

# Острый лимфобластный лейкоз из ранних предшественников Т-клеток

## (обзор литературы и собственные клинические наблюдения)

Э.Г.Бойченко<sup>1</sup>, А.М.Попов<sup>2,3</sup>, Т.А.Макарова<sup>1</sup>, Н.Н.Дохина<sup>1</sup>, И.А.Гарбузова<sup>1</sup>,  
О.В.Макарова<sup>2</sup>, О.Р.Аракаев<sup>2</sup>, Л.Г.Фечина<sup>2,3</sup>, А.И.Карачунский<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>Детская городская больница №1, Санкт-Петербург, Российская Федерация;

<sup>2</sup>Областная детская клиническая больница №1, Екатеринбург, Российская Федерация;

<sup>3</sup>Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Российская Федерация;

<sup>4</sup>Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, Москва, Российская Федерация;

<sup>5</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Транскрипционные и иммунологические исследования последнего десятилетия пролили новый свет на биологию Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза (Т-ОЛЛ) и позволили идентифицировать новый отдельный подтип Т-ОЛЛ – ОЛЛ из ранних Т-клеточных предшественников (ЕТР-ОЛЛ, от *англ.*: early T-precursor). ЕТР-ОЛЛ фактически представляет собой опухоль из незрелых гемопоэтических предшественников, сохраняющих способность к миелоидной дифференцировке. Идентификация характерного иммунофенотипа незрелых Т-лимфоцитов является чрезвычайно важной для диагностики ЕТР-ОЛЛ, при котором имеется крайне высокий риск неэффективности терапии даже при использовании современных протоколов лечения ОЛЛ. Транскрипционно ЕТР-ОЛЛ имеет тесное отношение к гемопоэтическим стволовым клеткам и миелоидным предшественникам. Накопленные данные свидетельствуют о том, что добавление химиопрепаратов, активных в отношении острого миелобластного лейкоза, может улучшить прогноз пациентов с ЕТР-ОЛЛ. Принимая во внимание уникальную биологию опухоли и крайне неблагоприятный прогноз при ЕТР-ОЛЛ, существует острая необходимость создания новой индивидуализированной терапевтической стратегии для лечения этого заболевания. В настоящей статье приводится описание двух клинических наблюдений ЕТР-ОЛЛ, которые демонстрируют варианты крайне неблагоприятного течения заболевания, требующего выработки индивидуального терапевтического плана.

**Ключевые слова:** дети, острый лимфобластный лейкоз из ранних предшественников Т-клеток, ЕТР-лейкоз, ответ на терапию, индивидуализация терапии

## Early T-cell precursor acute lymphoblastic leukemia

### (Review of literature and clinical case reports)

E.G.Boichenko<sup>1</sup>, A.M.Popov<sup>2,3</sup>, T.A.Makarova<sup>1</sup>, N.N.Dokhina<sup>1</sup>, I.A.Garbuzova<sup>1</sup>,  
O.V.Makarova<sup>2</sup>, O.R.Arakae<sup>2</sup>, L.G.Fechina<sup>2,3</sup>, A.I.Karachunsky<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>Municipal Pediatric Hospital No. 1, St. Petersburg, Russian Federation;

<sup>2</sup>Regional Pediatric Clinical Hospital No. 1, Ekaterinburg, Russian Federation;

<sup>3</sup>Institute of Medical Cell Technologies, Ekaterinburg, Russian Federation;

<sup>4</sup>Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology named after Dmitry Rogachev, Moscow, Russian Federation;

<sup>5</sup>Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Moscow, Russian Federation

The transcription and immunological studies of the latest decade have shed new light on the biology of T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) and identified a new T-ALL subtype – early T-cell precursor ALL (ETP-ALL), a tumor from immature hematopoietic precursors which retain their capacity to myeloid differentiation. Identification of the characteristic phenotype of immature T-lymphoblasts is extremely important for the diagnosis of ETP-ALL, when the risk of failure of therapy even by modern protocols is very high. By transcription ETP-ALL is closely related to hematopoietic stem cells and myeloid precursors. The available data indicate that use of drugs active in acute myeloid leukemia can improve the prognosis for patients with ETP-ALL. The unique biology of the tumor and the extremely unfavorable prognosis in ETP-ALL necessitate the creation of a new therapeutic strategy for the treatment of this disease. Two clinical case reports of ETP-ALL are presented, demonstrating variants of extremely unfavorable course of the disease and requiring individual therapeutic approaches.

**Key words:** children, early T-precursor acute lymphoblastic leukemia, ETP-ALL, response to therapy, individual therapy

**П**оскольку выживаемость детей с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) достигла 90%, становится чрезвычайно важным идентифицировать те малые подгруппы пациентов, которые остаются резистентными к современным программам интенсивной химиотерапии.

Транскрипционные и иммунологические исследования последнего десятилетия пролили свет на биологию Т-клеточного ОЛЛ (Т-ОЛЛ) и позволили идентифицировать новый отдельный подтип Т-ОЛЛ – ОЛЛ из ранних Т-клеточных предшественников (ЕТР-ОЛЛ, от *англ.*: early T-precursor).

Физиологическая субпопуляция Т-клеток-предшественников, известная как ранние Т-предшественники (early thymic precursors – ЕТР) или двойные негативные (double negative 1 – DN1) тимоциты, – это клетки, мигрирующие из костного мозга в тимус на ранних стадиях развития [1–5]. Эти клетки имеют уникальный иммунофенотип, сохраняют некоторые признаки, характерные для стволовой клетки, и способность дифференцироваться в клетки Т-линейной и миелоидной, но не В-линейной направленности [1, 4, 6].

