

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 09.04.2024
Принята к печати 13.05.2024



EDN: HLOMVG

Дополнительные генетические аберрации, выявляемые методом флуоресцентной гибридизации *in situ*, у детей с острым лимфобластным лейкозом и транслокацией t(12;21)(p13;q22)/*ETV6::RUNX1*: связь с инициальными клинико-лабораторными показателями и ответом на терапию

И.С. Котов¹, Г.А. Цаур¹⁻³, Е.С. Нохрина², А.В. Ряхшина², Ю.В. Ольшанская⁴, Ж.В. Пермикин^{1,2}, Т.Ю. Вержбицкая^{2,3}, Т.О. Ригер^{2,3}, А.И. Пономарев¹⁻³, О.В. Стрелева^{2,3}, О.Р. Аракаев^{2,3}, С.В. Цвиренко¹, О.П. Ковтун¹, Л.Г. Фечина^{2,3}

¹ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург

²ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург

³ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Контактная информация:

Цаур Григорий Анатольевич,
д-р мед. наук, заведующий
лабораторией молекулярной
биологии, иммунофенотипирования и
патоморфологии ГБУЗ СО «Областная
детская клиническая больница»,
заведующий лабораторией клеточной
терапии онкогематологических
заболеваний ГБУЗ СО «Институт
медицинских клеточных технологий»,
доцент кафедры медицинской
микробиологии и клинической
лабораторной диагностики ФГБОУ ВО
«Уральский государственный медицинский
университет»
Минздрава России
Адрес: 620149, Екатеринбург,
ул. С. Дерябиной, 32
E-mail: tsaurga@mis66.ru

Транслокация t(12;21)(p13;q22)/*ETV6::RUNX1* является одной из наиболее частых генетических аберраций при остром лимфобластном лейкозе из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ) у детей. Данная транслокация часто сочетается с изменением числа копий аллель генов *ETV6* и *RUNX1*. Технология флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), которая широко применяется для выявления t(12;21)(p13;q22), также позволяет детектировать и эти дополнительные генетические аберрации (FISH-паттерны). Целью данной работы являлась детальная характеристика FISH-паттернов у пациентов с ВП-ОЛЛ и наличием транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6::RUNX1*. В работу включен 241 пациент с t(12;21)-позитивным ОЛЛ, которым было проведено исследование методом FISH с использованием двухцветного флуоресцентного зонда с двойным слиянием в период с 2008 по 2023 г. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий» (Екатеринбург). Единственный FISH-паттерн (моноклональные случаи) был выявлен в 200 (83,0%) случаях, 2 паттерна и более (поликлональные случаи) – в 41 (17,0%). Среди последних подавляющее большинство ($n = 39$; 95,1%) имели по 2 паттерна. Наиболее распространенным вторичным генетическим изменением оказалась делеция *ETV6* ($n = 105$; 43,5%). Несколько реже выявляли дополнительную копию *RUNX1* ($n = 97$; 40,2%), сочетание делеции *ETV6* и дополнительной копии *RUNX1* ($n = 27$; 11,2%), а также дополнительную копию *ETV6* ($n = 5$; 2,0%). Доля пациентов с одним FISH-паттерном, который не содержал дополнительных генетических изменений и был следствием стандартной реципрокной транслокации (2F1G1R), оказалась относительно небольшой ($n = 35$; 17,5%). Были выявлены 5 прогностически неблагоприятных FISH-паттернов, ассоциированных с высоким риском рецидива. В их число входили случаи с одновременным наличием дополнительных копий *ETV6* и *RUNX1* (паттерн 2F2G2R), а также с изолированными дополнительными копиями *RUNX1* (паттерн 2F2R-3F2R) или *ETV6* (паттерн 1F1G2R-2F2G4R), частичной делецией *ETV6* (паттерн 2F1Gdim1R) и нереципрокной транслокацией t(12;21) (паттерн 1F1R-1F1G1R). Объединение этих прогностически неблагоприятных FISH-паттернов в 1 группу позволило спрогнозировать 6 (46%) из 13 рецидивов, развившихся у пациентов, включенных в анализ, за исследуемый период. Важно подчеркнуть, что доля пациентов с неблагоприятными FISH-паттернами и инициальным лейкоцитозом выше $30 \times 10^9/\text{л}$ достоверно не отличалась от остальной группы пациентов. Еще одним важным наблюдением являлось то, что пациенты с прогностически неблагоприятными FISH-паттернами хорошо отвечали на индукционную терапию как по данным цитологического исследования крови и костного мозга на 8, 15 и 36-й дни терапии, так и по результатам определения минимальной остаточной болезни на момент окончания индукционной терапии по протоколу ALL-MB 2015. Сравнение паттернов на этапах первичной диагностики и диагностики рецидива показало, что только 6 (50%) из 12 оцениваемых случаев, которым было проведено FISH-исследование в обеих точках наблюдения, сохранили стабильность. Таким образом, ВП-ОЛЛ с транслокацией t(12;21)(p13;q22)/*ETV6::RUNX1* характеризуется большим разнообразием вторичных генетических вариантов, выявляемых с помощью метода FISH, наиболее частой из которых является делеция *ETV6*. Выявленная нами группа прогностически неблагоприятных FISH-паттернов требует дальнейшего изучения на большей когорте пациентов в целях возможной их рестратификации для более интенсивного лечения.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, дети, транслокация $t(12;21)(p13;q22)$, $ETV6::RUNX1$, флуоресцентная гибридизация *in situ*

Котов И.С. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (3): 102–115.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-3-102-115

Additional genetic aberrations detected by fluorescence *in situ* hybridization in children with acute lymphoblastic leukemia and the $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ translocation: an association with initial clinical and laboratory findings and response to therapy

I.S. Kotov¹, G.A. Tsaur¹⁻³, E.S. Nokhrina², A.V. Ryakshina², Yu.V. Olshanskaya⁴, Zh.V. Permikin^{1,2}, T.Yu. Verzhbitskaya^{2,3}, T.O. Riger^{2,3}, A.I. Ponomarev¹⁻³, O.V. Strenева^{2,3}, O.R. Arakaev^{2,3}, S.V. Tsvirenko¹, O.P. Kovtun¹, L.G. Fechina^{2,3}

