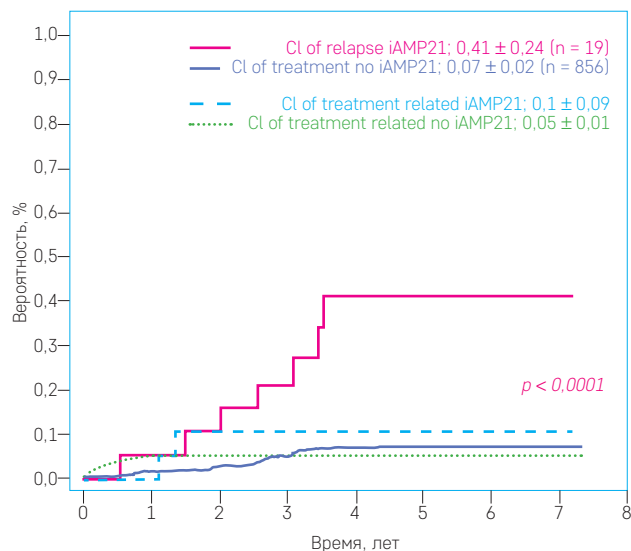


Рисунок 6

Общая выживаемость в группах больных ВП-ОЛЛ с iAMP21 и без iAMP21



2,2%, что соответствует опубликованным данным. Пациенты с iAMP21 имели низкое число лейкоцитов в периферической крови в дебюте заболевания, лишь у одного из них число лейкоцитов превышало $30 \times 10^6/\text{л}$. Преобладали девочки; более половины пациентов были старше 10 лет [1–10, 21].

Поскольку в протоколе ALL-MB2008 внутривенная амплификация 21 не являлась стратифицирующим фактором, в силу низкого инициального числа лейкоцитов 17 из 19 пациентов были определены в группу стандартного риска; в группу промежуточного риска попали только два пациента: один с числом лейкоцитов $45 \times 10^6/\text{л}$ и один с выраженной спленомегалией. По одному пациенту из групп стандартного и промежуточного рисков не достигли ремиссии на 36-й день и были переведены в группу высокого риска для проведения более интенсивной полихимиотерапии с последующей ТГСК. Один из пациентов погиб от посттрансплантационных осложнений, другой – от прогрессии заболевания. Оценить результаты ТГСК не представляется возможным из-за малого числа наблюдений.

Результаты терапии пациентов с iAMP21 оказались крайне неутешительными: 7-летняя бессобытийная выживаемость составила $0,48 \pm 0,24$, а кумулятивный риск развития рецидива – $0,41 \pm 0,24$, что достоверно ниже, чем в группе пациентов без этой перестройки: $0,87 \pm 0,02$ и $0,07 \pm 0,02$ соответственно ($p = 0,0001$). В нашей когорте не было первично-рефрактерных пациентов. Медиана времени до развития рецидива составила 30 мес. (от 6 до 42 мес.); поздние рецидивы отмечены у половины пациентов. Различий в выживаемости и кумулятивной частоте развития рецидива между мальчиками и девочками, детьми до 10 лет и старше не выявлено.

Похожие результаты ранее были продемонстрированы несколькими группами при ретроспективном анализе результатов лечения по более ранним протоколам терапии. Так, по данным группы UK MRC – ALL97/99, 5-летняя бессобытийная выживаемость и вероятный риск развития рецидива составили 29 и 71% соответственно. При этом пациенты получали терапию как по режиму А (стандартный риск), так и по режиму В (высокий риск) [2]. Полученные результаты были учтены в следующем протоколе терапии группы UK MRC – ALL2003: пациенты с iAMP21 получали терапию для группы очень высокого риска (режим С): усиленная BFM-подобная консолидация, интенсивная поддерживающая терапия по Capizzi, двойная отсроченная интенсификация и возможность ТКМ в 1-й ремиссии. В результате 5-летняя бессобытийная выживаемость составила 78%, риск развития рецидива снизился с 70 до 16%, общая выживаемость – 89% [10, 22]. Этот случай – яркое свидетельство того, что изменение терапии с учетом

генетического маркера решительно меняет судьбу пациентов.