Е. Coustan-Smith и соавт. [7] изучали экспрессию генов у детей с Т-ОЛЛ и обнаружили, что лейкоэмические клетки в некоторых случаях имеют сходную с ЕТР экспрессию генов и характерный иммунофенотип, отличающийся от более зрелых Т-клеток-предшественников. ЕТР-ОЛЛ, впервые описанный этими авторами, частота идентификации которого составляет около 15% у детей с Т-ОЛЛ, характеризуется уникальной экспрессией генов и клеточных поверхностных маркеров, а также ассоциирован с очень высоким риском резистентности при использовании современных протоколов химиотерапии [6–8]. Сходство экспрессии генов при ЕТР-ОЛЛ с нормальными Т-клеточными предшественниками свидетельствует о клональной экспансии Т-клеток на ранних стадиях развития [1, 2, 4, 9, 10].

На сегодняшний день для идентификации ЕТР-ОЛЛ установлены четкие иммунофенотипические критерии:

- верифицированная принадлежность опухолевых клеток к Т-линии (внутриклеточная экспрессия CD3);
- отсутствие экспрессии CD1a и CD8;
- низкая экспрессия CD5 (доля позитивных лейкоэмических клеток менее 75%);
- экспрессия как минимум одного из следующих маркеров: CD117, CD34, HLA-DR, CD13, CD33, CD11b, CD65.

Подобный набор поверхностных маркеров явно отличается от такового как нормальных тимоцитов, так и большинства случаев Т-ОЛЛ [1, 3–5, 7, 11]. Фенотип ЕТР-ОЛЛ может быть выявлен не только при самом раннем Т1-варианте ОЛЛ по классификации Европейской группы по иммунологической характеристике лейкозов (European Group for the Immunological Characterization of Leukemias – EGIL) [12], но и при более зрелом ТII-варианте ОЛЛ при слабой, но определяемой экспрессии CD5 и/или экспрессии CD2. Даже низкая

поверхностная экспрессия CD3, возможная при ТII-варианте ОЛЛ, не исключает наличие ЕТР-ОЛЛ.

Проведенный мультифакторный анализ показал, что для пациентов с Т-ОЛЛ наличие иммунологических признаков ЕТР-ОЛЛ является даже более сильным фактором прогноза и предиктором исхода, чем минимальная остаточная болезнь [7].

Та же группа исследователей, которая впервые описала этот обособленный подтип Т-ОЛЛ, далее подтвердила его наличие при проведении полногеномного секвенирования в 2012 г. [13]. При ЕТР-ОЛЛ обнаруживали активирующие мутации в генах, регулирующих цитокиновый рецептор (interleukin 7 receptor – IL7R) и RAS-передачу сигнала (67% случаев; гены *NRAS*, *KRAS*, *FLT3*, *IL7R*, *JAK3*, *JAK1*, *SH2B3* и *BRAF*), инактивирующие повреждения, прерывающие развитие гемопоэза (58% случаев; гены *GATA3*, *ETV6*, *RUNX1*, *IKZF1* и *EP300*), и повреждение гистонмодифицирующих генов (48% случаев; гены *EZH2*, *EED*, *SUZ12*, *SETD2* и *EP300*) [5, 8, 13].

Мутации, приводящие к активации цитокинового рецептора и RAS-передачи сигнала, присутствуют у  $\frac{2}{3}$  больных с ЕТР-ОЛЛ, но только у 19% больных с другими формами Т-ОЛЛ. Высокая частота мутаций в генах, регулирующих развитие гемопоэтических и лимфоидных клеток (гены *RUNX1*, *IKZF1*, *ETV6*, *GATA3* и *EP300*), составившая 58%, являлась отличительной чертой ЕТР-ОЛЛ от других вариантов Т-ОЛЛ (16,7%;  $p < 0,0001$ ) [8, 13].

Транскрипционно ЕТР-ОЛЛ имеет тесное отношение к гемопоэтическим стволовым клеткам и миелоидным предшественникам, имеет низкую частоту типичных для Т-ОЛЛ генетических повреждений, таких как делеции гена *CDKN2A/B* и активирующие мутации гена *NOTCH1*. При ЕТР-ОЛЛ преобладают мутации, типично ассоциированные с патогенезом острого миелобластного лейкоза (ОМЛ) [1, 13], и мутации в гене *IKZF1*, обнаруживаемые при В-клеточном ОЛЛ высокого риска [14–17].

В совокупности приведенные данные говорят о прямой роли в патогенезе ЕТР-ОЛЛ генетических повреждений, которые приводят к грубому блоку созревания и к развитию агрессивного недифференцированного лейкоза из клеток, напоминающих стволовые клетки.

Несмотря на однообразие клинических признаков, иммунофенотипа и транскрипционного профиля, не было определено известных, специфичных только для данного вида лейкоза, генетических повреждений, лежащих в основе возникновения ЕТР-лейкемического клона [7]. В случаях ЕТР-ОЛЛ отмечалась значительная степень генетической нестабильности, одна из наибольших среди описанных для различных вариантов ОЛЛ [18]. Это соответствовало большему количеству и размеру геномных повреждений кариотипа [19].

Долгосрочный ответ на терапию при ЕТР-ОЛЛ является одним из самых плохих среди установленных форм лейкоза высокого риска у детей, аналогичным тому, который наблюдается при BCR-ABL-положительном ОЛЛ или врожденном ОЛЛ с реаранжировками гена *MLL*, или даже хуже.