¹Ural State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ekaterinburg

²Regional Children's Clinical Hospital, Ekaterinburg

³Research Institute of Medical Cell Technologies, Ekaterinburg

⁴Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Translocation $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ is among the most common genetic aberrations in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (BCP-ALL). This translocation is often combined with $ETV6$ and/or $RUNX1$ copy number variations. Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) technique, which is widely used to reveal the presence of $t(12;21)(p13;q22)$, also allows the detection of these additional genetic aberrations (FISH patterns). The aim of this study was to provide detailed characteristics of FISH patterns in patients with BCP-ALL and the $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ translocation. In our study we enrolled 241 patients with $t(12;21)$ -positive ALL who had undergone testing with a dual-color double-fusion FISH assay between 2008 and 2023. This study was approved by the Independent Ethics Committee and the Academic Council of the Research Institute of Medical Cell Technologies (Ekaterinburg). A single FISH pattern (monoclonal cases) was identified in 200 patients (83.0%), 2 or more patterns (polyclonal cases) were detected in 41 (17.0%) patients. The majority of polyclonal cases ($n = 39$; 95.1%) exhibited 2 patterns. The most common secondary genetic alteration was $ETV6$ deletion ($n = 105$; 43.5%). Less common aberrations included an additional copy of $RUNX1$ ($n = 97$; 40.2%), a combination of $ETV6$ deletion and an additional copy of $RUNX1$ ($n = 27$; 11.2%), and an additional copy of $ETV6$ ($n = 5$; 2.0%). The number of the patients with one FISH pattern that did not contain any additional genetic aberrations as a result of a reciprocal translocation (2F1G1R) was relatively small ($n = 35$; 17.5%). We identified 5 prognostically unfavorable FISH patterns associated with a high risk of relapse. These included cases with simultaneous presence of $ETV6$ and $RUNX1$ additional copies (pattern 2F2G2R), isolated additional copies of $RUNX1$ (pattern 2F2R-3F2R) or $ETV6$ (pattern 1F1G2R-2F2G4R), a partial deletion of $ETV6$ (pattern 2F1Gdim1R) and a non-reciprocal translocation of $t(12;21)$ (pattern 1F1R-1F1G1R). Grouping these unfavorable prognostic FISH patterns together made it possible to predict 6 (46%) out of 13 relapses that occurred in the patients during the study period. It is important to highlight that the number of the patients with unfavorable FISH patterns and initial leukocytosis of $> 30 \times 10^9$ leukocytes/L did not differ significantly from the rest of the group. Another important observation was that the patients with prognostically unfavorable FISH patterns responded well to induction therapy, as assessed both by cytological examination of blood and bone marrow smears on days 8, 15, and 36 of therapy and by MRD response at the end of induction therapy according to the ALL-MB 2015 protocol. A comparison of FISH patterns detected at initial diagnosis and at relapse showed that only 6 (50%) out of 12 cases who had undergone FISH testing at both time points remained stable. In conclusion, BCP-ALL with the translocation $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ was characterized by a vast variety of secondary genetic aberrations detected by FISH, the most prevalent of which was $ETV6$ deletion. A group of unfavorable FISH patterns identified in our study warrants further investigation in a larger cohort of ALL patients for their possible re-stratification so that they could receive more intensive treatment.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, children, $t(12;21)(p13;q22)$ translocation, $ETV6::RUNX1$, fluorescence *in situ* hybridization

Kotov I.S., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (3): 102–115.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-3-102-115

Транслокация $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ является одной из самых частых генетических aberrаций у детей с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), на ее долю приходится около 25% случаев ОЛЛ из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ). Данная aberrация является криптической и не обнаруживается методами стандартной цитогенетики. Для ее диагностики используются технологии полимеразной цепной реакции и флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH). Результатом транслокации является химерный ген $ETV6::RUNX1$, который кодирует патологический белок $ETV6::RUNX1$, нарушающий нормальное созревание гемопоэтических клеток [1–3]. Гены $ETV6$ (ранее обозначаемый как TEL) и $RUNX1$ (также известный как $AML1$) кодируют транскрипционные факторы, играющие важную роль в гемопоэзе и ангиогенезе, особенно в период эмбрионального развития [4–9].

Было доказано, что транслокация $t(12;21)(p13;q22)$ может появляться еще до рождения и явля-

ется инициирующим этапом лейкогенеза [1–3, 10, 11]. Считается, что важным шагом к развитию ОЛЛ служит делеция второго, интактного аллеля $ETV6$ [12–14]. Данная аномалия встречается примерно в 70% случаев транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ и может проявляться как полной делецией короткого плеча 12-й хромосомы, так и частичной делецией гена $ETV6$ [13, 14]. Примерно у четверти пациентов с ОЛЛ и наличием транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ отмечается появление дополнительных копий гена $RUNX1$, у 10% – $der(21)t(12;21)$ [15, 16]. Сочетание нескольких аномалий встречается в каждом пятом случае [9, 17]. В целом изменения, затрагивающие $ETV6$ и $RUNX1$, отмечаются у большинства (до 80% случаев) пациентов с $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ [18].

У детей с ВП-ОЛЛ наличие транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ связано с благоприятным прогнозом заболевания [19]. При использовании современных протоколов лечения долгосрочная

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPhOI»

Received 09.04.2024

Accepted 13.05.2024

Correspondence:

Grigory A. Tsaur,
Dr. Med. Sci., Head of the Laboratory of Molecular Biology, Immunophenotyping and Pathomorphology at Sverdlovsk Regional Children's Clinical Hospital, Head of the Laboratory of Cellular Therapy for Oncohematological Diseases at the Research Institute of Medical Cell Technologies, Associate Professor at the Chair of Medical Microbiology and Laboratory Medicine at Ural State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: 32 S. Deryabinoy St., Ekaterinburg 620149, Russia
E-mail: tsurga@mis66.ru

бессобытийная выживаемость (БСВ) превышает 85% [20, 21]. За немногочисленные рецидивы заболевания чаще всего ответственен основной лейкозный клон, обнаруживаемый при первичной диагностике, в котором могут происходить дополнительные драйверные мутации, и реже субклоны, сосуществующие наряду с основным [22–29]. Считается, что вторичные по отношению к транслокации $t(12;21)(p13;q22)$ генетические aberrации могут обуславливать различные клинические течение и прогноз заболевания, и, кроме того, влиять на чувствительность к лекарственным препаратам [4, 30]. Более того, ранее было показано, что рецидивы ОЛЛ чаще возникают у пациентов, имеющих сочетание классической транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ с вторичными aberrациями, при которых происходит слияние не вовлеченных в транслокацию $t(12;21)$ аллелей *ETV6* и *RUNX1* с какой-либо другой хромосомой [31]. Однако прогностическое значение большинства других вторичных генетических аномалий, выявляемых методом FISH (FISH-паттерны), у пациентов с транслокацией $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ остается не до конца выясненным [12, 32–34].

Целью данной работы была детальная характеристика FISH-паттернов у пациентов с ВП-ОЛЛ и наличием транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данное ретроспективное исследование был включен 241 пациент, инициальная диагностика которым была проведена в лаборатории молекулярной биологии, иммунофенотипирования и патоморфологии Областной детской клинической больницы (Екатеринбург) в период с 2008 по 2023 г. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий» (Екатеринбург). Критериями включения в исследование служили установленный диагноз ВП-ОЛЛ с транслокацией $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$, возраст от 1 до 18 лет и проведение исследования методом FISH с флуоресцентным зондом с двойным слиянием для выявления химерного гена *ETV6::RUNX1*. Среди общего числа пациентов 17 (7,0%) получали лечение по протоколу ALL-MB 2008, 224 (93,0%) – по протоколу ALL-MB 2015.