Схожие результаты продемонстрировала группа BFM (*Austrian and German ALL-Berlin-Frankfurt-Münster (ALL-BFM) trials 86, 90, 95, and 2000*): 6-летняя безрецидивная и общая выживаемость составили 37 и 66% соответственно. При этом почти все рецидивы произошли в группе пациентов, у которых сохранялся определенный уровень MRD (MRD *Intermediate R* [Attarbaschi A., 2008]). Группа BFM, согласно протоколу которой терапия группы стандартного риска уже достаточно интенсивна, не использует этот маркер для стратификации. Исследования группы BFM показывают, что рестратификация на основе мониторинга минимальной остаточной болезни позволяет преодолеть неблагоприятный прогноз у этих больных [23].

По данным группы COG (COG AALL0331, COG AALL0332), анализировавшей 158 пациентов, прогноз достоверно хуже у пациентов с iAMP21 из группы стандартного риска (SR), причем как в когорте MRD-положительных, так и MRD-негативных пациентов: 4-летняя безрецидивная выживаемость – 72,2% против 92,2% в группе пациентов без iAMP21 ($p = 0,001$). В общей когорте пациентов и отдельно в группе высокого риска (режимы, аналогичные режиму С для очень высокого риска UK MRC ALL97/99) достоверных различий в бессобытийной и общей выживаемости по сравнению с группой пациентов без iAMP21 выявлено не было. При этом риск развития рецидива у пациентов с iAMP21 и промежуточным уровнем MRD выше, чем у пациентов без iAMP21. Стоит отметить, что в группу высокого риска группы COG были определены пациенты старше 10 лет, а это около половины пациентов с iAMP21 [1].

В нашей когорте пациентов только трое были старше 15 лет и только один имел число лейкоцитов более 30 тыс. в мл, таким образом, 89,5% пациентов с iAMP21 получили терапию в соответствии с группой стандартного риска. Учитывая, что добиться стойких ремиссий у большинства больных удастся только после применения крайне агрессивной химиотерапии с последующей трансплантацией костного мозга, очевидно, что для данной группы пациентов клинические критерии стратификации не применимы в силу биологических особенностей данного типа лейкемии. Наличие iAMP21 как маркера высокого риска требует аккуратного его выявления для определения тактики терапии этой группы пациентов в последующих протоколах.

Рецидивы при ВП-ОЛЛ с iAMP21 в половине случаев развились уже после завершения поддерживающей терапии и у 4 пациентов были резистентны к проводимой терапии: из 7 пациентов с рецидивом заболевания четверо умерли от прогрессии забо-

левания. Следует отметить, что пациенты получали только химиотерапию без проведения ТГСК.

Сложности лечения данной группы пациентов кроются, очевидно, в биологических особенностях этой лейкемии. К сожалению, генетические механизмы развития данной группы ОЛЛ досконально не известны. V. Rand и соавт. показали, что iAMP21 – очевидно, первое драйверное событие. Общий для всех пациентов регион амплификации – 5,1–6,6 мегабаз – содержит *RUNX1* и прилежащие гены, в то же время у 77% пациентов также имеет место делеция теломерного участка размером 3,3 мегабазы. При этом исследования экспрессионного профиля не показали различий в экспрессии биологически значимых генов, расположенных в этих регионах, в том числе гена *RUNX1*. На момент дебюта заболевания данный лейкоз уже имеет сложную субклональную архитектуру, в качестве дополнительных обнаруживают мутации/делеции в генах *RB1* (37%), *ETV6* (19%), *IKZF1* (22%), *CDKN2A/B* (17%), *PAX5* (8%), реаранжировку *P2RY8-CRLF2* (22%) и ряд других [10, 11]. В результате iAMP21 и сопутствующих дополнительных перестроек происходит потеря, амплификация, множественные перестройки генетического материала. Почти у 40% пациентов были обнаружены мутации в различных генах сигнального пути RAS, но в подавляющем большинстве описанных случаев эти мутации имели субклональный характер [14]. Обнаружение общих генетических событий, приводящих к развитию данного типа лейкемии, а затем и к развитию рецидива, остается важной исследовательской задачей как в контексте поиска новых терапевтических мишеней для улучшения