В исследовании Е. Coustan-Smith и соавт. [7] 10-летняя общая выживаемость пациентов с ЕТР-ОЛЛ составила 19% [95% доверительный интервал (ДИ) 0–92%] по сравнению с 84% (95% ДИ 72–96%) у пациентов с другими подтипами Т-ОЛЛ, 10-летняя бессобытийная выживаемость (event-free

#### Для корреспонденции:

Бойченко Эльмира Госмановна, доктор медицинских наук, заведующая отделением онкологии/гематологии и интенсивной химиотерапии Детской городской больницы №1 Санкт-Петербурга

Адрес: 198205, Санкт-Петербург, ул. Авангардная, 14

Телефон: (812) 735-4981

E-mail: boychenko-elmira@yandex.ru

Статья поступила 03.02.2015 г., принята к печати 20.03.2015 г.

survival – EFS) – 22% (95% ДИ 5–49%) против 69% (95% ДИ 53–84%) соответственно. Все рецидивы, зарегистрированные в группе детей с ЕТР-ОЛЛ, были изолированными костномозговыми, в то время как 50% рецидивов в группе детей с не ЕТР Т-ОЛЛ были экстрамедуллярными. 10-Летняя кумулятивная частота рецидивов при ЕТР-ОЛЛ была статистически значимо ( $p < 0,0001$ ) больше (72%, 95% ДИ 40–100%), чем при типичном Т-ОЛЛ (10%, 95% ДИ 4–16%). Среднее время до развития рецидива составило 1,22 года при ЕТР-ОЛЛ и 1,74 года при не ЕТР Т-ОЛЛ ( $p = 0,14$ ). В результате моновариантного и мультивариантного анализа было показано, что диагноз ЕТР-ОЛЛ был фактором, оказывающим максимальное негативное влияние на EFS (отношение рисков 12, 95% ДИ 4,6–31,3;  $p < 0,0001$ ) [7]. Аналогичные результаты были получены впоследствии и другими исследовательскими группами [6, 8].

Очень высокий риск развития раннего рецидива у больных с ЕТР-ОЛЛ в случаях, если они получают лечение по стандартным протоколам лечения ОЛЛ, указывает на необходимость поиска альтернативных методов терапии. Одной из опций является миелоаблативная терапия с последующей трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) в 1-й ремиссии – стратегия, преимущества которой по сравнению с химиотерапией показаны у детей с Т-ОЛЛ и плохим ранним ответом на терапию [6, 20].

Проведение аллогенной ТГСК в раннем периоде 1-й ремиссии улучшает результаты лечения ЕТР-ОЛЛ. С терапевтической точки зрения для лечения пациентов с ЕТР-ОЛЛ, относящихся к группе очень высокого риска, необходим поиск новых химиотерапевтических режимов, которые, возможно, будут включать препараты, активные в отношении ОМЛ (например, цитозар в высоких дозах). Дополнительно в ближайшем будущем для лейкозов с мутациями генов *FLT3*, *JAK1*, *JAK3*, *IL7R* и *NOTCH* появится возможность использования таргетной терапии.

Вероятно в качестве альтернативы, с учетом продолжающихся клинических исследований, станет возможным индуцировать подавление генетической программы, которая препятствует вступлению трансформированных ЕТР в процесс Т-клеточной дифференцировки, что сделает эти клетки чувствительными к обычным режимам химиотерапии.

Таким образом, ЕТР-ОЛЛ представляет собой отдельную, ранее не распознаваемую, патобиологическую единицу, которая имеет крайне неблагоприятный прогноз и требует разработки индивидуального терапевтического плана.

Мы приводим два клинических наблюдения ЕТР-ОЛЛ, которые демонстрируют различные варианты течения этого заболевания.

#### Клиническое наблюдение №1

Больной Ш., 13 лет, поступил в отделение онкологии/гематологии и интенсивной химиотерапии Детской городской больницы (ДГБ) №1 Санкт-Петербурга 07.02.2014 с жалобами на вялость, слабость, утомляемость, бледность.

Из анамнеза известно, что мальчик болен около 2 нед, когда появились лихорадка до 38,3°C с нормализацией на фоне антибактериальной и симптоматической терапии. В динамике отмечено нарастание бледности кожных покровов и слизистых оболочек, снижение физической активнос-

ти. В общем анализе крови выявлена панцитопения (гемоглобин 74 г/л, тромбоциты  $39,0 \times 10^9$ /л, лейкоциты  $0,93 \times 10^9$ /л). Госпитализирован в ДГБ №1 с подозрением на апластическую анемию. Сиблингов не имеет.

При поступлении в отделение состояние ребенка расценено как тяжелое за счет анемического синдрома. Сознание ясное. Очаговой неврологической симптоматики и менингеальных знаков нет. Выражена бледность кожных покровов и слизистых оболочек. Геморрагического синдрома нет. В предверии носа справа участок уплотнения и гиперемии, без отделяемого. Периферические лимфатические узлы не увеличены. Размеры печени и селезенки в пределах нормы.

При обследовании в общем анализе крови гемоглобин 74 г/л, эритроциты  $2,15 \times 10^{12}$ /л, тромбоциты  $48,0 \times 10^9$ /л, лейкоциты  $1,0 \times 10^9$ /л, бластные клетки 4%, палочкоядерные нейтрофилы 1%, сегментоядерные нейтрофилы 1%, лимфоциты 92%, моноциты 1%, эозинофилы 1%. Основные показатели биохимического анализа крови в пределах нормы, активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) не повышена. Клеточность костного мозга  $160,0 \times 10^9$ /л, в миелограмме бластные клетки составляли 86,4%, выявлено 2 мегакариоцита в препарате, костный мозг тотально замещен анаплазированными бластными клетками, все ростки кроветворения угнетены. Цитохимическое исследование: PAS-реакция отрицательная, реакция на пероксидазу отрицательная, реакция на судан отрицательная. При исследовании костного мозга методом проточной цитометрии обнаружено 73,6% бластных клеток со сниженной экспрессией CD45. Опухолевые клетки ярко экспрессировали ранние Т-линейные антигены CD7 и внутриклеточный CD3, миелоидный антиген CD13 и антигены клеток предшественников CD34, TdT, CD133, CD99. Кроме того, была определена слабая экспрессия миелоидных маркеров CD33 и CD117, активационного маркера HLA-DR, а также NK-клеточного CD56. При этом экспрессия более зрелых Т-линейных поверхностных антигенов CD5, CD2, CD1a, CD4, CD8, CD3, также как и Т-клеточных рецепторов  $\alpha\beta$ - или  $\gamma\delta$ -типа, не обнаружена. По классификации EGIL [12] данный случай был расценен как Т1-вариант ОЛЛ с коэкспрессией миелоидных маркеров, однако иммунофенотип опухолевых клеток также соответствовал ЕТР-ОЛЛ. Как видно на рисунке, иммунофенотипически опухолевая популяция была весьма неоднородна. Цитогенетическое исследование: кариотип 46, XY. При молекулярно-генетическом исследовании была обнаружена Т-клональность, транслокации t(12;21), t(9;22), t(4;11), t(1;19), del(1p) (*SIL/TAL1*), мутации в гене *IKAROS* не выявлены. При первичном исследовании ликвора цитоз 1/3, бластные клетки не обнаружены. На рентгенограмме органов грудной клетки увеличения внутригрудных лимфатических узлов не выявлено.