Для обнаружения транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ применяли методы полимеразной цепной реакции с предшествующей обратной транскрипцией [35, 36], а также исследование методом FISH [37] с зондом XL $t(12;21)ETV6/RUNX1$ (Metasystems, Германия) согласно

инструкции производителя. Фрагмент зонда, окрашенный зеленым флуоресцентным красителем (Green, G), комплементарен гену *ETV6* и фланкирующим участкам хромосомного района 12p13.2. Фрагмент зонда, окрашенный красным флуоресцентным красителем (Red, R), комплементарен гену *RUNX1* и фланкирующим участкам хромосомного района 21q22.1. Появление сливного сигнала желтого цвета (Fusion, F) свидетельствует о наличии транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$. Отдельные примеры выявленных FISH-паттернов приведены на рисунке 1.

Ответ на терапию оценивали по абсолютному количеству бластных клеток в периферической крови на 8-й день лечения, проценту бластов в костном мозге на 15-й и 36-й дни индукционной терапии, а также по величине минимальной остаточной болезни (МОБ) на момент окончания индукции ремиссии (день 36). Определение МОБ проводили в образцах костного мозга на приборе BD FACSCanto II (BD Biosciences, США) методом 8-цветной проточной цитометрии. Пользовательская настройка прибора и ежедневный контроль качества осуществлялись с помощью микрочастиц Cytometer Setup & Tracking (BD Biosciences, США). Пробоподготовка образцов костного мозга проводилась по методике «окрашивание–лизис–отмывка». Накопление событий, выделение региона бластных клеток, анализ и интерпретация экспрессии антигенов проводились в соответствии со стандартом российско-белорусской кооперативной группы по диагностике острых лейкозов у детей [38]. Результаты анализа оценивались с помощью программного обеспечения FACS Diva 6.1 (BD).

Для статистической обработки данных применялось свободно распространяемое программное обеспечение jamovi (версия 2.3.28 solid). При сравнении по качественным признакам использовался точный критерий Фишера, при сопоставлении по количественным признакам между 2 группами – критерий Манна–Уитни, между несколькими группами – критерий Крускала–Уоллиса. Для оценки БСВ применялся метод Каплана–Майера. Под событиями понимали рецидив, смерть вследствие любой причины, выход из-под наблюдения, развитие вторичной опухоли. Для сравнения кривых использовался непараметрический критерий log-rank (логарифмический ранговый тест). Для оценки кумулятивной частоты рецидива применялся критерий Грея. Все различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Среди исследованной методом FISH группы из 241 пациента с транслокацией $t(12;21)(p13;q22)/$

Рисунок 1

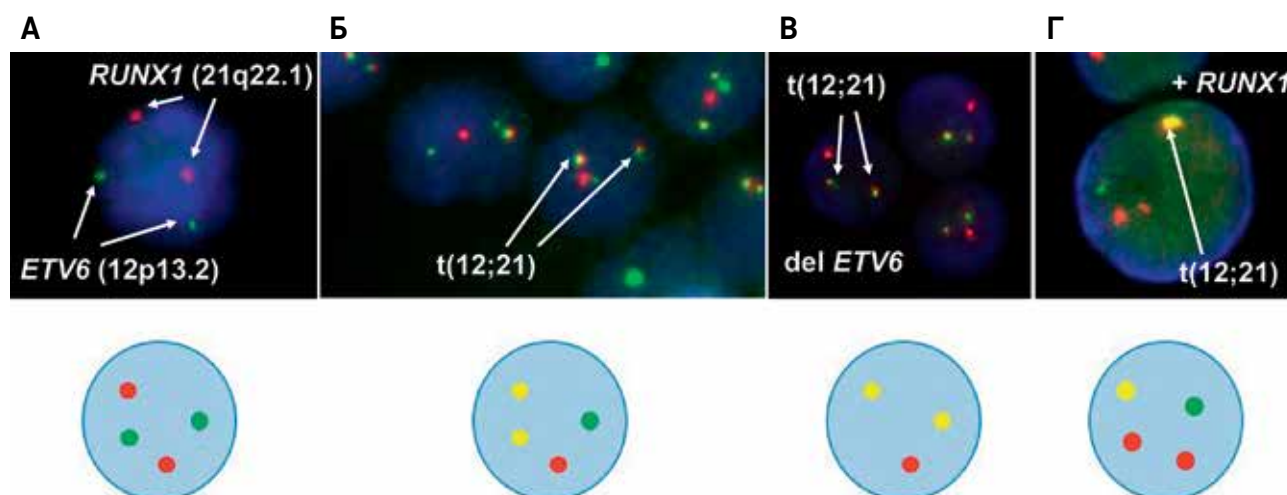
Микрофотографии и схемы отдельных FISH-паттернов в исследуемой когорте пациентов с транслокацией $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$

А – распределение флуоресцентных сигналов в нормальном ядре без наличия транслокации (вариант 2G2R); Б – FISH-паттерн 2F1G1R, соответствующий стандартной реципрокной транслокации $t(12;21)$; В – FISH-паттерн 2F1R, соответствующий транслокации $t(12;21)$ с делецией второго аллеля гена *ETV6*; Г – FISH-паттерн 1F1G2R, соответствующий транслокации $t(12;21)$ с дополнительной копией гена *RUNX1*

Figure 1

Microphotographs and schemes of individual FISH patterns identified in the studied cohort of patients with the $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ translocation

А – the distribution of fluorescent signals in a normal nucleus without the translocation (pattern 2G2R); Б – FISH pattern 2F1G1R, corresponding to the standard reciprocal translocation $t(12;21)$; В – FISH pattern 2F1R, corresponding to the translocation $t(12;21)$ with deletion of the second *ETV6* allele; Г – FISH pattern 1F1G2R, corresponding to the translocation $t(12;21)$ with an additional copy of *RUNX1*



ETV6::RUNX1 единственный FISH-паттерн (моноклональные случаи) был выявлен в 200 (83,0%) случаях, 2 паттерна и более (поликлональные случаи) – в 41 (17,0%). Среди последних подавляющее большинство ($n = 39$; 95,1%) имели 2 паттерна. В целом среди всей выборки были обнаружены 38 различных FISH-паттернов, наиболее часто встречались следующие: 2F1R ($n = 64$; 23,5%), 2F1G1R ($n = 46$; 16,9%), 1F1G2R ($n = 36$; 13,2%), 2F1G2R ($n = 16$; 5,9%), 1F2G2R ($n = 14$; 5,1%), 2F2R ($n = 14$; 5,1%), 3F1G1R ($n = 13$; 4,8%), которые вместе составили 74,5% всего разнообразия обнаруженных паттернов. Однократно встретились 19 FISH-паттернов (рисунок 2).