результатов терапии, так и возможного снижения интенсивности программного лечения этой группы пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интенсивная высокодозная химиотерапия с последующей трансплантацией гемопоэтических предшественников, несомненно, позволяет преодолеть крайне неблагоприятный прогноз при iAMP21, при этом она крайне токсична и сопровождается целым рядом осложнений. Рецидивы заболевания очень плохо поддаются терапии. Необходим поиск новых подходов к терапии этой группы пациентов. Однако сложность и многочисленность геномных перестроек затрудняют поиск истинных патогенетических механизмов развития данного типа опухоли. На данном этапе развития терапии острых лимфобластных лейкозов у детей необходима коррекция стратификации на группы риска с учетом полученных данных о вероятности развития рецидива и показателей выживаемости у пациентов с iAMP21.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Ю.В. Ольшанская <http://orcid.org/0000-0002-2352-7716>

Д.В. Литвинов <http://orcid.org/0000-0002-7461-0050>

Н.В. Мякова <http://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

А.Г. Румянцев <http://orcid.org/0000-0002-1643-5960>

Литература

- Heerema N.A., Carroll A.J., Devidas M., Loh M.L., Borowitz M.J., Gastier-Foster J.M., et al. Intrachromosomal amplification of chromosome 21 is associated with inferior outcomes in children with acute lymphoblastic leukemia treated in contemporary standard-risk children's oncology group studies: a report from the children's oncology group. *J Clin Oncol* 2013; 31 (27): 3397–402.
- Moorman A.V., Richards S.M., Robinson H.M., Strefford J.C., Gibson B.E., Kinsey S.E., et al. UK Medical Research Council (MRC)/National Cancer Research Institute (NCRI) Childhood Leukaemia Working Party (CLWP). Prognosis of children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) and intrachromosomal amplification of chromosome 21 (iAMP21). *Blood* 2007; 109 (6): 2327–30.
- Dubé I.D., el-Solh H. An apparent tandem quadruplication of chromosome 21 in a case of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1986; 23 (3): 253–6.
- Baialardo E.M., Felice M.S., Rossi J., Barreiro C., Gallego M.S. Tandem triplification and quadruplication of chromosome 21 in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1996; 92 (1): 43–5.
- Busson-Le Coniat M., Nguyen Khac F., Daniel M.T., Bernard O.A., Berger R. Chromosome 21 abnormalities with AML1 amplification in acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosomes* 2001; 32 (3): 244–9.
- Mathew S., Rao P.H., Dalton J., Downing J.R., Raimondi S.C. Multicolor spectral karyotyping identifies novel translocations in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2001; 15 (3): 468–72.
- Soulier J., Trakhtenbrot L., Najfeld V., Lipton J.M., Mathew S., Avet-Loiseau H., et al. Amplification of band q22 of chromosome 21, including AML1, in older children with acute lymphoblastic leukemia: an emerging molecular cytogenetic subgroup. *Leukemia* 2003; 17 (8): 1679–82.
- Harewood L., Robinson H., Harris R., Al-Obaidi M.J., Jalali G.R., Martineau M., et al. Amplification of AML1 on a