На основании проведенного обследования поставлен диагноз: острый лимфобластный лейкоз из ранних предшественников Т-клеток (ЕТР-ОЛЛ).

До начала специфической терапии выполнено HLA-типирование с последующим иницированием поиска совместимого неродственного донора.

С 10.02.2014 начато лечение по протоколу ALL-MB 2008 для группы промежуточного риска. В ходе терапии индукции ребенок получил дексаметазон, ПЭГ-аспарагиназу (PEG-asp), 2 введения рубомицина, 5 введений винкристина,

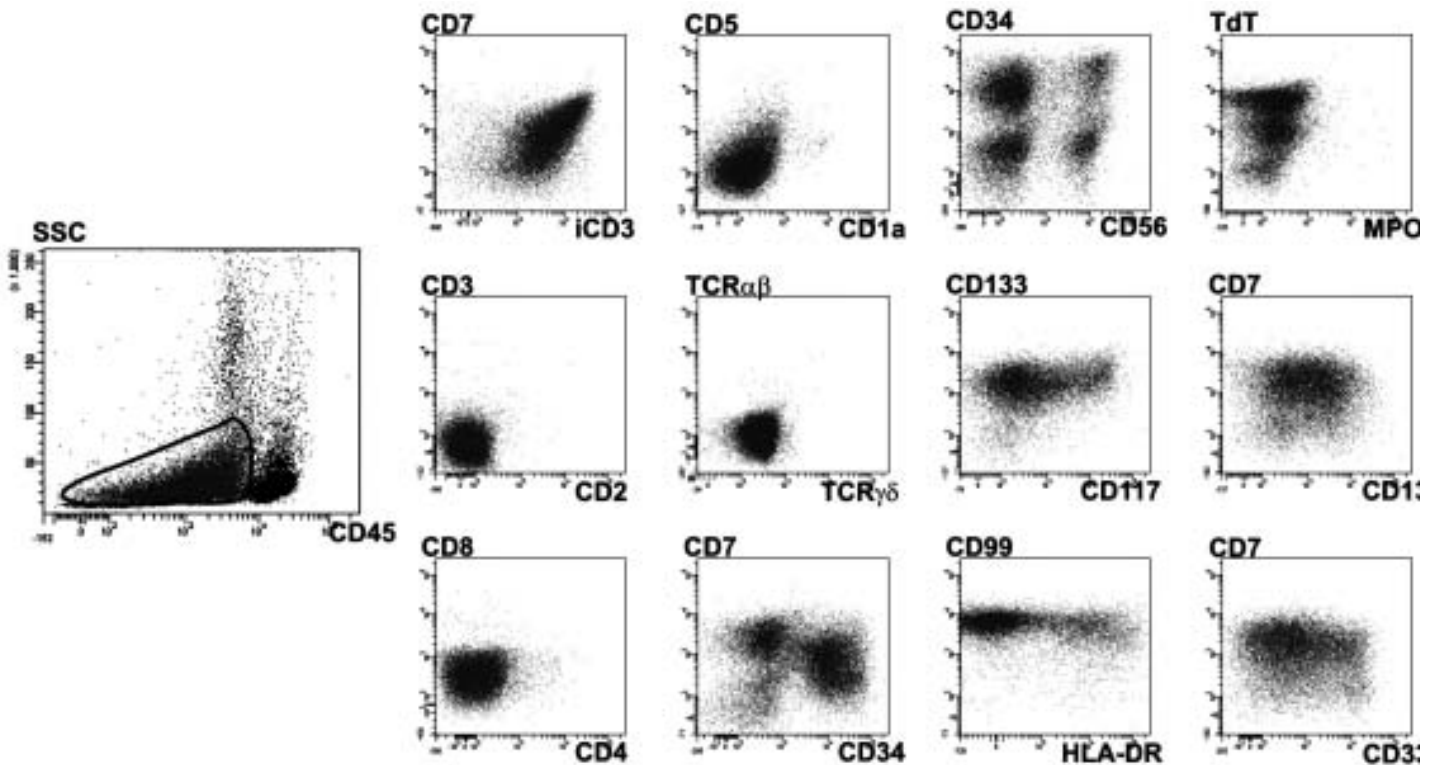


Рисунок. Иммунофенотип опухолевых клеток пациента Ш., 13 лет (клиническое наблюдение №1).

из них 2 введения в полной дозе и 3 введения в 50% дозе в связи с развитием винкристин-индуцированной полинейропатии, 5 эндолумбальных введений 3 химиопрепаратов (одна люмбальная пункция была пропущена в связи с нейротоксической реакцией).

На 8-й день от начала индукции в общем анализе крови лейкоциты  $0,9 \times 10^9/\text{л}$ , бластные клетки не выявлены, в миелограмме на 15-й день терапии бластные клетки 74,4%, на 36-й день терапии – 36–43%.