Среди моноклональных случаев нами были определены 9 самых частых FISH-паттернов: 2F1R ($n = 56$; 28,0%), 2F1G1R ($n = 35$; 17,5%), 1F1G2R ($n = 28$; 14,0%), 2F2R ($n = 12$; 6,0%), 1F2G2R ($n = 10$; 5,0%), 2F1G2R ($n = 10$; 5,0%), 3F1G1R ($n = 8$; 4,0%), 1F2R ($n = 5$; 2,5%), 3F1R ($n = 5$; 2,5%). Оставшиеся паттерны (15,5%) по отдельности нами не рассматривались. Кроме того, мы определили распространенные комбинации паттернов среди поликлональных случаев. Наиболее частыми из них оказались следующие: 2F1R-2F1G1R (19,5%), 1F1G2R-2F1G2R (7,3%), 1F1G2R-1F2G2R (4,8%), 1F1G2R-1F1G3R (4,8%), 2F1R-3F1G1R (4,8%). Распределение паттернов в этой подгруппе отражено на рисунке 3.

Анализ паттернов среди моноклональных и поликлональных случаев показал, что наиболее распро-

страненной дополнительной аберрацией при наличии транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ в обеих группах являлась полная или частичная делеция гена *ETV6* (42,5% и 48,3% соответственно). Второй по частоте была дополнительная копия гена *RUNX1* (37,0% и 56,1% соответственно). Сочетание делеции *ETV6* и дополнительной копии *RUNX1* наблюдалось у 10,5% пациентов с 1 FISH-паттерном и у 14,4% – с 2 FISH-паттернами и более. Доля случаев, которые не сопровождалась дополнительными генетическими изменениями, т. е. имели стандартную реципрокную транслокацию (FISH-паттерн 2F1G1R), среди пациентов с 1 клоном оказалась относительно небольшой (17,5%).

Сравнительный анализ показал, что у пациентов с несколькими FISH-паттернами встречаемость дополнительных копий *RUNX1* и *ETV6* значимо выше, чем у пациентов с одним FISH-паттерном, как по отдельности ($p = 0,035$ и $0,001$ соответственно), так и сочетанно ($p = 0,023$).

Кроме того, мы провели сравнение частоты встречаемости паттернов среди пациентов с одним и несколькими клонами. Значимые отличия показали 4 паттерна: 2F1G1R ($p = 0,010$), 2F1G2R ($p = 0,013$), 3F1G1R ($p = 0,017$) и 1F1G3R ($p = 0,036$). Все они чаще встречались среди поликлональных случаев, однако за исключением варианта 1F1G3R эти паттерны были широко распространены и среди пациентов с 1 клоном. Результаты сравнения частоты выявления паттернов представлены на рисунке 4.

Рисунок 2

Разнообразие и встречаемость FISH-паттернов в исследуемой когорте пациентов с транслокацией $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$

Figure 2

The variety and frequency of FISH patterns detected in the studied cohort of patients with the $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ translocation

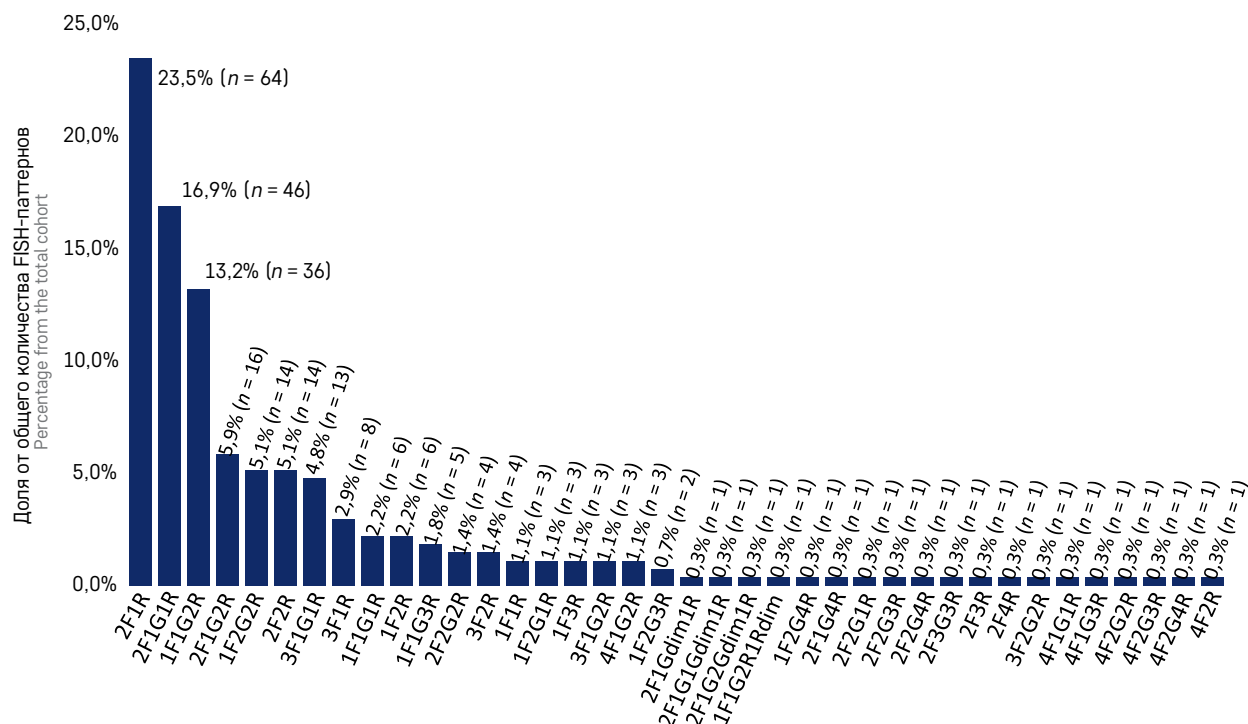
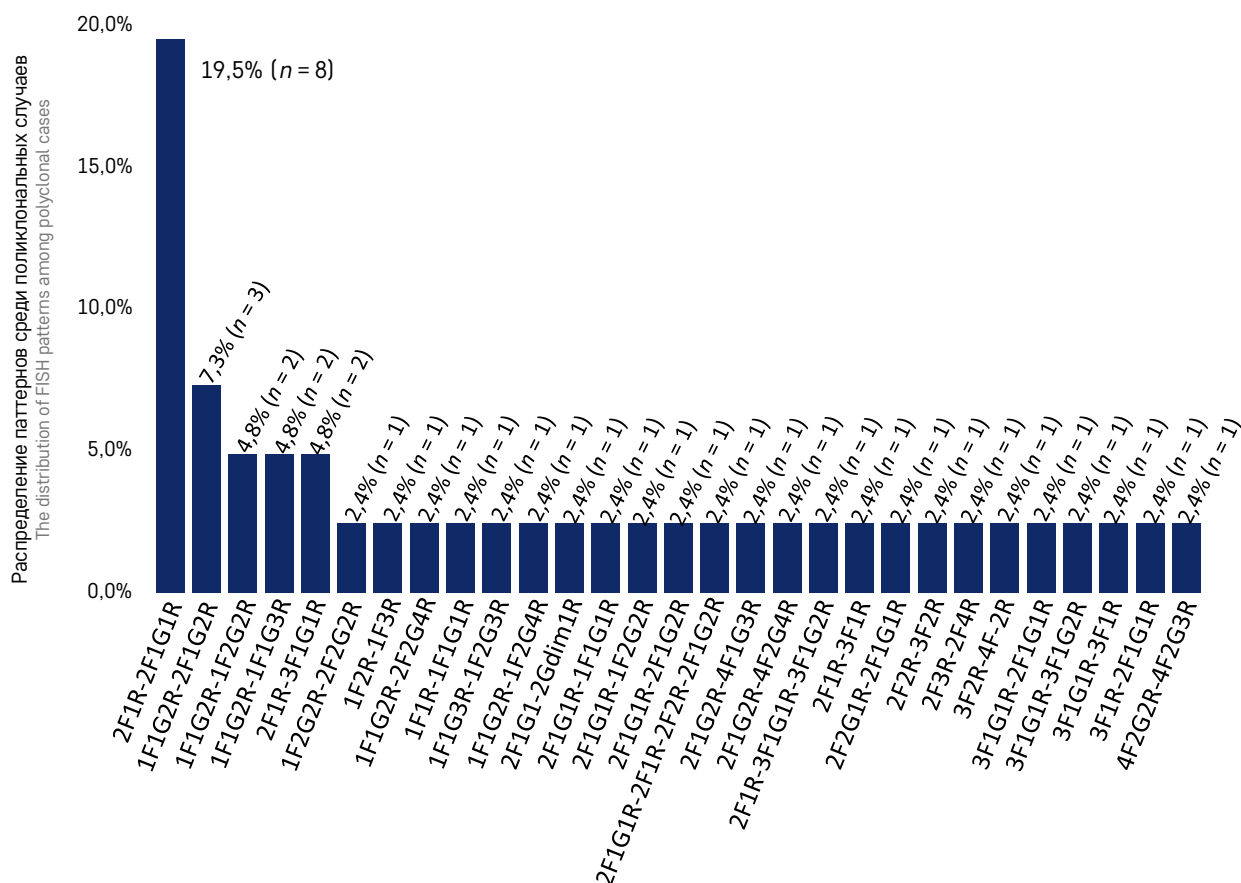