- duplicated chromosome 21 in acute lymphoblastic leukemia: a study of 20 cases. *Leukemia* 2003; 17 (3): 547–53.
9. Robinson H.M., Broadfield Z.J., Cheung K.L., Harewood L., Harris R.L., Jalali G.R., et al. Amplification of AML1 in acute lymphoblastic leukemia is associated with a poor outcome. *Leukemia* 2003; 17 (11): 2249–50.
 10. Harrison C.J., Moorman A.V., Schwab C., Carroll A.J., Raetz E.A., Devidas M., et al. Ponte di Legno International Workshop in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. An international study of intrachromosomal amplification of chromosome 21 (iAMP21): cytogenetic characterization and outcome. *Leukemia* 2014; 28(5): 1015–21.
 11. Rand V., Parker H., Russell L.J., Schwab C., Ensor H., Irving J., et al. Genomic characterization implicates iAMP21 as a likely primary genetic event in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2011; 117 (25): 6848–55.
 12. Gu J., Reynolds A., Fang L., DeGraffenreid C., Sterns K., Patel K.R., et al. Coexistence of iAMP21 and ETV6-RUNX1 fusion in an adolescent with B cell acute lymphoblastic leukemia: literature review of six additional cases. *MolCytogenet* 2016; 9: 84.
 13. Strefford J.C., van Delft F.W., Robinson H.M., Worley H., Yiannikouris O., Selzer R., et al. Complex genomic alterations and gene expression in acute lymphoblastic leukemia with intrachromosomal amplification of chromosome 21. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006; 103 (21): 8167–72.
 14. Ryan S.L., Matheson E., Grossmann V., Sinclair P., Bashton M., Schwab C., et al. The role of the RAS pathway in iAMP21-ALL. 2016; 30 (9): 1824–31.
 15. Harrison C.J. Blood Spotlight on iAMP21 acute lymphoblastic leukemia (ALL), a high-risk pediatric disease. *Blood* 2015; 125 (9): 1383–6.
 16. Kuchinskaya E., Nordgren A., Heyman M., Schoumans J., Corcoran M., Staaf J., et al. Tiling-resolution array-CGH reveals the pattern of DNA copy number alterations in acute lymphoblastic leukemia with 21q amplification: the result of telomere dysfunction and breakage/fusion/breakage cycles? *Leukemia* 2007; 21 (6): 1327–30.
 17. Bennett J., Catovsky D., Daniel M., Flandrin G., Galton D., Gralnick H., et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 1976; 33 (4): 451–8.
 18. Bene M.C., Castoldi G., Knapp W., Ludwig W.D., Matutes E., Orfao A., et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995; 9(10): 1783–6.
 19. Béné M.C., Nebe T., Bettelheim P., Buldini B., Bumbea H., Kern W., et al. Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: a consensus proposal of the European LeukemiaNet Work Package 10. *Leukemia* 2011; 25(4): 567–74.
 20. ISCN 2013: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2013) Recommendations of the International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature (ed.: L.G. Shaffer, J. McGowan-Jordan, M. Schmid). Basel: Karger, 2013.
 21. Johnson R.C., Weinberg O.K., Cascio M.J., Dahl G.V., Mitton B.A., Silverman L.B., et al. Cytogenetic Variation of B-Lymphoblastic Leukemia With Intrachromosomal Amplification of Chromosome 21 (iAMP21): A Multi-Institutional Series Review. *Am J Pathol* 2015; 144 (1): 103–12.
 22. Moorman A.V., Robinson H., Schwab C., Richards S.M., Hancock J., Mitchell C.D., et al. Risk-directed treatment intensification significantly reduces the risk of relapse among children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia and intrachromosomal amplification of chromosome 21: a comparison of the MRC ALL97/99 and U.KALL2003 trials. *Clin Oncol* 2013; 31 (27): 3389–96.
 23. Attarbaschi A., Mann G., Panzer-Grümayer R., Röttgers S., Steiner M., König M., et al. Minimal residual disease values discriminate between low and high relapse risk in children with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia and an intrachromosomal amplification of chromosome 21: the Austrian and German acute lymphoblastic leukemia Berlin–Frankfurt–Münster (ALL-BFM) trials. *J Clin Oncol* 2008; 26 (18): 3046–50.