С учетом отсутствия ремиссии на 36-й день терапии случай обсужден с руководителем исследования «Москва–Берлин» проф. А.И.Карачунским и ребенок переведен в группу высокого риска с дальнейшим лечением согласно ветви протокола для резистентных форм Т-ОЛЛ и планированием ТГСК в 1-й ремиссии.

После 1-го блока с неларабином (блок HR-5) достигнута редукция бластных клеток в костном мозге (клеточность костного мозга  $26,0 \times 10^9/\text{л}$ , в миелограмме мегакариоциты 20 в препарате, бластные клетки 0,8–2,8%). После проведения 2-го блока с неларабином (блок HR-6) удалось достичь костномозговой ремиссии (клеточность костного мозга  $75,0 \times 10^9/\text{л}$ , в миелограмме мегакариоциты 40 в препарате, бластные клетки 1,6%). Терапия неларабином осложнилась развитием тяжелой нейротоксической реакции II степени. В связи с выраженной нейротоксичностью было принято решение о продолжении интенсивной химиотерапии без неларабина. Проведен блок HR-1, после которого на фоне замедленной экскреции высокодозного метотрексата отмечались тяжелые осложнения в виде кишечного сепсиса на фоне распространенного мукозита. Кроме того, отмечалось прогрессирующее течение сенсорно-моторной полинейропатии (резкое нарушение походки).

С учетом тяжелой прогрессирующей радикулополинейропатии, высокого риска инвалидизации ребенка на фоне проводимой терапии винкристин заменен на винорельбин. Проведен блок HR-2, после которого также развился системный воспалительный ответ на фоне глубокой постцитостатической депрессии кроветворения, распространенного мукозита и токсического дерматита. Обращала на себя внимание прогрессирующая радикулополинейропатия сенсорно-моторного типа (ребенок самостоятельно не ходил). По данным контрольной миелограммы сохранялось состояние клинко-гематологической ремиссии.

С учетом тяжелых нейротоксических проявлений, высокого риска инвалидизации ребенка на фоне проводимой терапии от проведения следующего блока химиотерапии с введением неларабина было решено воздержаться. Проведен 2-й блок HR-1 с исключением алкалоидов барвинка розового. После завершения 5-го блока интенсивной химиотерапии в костном мозге сохранялось состояние ремиссии (бластные клетки 0,4%).

В августе 2014 г. получено сообщение о том, что в ходе поиска в Международном регистре найден полностью совместимый неродственный донор. 14.09.2014 в НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой (Санкт-Петербург) ребенку выполнили аллогенную ТГСК.

В настоящее время ребенок находится в состоянии полной клинко-гематологической ремиссии (продолжительность наблюдения после ТГСК 5 мес).

#### Клиническое наблюдение №2

Больная Р., 14 лет, поступила в отделение детской онкологии №2 Областной детской клинической больницы №1 Екатеринбург 12.01.2015 с жалобами на слабость, подъемы

температуры тела до 38–39°C, болезненность в области левого плеча, высыпания на коже.

Из анамнеза известно, что девочка больна в течение 2 нед, когда появились фебрильная лихорадка без эффекта от антибактериальной терапии, высыпания на коже, боли при ходьбе, нарастающий в динамике геморрагический синдром, изменения в гемограмме в виде гиперлейкоцитоза и тромбоцитопении. Сиблингов не имеет.

При поступлении в отделение состояние ребенка тяжелое за счет интоксикации вследствие большой опухолевой массы и геморрагического синдрома. Сознание ясное. Очаговой неврологической симптоматики и менингеальных знаков нет. Множественные петехии и экхимозы на коже рук, ног, гематомы и отечность в области голеностопных суставов. На внутренней поверхности левого плеча распространенная гиперемия, болезненность и отек с ограничением подвижности в локтевом суставе, связанные с окклюзионным тромбозом левой плечевой и подмышечной вен (подтвержден ультразвуковой доплерографией вен верхних конечностей). Умеренно увеличены все группы периферических лимфатических узлов. Печень выступала на 4 см, селезенка на 5 см из-под края реберной дуги.

При обследовании в общем анализе крови гемоглобин 107 г/л, эритроциты  $4,11 \times 10^{12}/л$ , лейкоциты  $212,68 \times 10^9/л$ , бластные клетки 93%, тромбоциты  $39,0 \times 10^9/л$ . В биохимическом анализе крови основные показатели, электролиты, активность ЛДГ в пределах нормы, повышена концентрация С-реактивного белка до 183 мг/л. В миелограмме тотальная инфильтрация костного мозга бластными клетками с морфологией L2. Цитохимическое исследование клеток костного мозга: PAS-реакция отрицательная, реакция на пероксидазу отрицательная. При исследовании клеток костного мозга методом проточной цитометрии обнаружено 80% бластных клеток со сниженной экспрессией CD45. Опухолевые клетки ярко экспрессировали ранние Т-линейные антигены CD7, CD4 и внутриклеточный CD3, миелоидные антигены CD33 и CD11b, антигены клеток-предшественников CD34 и CD99, а также В-линейный маркер CD79a. Кроме того, была выявлена слабая экспрессия раннего миелоидного маркера CD117. При этом экспрессия более зрелых Т-линейных поверхностных антигенов CD5, CD2, CD1a, CD4, CD8, CD3, Т-клеточных рецепторов  $\alpha\beta$ - или  $\gamma\delta$ -типа, также как и других миелоидных маркеров (CD13, CD14, CD15, CD64, CD11c, миелопероксидаза, лизоцим) не обнаружена. По классификации EGIL [12] данный случай был также расценен как Т1-вариант ОЛЛ с коэкспрессией миелоидных маркеров, однако иммунофенотип опухолевых клеток и в данном случае соответствовал ЕТР-ОЛЛ. Особенностью фенотипа у данного пациента стала очень высокая экспрессия CD33 и CD11b. В результате цитогенетического исследования клеток костного мозга выявлен клон опухолевых клеток с комплексными изменениями кариотипа и моносомией 21-й хромосомы: 47,XX,der(8q),der(11q),+der(12)t(12;18)(p13;q12),-21,+M. При молекулярно-генетическом исследовании наличия химерных транскриптов (*BCR-ABL1*, *ETV6-RUNX1*, *TCF3-PBX1*, *MLL-MLLT1*), характерных для ОЛЛ у детей, не обнаружено. Исследование методом FISH (fluorescence *in situ* hybridization или флюоресцентная гибридизация *in situ*) на наличие перестроек в гене *MLL* не проводили.