Рисунок 3

Комбинации FISH-паттернов среди поликлональных случаев

Figure 3

Combinations of FISH patterns in polyclonal cases



Также мы провели оценку инициальных FISH-паттернов среди пациентов с транслокацией $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$, у которых в дальнейшем произошел рецидив заболевания. За рассматриваемый период в исследованной группе пациентов было выявлено 13 (5,4%) случаев рецидива. Ввиду отсутствия материала у 1 пациента его FISH-паттерн на момент рецидива остался неисследованным. У 3 (23,0%) пациентов с рецидивом было обнаружено по 2 FISH-паттерна при первичном обследовании, 1 из них сохранил поликлональность и на момент рецидива. Встречаемость дополнительных генетических aberrаций среди пациентов с рецидивом на момент постановки диагноза и при рецидиве приведена в таблице 1.

При сравнении 2 подгрупп статистически значимых различий не обнаружено. Для FISH-паттернов при рецидиве были характерны разнообразные изменения, включая появление дополнительных копий *RUNX1* (8,3%), делецию *ETV6* (16,6%), элиминацию одного из FISH-паттернов (25,0%), увеличение количества сигналов слияния (16,6%). Сохранение первичного FISH-паттерна при рецидиве отмечалось в 5 (41,6%) случаях (рисунок 5).

Кроме того, мы сравнили встречаемость инициальных FISH-паттернов среди пациентов, которые остались в первой клинико-гематологической ремиссии ($n = 224$), и теми, у кого развился рецидив ($n = 13$). Значимые отличия в данных подгруппах показал только FISH-паттерн 2F2G2R ($p = 0,008$), который был более распространен в подгруппе, где позднее был диагностирован рецидив заболевания ($n = 2$; 15,4% и $n = 1$; 0,4% соответственно; $p = 0,008$) (рисунок 6). В дальнейшем мы объединили FISH-паттерны, которые преобладали у пациентов

с рецидивом (2F2G2R, 2F2R-3F2R, 1F1R-1F1G1R, 1F1G2R-2F2G4R, 2F1Gdim1R), в группу прогностически неблагоприятных FISH-паттернов ($n = 7$; 2,9%) и анализировали их совместно.

При сравнении вторичных генетических aberrаций у пациентов, находящихся в первой клинико-гематологической ремиссии, и пациентов, позднее развивших рецидив, достоверные различия отмечены только для одновременно выявленных дополнительных копий *ETV6* и *RUNX1*, которые встречались чаще у пациентов с рецидивами ОЛЛ (9,8% и 30,7% соответственно; $p = 0,041$) (таблица 2). Именно эти дополнительные копии и участвовали в формировании неблагоприятного FISH-паттерна 2F2G2R.

Медиана уровня лейкоцитов на момент постановки диагноза среди моноклональных случаев составила $13,95 \times 10^9/\text{л}$ (диапазон значений (ДЗ) $2,1\text{--}185,6 \times 10^9/\text{л}$), среди поликлональных – $14,0 \times 10^9/\text{л}$ (ДЗ $2,3\text{--}135,2 \times 10^9/\text{л}$) ($p = 0,668$). Анализ инициального лейкоцитоза среди пациентов с наиболее распространенными FISH-паттернами показал статистически значимые различия в подгруппах с вариантами 1F1G2R ($p = 0,002$), для которой были типичны достоверно более низкие показатели лейкоцитов, и 1F2R ($p = 0,014$), характеризующейся инициальным гиперлейкоцитозом (таблица 3).

Медиана возраста пациентов на момент постановки диагноза во всей исследованной нами выборке составила 4,0 года (ДЗ от 1,8 до 17,8 года). При сравнении пациентов с 1 и несколькими FISH-паттернами статистически значимых различий по возрасту выявлено не было. Медианы в этих группах составили 3,9 и 4,2 года соответственно ($p = 0,099$). Среди выделенных нами 9 групп пациентов с частыми FISH-пат-

Таблица 1

Сравнительная частота вторичных генетических изменений у пациентов с ОЛЛ на момент инициальной диагностики и при рецидиве

Table 1

A comparative frequency of secondary genetic aberrations in the acute lymphoblastic leukemia (ALL) patients at initial diagnosis and at relapse

Группа FISH-паттернов Group of FISH patterns	На момент инициальной диагностики ($n = 13$), n (%) At the time of initial diagnosis ($n = 13$), n (%)	На момент рецидива ($n = 12$) [§] , n (%) At the time of relapse ($n = 12$) [§] , n (%)	p
Моноклональные случаи Monoclonal cases	10 (76,9)	11 (91,6)	0,593
Поликлональные случаи Polyclonal cases	3 (23,1)	1 (8,3)	0,593
Без дополнительных изменений (2F1G1R) [†] No additional aberrations (2F1G1R) [†]	3 (23,1)	1 (8,3)	0,593
Делеция <i>ETV6</i> (полная или частичная) [#] Deletion of <i>ETV6</i> (complete or partial) [#]	4 (30,7)	3 (25,0)	1,000
Дополнительная копия <i>RUNX1</i> [#] An additional copy of <i>RUNX1</i> [#]	2 (15,4)	4 (33,3)	0,378
Делеция <i>ETV6</i> и дополнительная копия <i>RUNX1</i> [#] Deletion of <i>ETV6</i> and an additional copy of <i>RUNX1</i> [#]	1 (7,7)	1 (8,3)	1,000
Дополнительные копии <i>ETV6</i> и <i>RUNX1</i> [#] Additional copies of <i>ETV6</i> and <i>RUNX1</i> [#]	3 (23,1)	2 (16,6)	1,000

Примечание. § – у 1 пациента отсутствовал материал для проведения FISH-исследования; [†] – среди моноклональных случаев; [#] – в случае наличия у пациента 2 FISH-паттернов и более для анализа выбирался тот, который встретился более чем в 50% подсчитанных ядер.

Notes. [†] – in 1 case, no material was available for FISH analysis; [†] – among monoclonal cases; [#] – if a patient had two or more FISH patterns, the one that was found in more than 50% of the counted nuclei was selected for analysis.

Рисунок 4

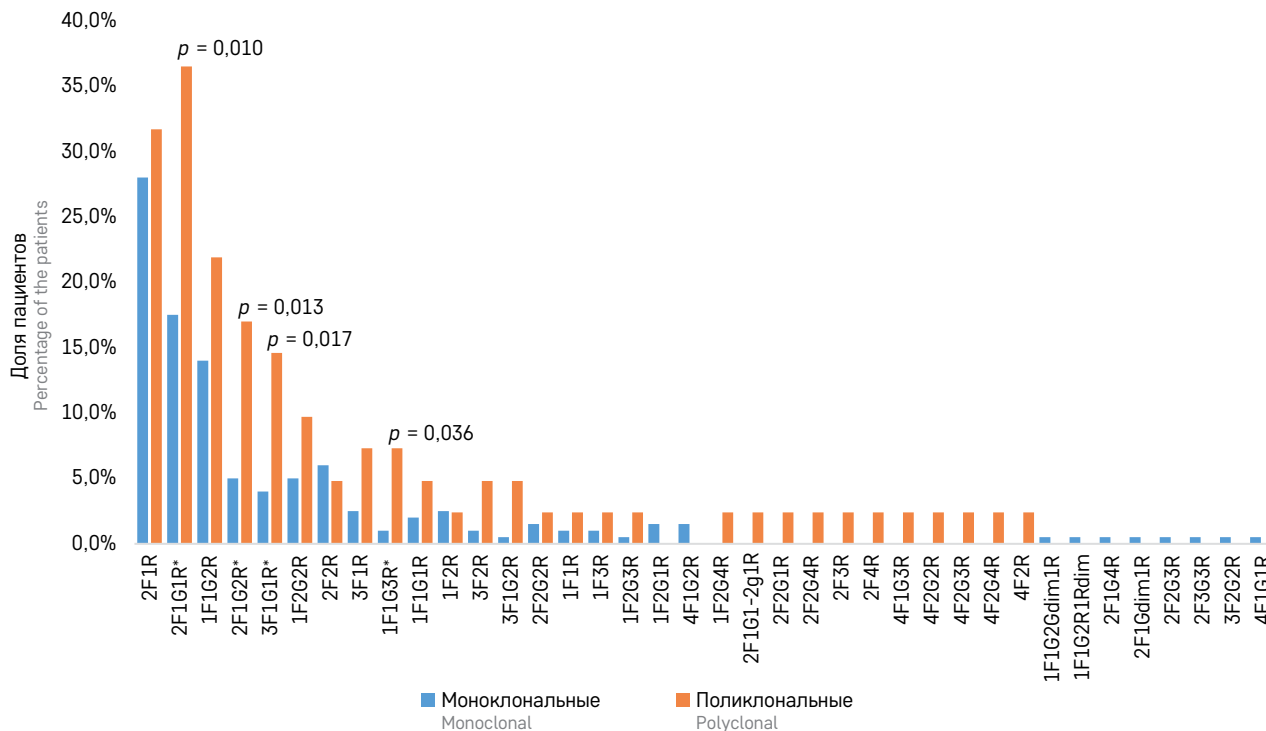
Частота встречаемости FISH-паттернов среди моноклональных и поликлональных случаев

Величина p приведена только у тех FISH-паттернов, отмеченных знаком «*», для которых были выявлены статистически значимые различия в исследуемых группах

Figure 4

The frequency of FISH patterns in monoclonal and polyclonal cases

p values are given only for FISH patterns marked with “*” for which statistically significant differences between the studied groups were observed

**Рисунок 5**

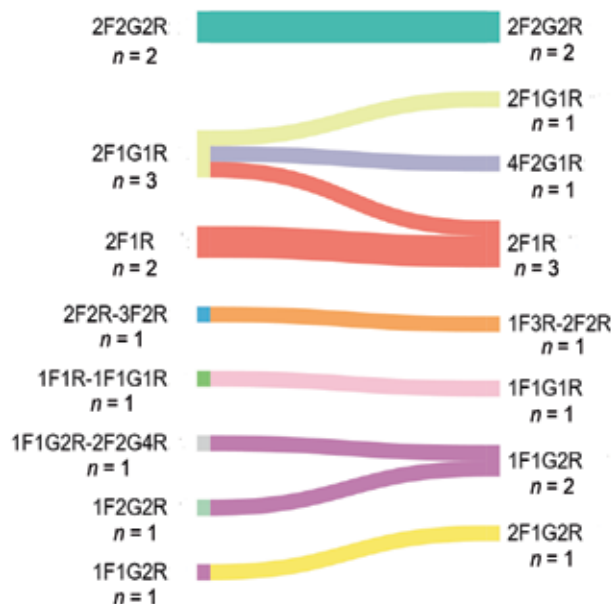
FISH-паттерны у 12 пациентов с рецидивом ОЛЛ

Слева указаны FISH-паттерны на момент постановки диагноза, справа – во время рецидива

Figure 5

FISH patterns in 12 patients with relapsed ALL

FISH patterns detected at the time of diagnosis are shown on the left, while FISH patterns at relapse are shown on the right

**Рисунок 6**

FISH-паттерны на момент инициальной диагностики у пациентов, позднее развивших рецидив, и у пациентов, которые остались в первой клинико-гематологической ремиссии

Величина p приведена только у того FISH-паттерна, для которого были выявлены статистически значимые различия в исследуемых группах

Figure 6

FISH patterns at initial diagnosis in the patients who later relapsed and in the patients who remained in first complete remission