При цитологическом исследовании ликвора на фоне не большого количества эритроцитов обнаружены 18 бластных клеток, 2 моноцита и 20 лимфоцитов. При проведении иммунофенотипирования клеток спинномозговой жидкости были определены опухолевые клетки со слабой экспрессией CD45 и одновременной экспрессией CD7, CD34 и CD33. На рентгенограмме органов грудной клетки увеличения внутригрудных лимфатических узлов не выявлено.

На основании проведенного обследования поставлен диагноз: острый лимфобластный лейкоз из ранних предшественников Т-клеток (ЕТР-ОЛЛ).

С 15.01.2015 начата индукция ремиссии по протоколу ALL-MB 2015, группа Т-ОЛЛ промежуточного риска. Терапию проводили на фоне комбинированной антибактериальной и антитромботической терапии. В связи с тромбозом левой плечевой и подмышечной вен, высоким риском усиления тромботических осложнений PEG-asr на 3-й день индукции не вводили. Вместо PEG-asr в связи с нарастанием гиперлейкоцитоза за счет бластных клеток ( $232,0 \times 10^9/л$ ) на 3-й день индукции ввели рубомицин ( $45 \text{ мг}/\text{м}^2$ ) с кратковременным эффектом (снижение количества лейкоцитов до  $152,0 \times 10^9/л$ ) и последующим увеличением количества лейкоцитов к 8-му дню терапии до  $185,0 \times 10^9/л$  (бластные клетки 96%). В ликворе на 8-й день терапии сохранялись бластные клетки (26%). На 9-й день индукции на фоне стабилизации показателей коагулограммы ввели PEG-asr, в результате чего отмечалось снижение количества лейкоцитов до  $12,0 \times 10^9/л$  (бластные клетки 41%) к 15-му дню индукции.

В контрольной миелограмме на 15-й день терапии бластные клетки составляли 95,8%. При проведении иммунофенотипирования клеток костного мозга на 15-й день терапии определено 90,2% опухолевых клеток с фенотипом, соответствующим первичному.

На 17-й день индукции повторно ввели рубомицин, в результате чего отмечалось прогрессивное снижение количества лейкоцитов с последующим развитием глубокой депрессии кроветворения.

Случай обсужден с руководителем протокола проф. А.И.Карачунским, рекомендовано прервать индукцию и перевести ребенка на терапию высокого риска для Т-ОЛЛ – блок F1 с высокодозным метотрексатом  $5 \text{ г}/\text{м}^2$  за 24 ч, блок F2 с последующей оценкой статуса ремиссии.

Период глубокой депрессии кроветворения осложнился геморрагическим синдромом (макрогематурия и усиление кожно-геморрагического синдрома по гематомному типу на фоне выраженных гипокоагуляционных расстройств с признаками диссеминированного внутрисосудистого свертывания), афтозным мукозитом, нарушением билирубин-конвертирующей функции печени. Пациентка получала интенсивную гемостатическую терапию, комбинированную антибактериальную и гепатотропную терапию.

На 30-й день от начала терапии индукции выполнена контрольная костномозговая пункция, выявлено тотальное замещение костного мозга недифференцированными бластными клетками (80,6%), по морфологическим признакам соответствующими ОМЛ. При иммунофенотипировании клеток костного мозга на данном этапе терапии было выявлено 67,1% бластных клеток с фенотипом, существенно отличаю-

Таблица. Сравнение иммунофенотипа опухолевых клеток пациентки Р., 14 лет, (клиническое наблюдение №2) на момент диагностики и на 30-й день терапии

| Выраженность экспрессии                              | Инициальная диагностика                                                                                                                      | 30-й день терапии                                                                                               |
|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Яркая экспрессия (более 50% позитивных клеток)       | CD7, <b>iCD3</b> , <b>CD4</b> , CD33, CD11b, <b>CD34</b> , <b>iCD79a</b> , CD45, CD99                                                        | CD7, CD33, CD11b, <b>CD64</b> , <b>CD11c</b> , <b>CD15</b> , CD45, CD99                                         |
| Слабая экспрессия (20–50% позитивных клеток)         | <b>CD117</b>                                                                                                                                 | <b>CD4</b> , <b>CD34</b> , <b>лизоцим</b>                                                                       |
| Экспрессия отсутствует (менее 20% позитивных клеток) | CD19, CD22, CD10, CD2, CD3, CD5, CD8, CD1a, <b>CD11c</b> , CD13, CD14, <b>CD15</b> , <b>CD64</b> , iTdT, NG2, iMPO, TCRαβ/γδ, <b>лизоцим</b> | CD19, CD22, CD10, iCD3, CD3, CD5, CD8, CD13, CD14, CD61, CD66b, CD235a, NG2, iMPO, <b>iCD79a</b> , <b>CD117</b> |
| Иммунофенотип (по классификации EGIL) [12]           | T1-вариант ОЛЛ, CD33 <sup>+</sup> CD79a <sup>+</sup> CD11b <sup>+</sup> CD117 <sup>+</sup>                                                   | ОМЛ, CD7 <sup>+</sup>                                                                                           |

Маркеры, экспрессия которых изменилась, выделены жирным.