A p value is given only for the FISH pattern for which statistically significant differences between the studied groups were observed

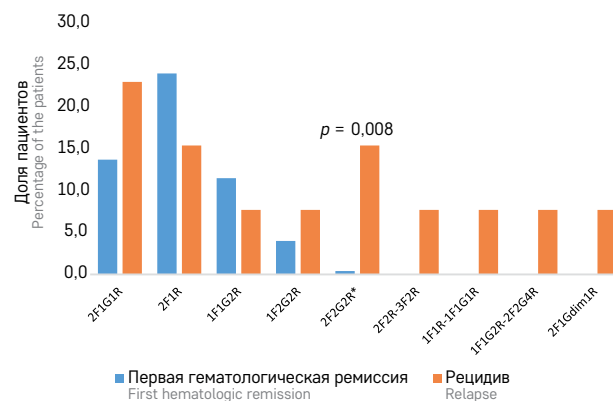


Таблица 2

Вторичные генетические изменения у пациентов, находящихся в первой клинико-гематологической ремиссии, и у пациентов, у которых развился рецидив ОЛЛ

Table 2

Secondary genetic aberrations in the patients in first clinical and hematologic remission and in the patients who developed a relapse

Группа FISH-паттернов Group of FISH patterns	Пациенты в ремиссии (n = 224) [§] , n (%) Patients in remission (n = 224) [§] , n (%)	Пациенты с рецидивом (n = 13), n (%) Relapsed patients (n = 13), n (%)	p
Моноклональные случаи Monoclonal cases	187 (83,3)	10 (76,9)	0,464
Поликлональные случаи Polyclonal cases	37 (16,7)	3 (23,1)	0,464
Без дополнительных изменений (2F1G1R) [†] No additional aberrations (2F1G1R) [†]	38 (16,9)	3 (23,1)	0,475
Делеция ETV6 (полная или частичная) [#] Deletion of ETV6 (complete or partial) [#]	65 (29,0)	4 (30,7)	1,000
Дополнительная копия RUNX1 [#] An additional copy of RUNX1 [#]	49 (21,8)	2 (15,4)	0,740
Делеция ETV6 и дополнительная копия RUNX1 [#] Deletion of ETV6 and an additional copy of RUNX1 [#]	24 (10,7)	1 (7,7)	1,000
Дополнительные копии ETV6 и RUNX1 [#] Additional copies of ETV6 and RUNX1 [#]	18 (8,0)	3 (23,1)	0,096

Примечание. [§] – у 4 пациентов произошли иные события (выход из-под наблюдения (n = 2) и смерть во время индукционной терапии (n = 2)), они не были включены в данный анализ; [†] – среди моноклональных случаев; [#] – в случае наличия у пациента 2 FISH-паттернов и более для анализа выбирался тот, который встречался более чем в 50% подсчитанных ядер.

Notes. [§] – in 4 cases, other events were registered (loss to follow-up (n = 2) and death during induction therapy (n = 2)) and thus they were not included in this analysis; [†] – among monoclonal cases; [#] – if a patient had 2 or more FISH patterns, the one that was found in more than 50% of the counted nuclei was selected for analysis.

Таблица 3

Инициальные данные пациентов с 9 наиболее распространенными FISH-паттернами

Table 3

Initial characteristics of the patients with the 9 most common FISH patterns

Показатель Parameter	2F1R (n = 56)	2F1G1R (n = 35)	1F1G2R (n = 28)	2F2 (n = 12)	1F2G2R (n = 10)	2F1G2R (n = 10)	3F1G1R (n = 8)	1F2R (n = 5)	3F1R (n = 5)
Инициальный лейкоцитоз, 10 ⁹ /л Initial white blood cell count, 10 ⁹ /L									
Медиана Median	15,8	18,8	5,9*	19,9	7,0	16,4	8,1	64,1*	21,3
Q ₁ –Q ₃	6,9–38,3	7,3–41,2	3,4–11,2	7,8–78,8	4,3–12,6	5,3–30,6	5,3–18,9	50,4–69,5	16,2–24,5
Возраст, годы Age, years									
Медиана Median	3,8	3,6	3,5*	3,9	5,4	4,1	3,4	2,9	7,6
Q ₁ –Q ₃	3,2–5,1	2,9–5,0	3,0–4,3	3,5–5,8	4,2–7,3	4,0–5,2	2,9–5,1	2,6–4,5	3,6–11,1
Пол, % Gender, %									
Мужской Male	51,2	40,0	64,3	91,6*	70,0	70,0	87,5	80,0	60,0
Женский Female	48,8	60,0*	35,7	8,4	30,0	30,0	12,5	20,0	40,0
Терапевтические группы согласно ALL-MB 2015, % Therapeutic groups according to the ALL-MB 2015 protocol, %									
1221-SR	50,0	57,6	65,2	36,3	60,0	42,8	83,3	100,0	75,0
1221-IR	50,0	42,4	34,8	63,7	40,0	57,2	16,7	0,0	25,0

Примечание. Q₁ – первый квартиль; Q₃ – третий квартиль. * – статистически значимые различия (подробнее в тексте).

Notes. Q₁ – first quartile; Q₃ – third quartile. * – statistically significant differences (see text for details).

тернами статистически достоверные различия были получены только для детей с паттерном 1F1G2R, которые были достоверно младше всех остальных (p = 0,041) (таблица 3). Распределение пациентов по полу в сравниваемых группах распространенных FISH-паттернов также приведено в таблице 3. В целом во всей выборке пациентов преобладали лица мужского пола (58,0%). Значимые отличия от среднего результата выборки показали подгруппы с FISH-паттернами 2F1G1R (p = 0,025), где 60% пациентов были девочки, и 2F2R (p = 0,016), где доля мальчиков составила 91,6%. Распределение по полу

среди моноклональных и поликлональных пациентов оказалось схожим: 59,5% пациентов с 1 FISH-паттерном были мужского пола, 40,5% – женского, а среди пациентов с 2 FISH-паттернами и более 53,6% были лицами мужского пола, 46,4% – женского (p = 0,492).

Поражение центральной нервной системы (ЦНС-3) на момент постановки диагноза было отмечено лишь у 1 (0,4%) пациента среди всей выборки, который имел FISH-паттерн 2F1R. Распределение по терапевтическим группам протокола ALL-MB 2015 пациентов с наиболее распространен-

ными моноклональными FISH-паттернами указано в *таблице 3*. Статистически значимых различий не обнаружено.

Для исследования связи между генетическим вариантом транслокации t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1 и ответом на индукционную терапию проанализированы данные пациентов с 9 наиболее распространенными FISH-паттернами, которые были включены в исследование ALL-MB 2015. Результаты представлены в *таблице 4*.