щимся от первичного. При сохранении экспрессии CD7 более не определялся внутриклеточный CD3, а экспрессия CD4 значительно снизилась. Также было отмечено снижение экспрессии CD34 и CD117. В дополнение к CD33 и CD11b определялась экспрессия других миелоидных антигенов CD11c, CD15, CD64, лизоцима. Следует отметить, что на базовом для цитометрического выделения бластных клеток точечном графике CD45/SSC (параметр, косвенно отражающий развитость внутриклеточных структур) опухолевые клетки на момент первичной диагностики и на 30-й день терапии занимали различное положение. На 30-й день терапии фенотип опухолевых клеток соответствовал ОМЛ с ко-экспрессией CD7 и CD4. Сравнение иммунофенотипа опухолевых клеток на момент диагностики и на 30-й день терапии представлено в таблице.

При проведении иммунофенотипирования клеток спинномозговой жидкости вновь были определены опухолевые клетки со слабой экспрессией CD45 и одновременной экспрессией CD7, CD34 и CD33, их положение на точечном графике CD45/SSC соответствовало таковому для клеток костного мозга на 30-й день терапии.

При повторном исследовании клеток костного мозга методом полимеразной цепной реакции обнаружен транскрипт *MLL-MLLT4(AF6)*. Транслокации t(9;22), t(4;11), t(9;11), t(6;11), t(8;21), inv16, t(15;17), del(1p) (*SIL/TAL*) не обнаружены.

При пересмотре результата инициальной цитогенетики был определен кариотип 47, XX, del(11)(q23), t(12;18)(p13;q12), add(21)(q22), +12[2]/ 45, XX, del(11)(q23), t(12;18)(p13;q12), -21[2]. Обнаружены del(11)(q23), t(12;18)(p13;q12), add(21)(q22), а также клон опухолевых клеток с моносомией 21-й хромосомы и 2-й клон с трисомией 12-й хромосомы.

На основании проведенного обследования и клинко-лабораторной динамики процесса поставлен диагноз: острый недифференцированный (не полностью коммитированный к лимфоидной/миелоидной линиям) лейкоз с исходным фенотипом T1-варианта ОЛЛ CD117<sup>+</sup>, CD33<sup>+</sup>, CD79a<sup>+</sup> (ETP) и с трансформацией в острый миелобластный лейкоз CD7<sup>+</sup> с аномалией 11q23 t(6;11), с поражением центральной нервной системы.

Коллегиально принято решение о переводе ребенка на программную терапию для ОМЛ на фоне полностью транс-ретиноевой кислоты.

В настоящее время девочка получает химиотерапию по протоколу AML-BFM 2004 на фоне приема полностью транс-ретиноевой кислоты, комбинированной антимикробной и интенсивной заместительной терапии.

## Заключение

В настоящей статье приводятся два клинических наблюдения ЕТР-ОЛЛ. В обоих случаях диагноз заболевания установлен на основании характерной экспрессии поверхностных клеточных маркеров методом проточной цитометрии.

В первом случае отмечались характерное медленное уменьшение количества лейкоэмических клеток в ходе инициальной терапии и отсутствие достижения ремиссии по завершении этапа индукции в соответствии с протоколом ALL-MB 2008. Ремиссию удалось получить только после применения в раннем постиндукционном периоде двух курсов терапии неларабином. Успех лечения в данном случае был связан со своевременным проведением ТГСК.

Второй случай представляет вариант крайне неблагоприятного течения ЕТР-ОЛЛ, который на фоне терапии по протоколу ALL-MB 2015 сопровождался не только отсутствием ответа, но и последующей трансформацией в ОМЛ.

В обоих случаях отмечалась неэффективность инициальной терапии по программам лечения ОЛЛ, что явилось следствием первичной резистентности заболевания к лечению и потребовало в дальнейшем индивидуализации терапии.

Знание биологических процессов, которые лежат в основе ЕТР-ОЛЛ и определяют его уникальное поведение, позволяет предполагать возможные сценарии течения этого заболевания. Это диктует необходимость корректной диагностики и заставляет использовать альтернативные методы лечения, включающие как проведение аллогенной ТГСК в раннем периоде 1-й ремиссии, так и включение в терапевтическую программу химиопрепаратов, эффективных в отношении ОМЛ.

Ведение пациентов с ЕТР-ОЛЛ на ранних этапах специфической химиотерапии требует принятия определенных тактических решений, связанных с планированием ТГСК и своевременным инициированием поиска донора, строгого мониторингирования ответа на проводимую терапию и индивидуализированного лечения в связи с непредсказуемым течением процесса, его высокой резистентностью к стандартным протоколам лечения ОЛЛ и возможностью трансформации заболевания в ОМЛ.

## Литература

1. Bell JJ, Bhandoola A. The earliest thymic progenitors for T cells possess myeloid lineage potential. *Nature*. 2008;452(7188):764-7.
2. Rothenberg EV, Moore JE, Yui MA. Launching the T-cell-lineage developmental programme. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(1):9-21.
3. Shortman K, Wu L. Early T lymphocyte progenitors. *Annu Rev Immunol*. 1996;14:29-47.
4. Wada H, Masuda K, Satoh R, Kakugawa K, Ikawa T, Katsura Y, et al. Adult T-cell progenitors retain myeloid potential. *Nature*. 2008;452(7188):768-72.
5. Allan A, Sireci A, Colovai A, Pinkney K, Sulis M, Bhagat G, Alobeid B. Early T-cell precursor leukemia/lymphoma in adults and children. *Leuk Res*. 2013;37(9):1027-34.

6. Inukai T, Kiyokawa N, Campana D, Coustan-Smith E, Kikuchi A, Kobayashi M, et al. Clinical significance of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results of the Tokyo Children's Cancer Study Group Study L99-15. *Br J Haematol*. 2011;156(3):358-65.
7. Coustan-Smith E, Mullighan CG, Onciu M, Behm FG, Raimondi SC, Pei D, et al. Early T-cell precursor leukaemia: a subtype of very high-risk acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol*. 2009;10(2):147-56.
8. Ma M, Wang X, Tang J, Xue H, Chen J, Pan C, et al. Early T-cell precursor leukemia: a subtype of high risk childhood acute lymphoblastic leukemia. *Front Med*. 2012;6(4):416-20.
9. Balciunaite G, Ceredig R, Rolink AG. The earliest subpopulation of mouse thymocytes contains potent T, significant macrophage, and natural killer cell but no B-lymphocyte potential. *Blood*. 2005;105(5):1930-6.
10. Weerkamp F, Baert MR, Brugman MH, Dik WA, de Haas EF, Visser TP, et al. Human thymus contains multipotent progenitors with T/B lymphoid, myeloid, and erythroid lineage potential. *Blood*. 2006;107(8):3131-7.
11. Chi AW, Bell JJ, Zlotoff DA, Bhandoola A. Untangling the T branch of the hematopoiesis tree. *Curr Opin Immunol*. 2009;21(2):121-6.
12. Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, 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.
13. Zhang J, Ding L, Holmfeldt L, Wu G, Heatley SL, Payne-Turner D, et al. The genetic basis of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Nature*. 2012;481(7380):157-63.
14. Novershtern N, Subramanian A, Lawton LN, Mak RH, Haining WN, McConkey ME, et al. Densely interconnected transcriptional circuits control cell states in human hematopoiesis. *Cell*. 2011;144(2):296-309.
15. Notta F, Doulatov S, Laurenti E, Poepl A, Jurisica I, Dick JE. Isolation of single human hematopoietic stem cells capable of long-term multilineage engraftment. *Science*. 2011;333(6039):218-221.
16. Eppert K, Takenaka K, Lechman ER, Waldron L, Nilsson B, van Galen P, et al. Stem cell gene expression programs influence clinical outcome in human leukemia. *Nat. Med*. 2011;17(9):1086-93.
17. Mullighan CG, Su X, Zhang J, Radtke I, Phillips LA, Miller CB, et al. Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2009;360(5):470-80.
18. Mullighan CG, Goorha S, Radtke I, Miller CB, Coustan-Smith E, Dalton JD, et al. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature*. 2007;446(7137):758-64.
19. Zhang J, Ding L, Holmfeldt L, Wu G, Heatley SL, Payne-Turner D, et al. The genetic basis of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Nature*. 2012;481(7380):157-63.
20. Schrauder A, Reiter A, Gadner H, Niethammer D, Klingebiel T, Kremens B, et al. Superiority of allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation compared with chemotherapy alone in high-risk childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia: results from ALL-BFM 90 and 95. *J Clin Oncol*. 2006;24(36):5742-9.

#### Информация о соавторах:

Попов Александр Михайлович, кандидат медицинских наук, врач клиничко-лабораторной диагностики лаборатории иммунофенотипирования гемобластов Областной детской клинической больницы №1, ведущий научный сотрудник Института медицинских клеточных технологий  
Адрес: 620149, Екатеринбург, ул. С.Дерябиной, 32  
Телефон: (343) 216-2514  
E-mail: uralcytometry@gmail.com

Макарова Татьяна Александровна, врач-иммунолог клинической лаборатории Детской городской больницы №1 Санкт-Петербурга  
Адрес: 198205, Санкт-Петербург, ул. Авангардная, 14  
Телефон: (812) 735-4981  
E-mail: tanyamak64@mail.ru

Дохина Наталья Николаевна, врач-ординатор отделения онкологии/гематологии и интенсивной химиотерапии Детской городской больницы №1 Санкт-Петербурга  
Адрес: 198205, Санкт-Петербург, ул. Авангардная, 14  
Телефон: (812) 735-4981  
E-mail: dr.dokhina@inbox.ru

Гарбузова Ирина Анатольевна, старший ординатор отделения онкологии/гематологии и интенсивной химиотерапии Детской городской больницы №1 Санкт-Петербурга  
Адрес: 198205, Санкт-Петербург, ул. Авангардная, 14  
Телефон: (812) 735-4981  
E-mail: ira-garbuzova@mail.ru

Макарова Ольга Владимировна, детский онколог отделения детской онкологии №2 Областной детской клинической больницы №1  
Адрес: 620149, Екатеринбург, ул. С.Дерябиной, 32  
Телефон: (343) 216-6897  
E-mail: childrens\_oncology@mail.ru

Аракаев Олег Раисович, заведующий отделением детской онкологии №2 Областной детской клинической больницы №1  
Адрес: 620149, Екатеринбург, ул. С.Дерябиной, 32  
Телефон: (343) 216-6897  
E-mail: olegarakaev@yandex.ru

Фечина Лариса Геннадьевна, кандидат медицинских наук, руководитель Центра детской онкологии и гематологии Областной детской клинической больницы №1, заведующая лабораторией клеточной терапии онкогематологических заболеваний Института медицинских клеточных технологий  
Адрес: 620149, Екатеринбург, ул. С.Дерябиной, 32  
Телефон/Факс: (343) 216-6877  
E-mail: childrens\_oncology@mail.ru

Карачунский Александр Исаакович, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора Федерального научно-клинического центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, директор Института онкологии, радиологии и ядерной медицины, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова Минздрава России  
Адрес: 117997, ГСП-7, Москва, ул. Саморы Машела, 1  
Телефон: (495) 287-6570, доб. 5507  
E-mail: aikarat@mail.ru