У пациентов с FISH-паттерном 1F2G2R доля случаев, имевших M2- или M3-статус костного мозга на 15-й день терапии была значимо выше, чем у пациентов с другими FISH-паттернами, такими как 2F1R ($p = 0,009$), 2F1G1R ($p = 0,032$) и 1F1G2R ($p = 0,042$). Также пациенты с паттерном 1F2G2R чаще имели высокий уровень МОБ по сравнению с подгруппами 2F1G1R ($p = 0,037$) и 2F1G2R ($p = 0,034$). Однако при сравнении величины МОБ у пациентов с вариантом 1F2G2R и у детей с другими моноклональными FISH-паттернами значимых различий не обнаружено ($p = 0,089$). Кроме того, более высокие значения МОБ имели те пациенты, FISH-паттерны которых характеризовались наличием дополнительных копий ETV6 и RUNX1 (1F2G2R, 1F1G2R-1F2G4R, 1F2G2R-2F2G2R, 4F2G2R-4F2G3R) ($p = 0,010$). Данные представлены в *таблице 5*.

При сравнении группы пациентов с неблагоприятными паттернами ($n = 7$) со всеми остальными, лечившимися по протоколу ALL-MB 2015, было показано, что показатели ответа на терапию на 8, 15 и 36-й дни, включая величину МОБ на 36-й день, достоверно не различались (*таблица 6*).

Таблица 4
 Ответ на индукционную терапию среди пациентов с 9 наиболее распространенными FISH-паттернами

Table 4
 Response to induction therapy in the patients with the 9 most common FISH patterns

Показатель Parameter	2F1R (n = 48)	2F1G1R (n = 32)	1F1G2R (n = 23) [†]	2F2R (n = 11)	1F2G2R (n = 10)	2F1G2R (n = 7) [†]	3F1G1R (n = 6)	1F2R (n = 1)	3F1R (n = 4)
8-й день (количество бластных клеток в периферической крови/мкл) Day 8 (absolute count of blast cells in the peripheral blood/ μ L)									
< 1000, n (%)	48 (100,0)	32 (100,0)	22 (100,0)	11 (100,0)	9 (90,0)	6 (100,0)	6 (100,0)	1 (100,0)	4 (100,0)
$\geq$ 1000, n (%)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (10,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
15-й день (количество бластных клеток в костном мозге, %) Day 15 (percentage of blast cells in the bone marrow, %)									
< 5 (M1), n (%)	46 (95,8)	30 (93,7)	21 (95,5)	11 (100,0)	6 (60,0)*	5 (83,4)	5 (83,4)	0 (0,0)	4 (100,0)
5–25 (M2), n (%)	2 (4,2)	2 (6,3)	1 (4,5)	0 (0,0)	2 (20,0)*	0 (0,0)	1 (16,6)	1 (100,0)	0 (0,0)
> 25 (M3), n (%)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (20,0)*	1 (16,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
36-й день (доля бластных клеток в костном мозге, %) Day 36 (percentage of blast cells in the bone marrow, %)									
< 5, n (%)	48 (100,0)	32 (100,0)	22 (100,0)	11 (100,0)	10 (100,0)	6 (100,0)	6 (100,0)	1 (100,0)	4 (100,0)
$\geq$ 5, n (%)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
36-й день (величина МОБ, %) [#] Day 36 (minimal residual disease (MRD), %) [#]									
< 0,01, n (%)	33 (89,2)	22 (95,6)	15 (79,0)	7 (87,5)	5 (62,5)*	6 (100,0)	4 (100,0)	1 (100,0)	3 (75,0)
0,01–0,1, n (%)	4 (10,8)	1 (4,4)	2 (10,5)	1 (12,5)	2 (25,0)*	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
> 0,1, n (%)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (10,5)	0 (0,0)	1 (12,5)*	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (25,0)

Примечание. [†] – 1 пациент умер в период индукции ремиссии; [#] – ввиду отсутствия данных МОБ у некоторых пациентов размеры отдельных подгрупп отличаются от первоначально указанного количества; * – различия статистически значимы (подробнее в тексте).
 Notes. [†] – 1 patient died during the induction of remission; [#] – due to the lack of MRD data for some patients, the number of the patients in individual subgroups differs from the initial; * – statistically significant differences (see text for details).

Для оценки выживаемости пациентов с различными вариантами FISH-паттернов в анализ были взяты пациенты, которым проводилось лечение по протоколу ALL-MB 2015 и диагноз установлен до 31 декабря 2019 г. включительно ($n = 93$). Медиана времени наблюдения составила 5,5 лет (ДЗ 4,1–8,8 года). Не было выявлено статически значимых различий в БСВ между моноклональными ($n = 72$) и поликлональными ($n = 21$) случаями (БСВ $84,7 \pm 4,2\%$ и $80,9 \pm 8,9\%$ соответственно; $p \log$ -rank = 0,723). Также не зафиксировано различий между пациентами с классической транслокацией t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1 (паттерн 2F1G1R) ($n = 16$) и другими моноклональными паттернами ($n = 56$) (БСВ $87,5 \pm 8,2\%$ и $82,8 \pm 5,3\%$ соответственно; $p \log$ -rank = 0,681). Не обнаружено различий в прогнозе пациентов с наиболее часто встречающимися вторичными генетическими aberrациями (*рисунок 7*). Пациенты с прогностически неблагоприятными FISH-паттернами показали достоверно более низкую БСВ ($p < 0,0001$) и более высокую кумулятивную частоту рецидива ($p < 0,0001$) (*рисунок 8*) по сравнению с остальной группой пациентов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Среди пациентов, которым был установлен диагноз ВП-ОЛЛ с транслокацией t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1 и проведено FISH-исследование ($n = 241$), было выявлено 38 различных FISH-паттернов. Большинство пациентов (83,0%) имели 1 FISH-паттерн, они были отнесены нами к моноклональным случаям. Наиболее распространенным

Таблица 5
Ответ на индукционную терапию среди пациентов с различными генетическими изменениями, выявленными методом FISH

Table 5
Response to induction therapy in the patients with various genetic alterations identified by FISH

Показатель Parameter	Монокло- нальные случаи (n = 169) [§] Monoclonal cases (n = 169) [§]	Поликло- нальные случаи (n = 36) Polyclonal cases (n = 36)	Без дополни- тельных анома- лий (2F1G1R) (n = 32) [†] No additional aberrations (2F1G1R) (n = 32) [†]	Делеция ETV6 (полная или частичная) (n = 59) [#] Deletion of ETV6 (complete or partial) (n = 59) [#]	Дополни- тельная ко- пия RUNX1 (n = 38) [#] An additional copy of RUNX1 (n = 38) [#]	Делеция ETV6 и дополнительная копия RUNX1 (n = 17) [#] Deletion of ETV6 and an additional copy of RUNX1 (n = 17) [#]	Дополнитель- ные копии ETV6 и RUNX1 (n = 21) [#] Additional copies of ETV6 and RUNX1 (n = 21) [#]
8-й день (количество бластных клеток в периферической крови/мкл) Day 8 (absolute count of blast cells in the peripheral blood/ μ L)							
< 1000, n (%)	165 (98,8)	35 (97,2)	32 (100,0)	59 (100,0)	37 (97,3)	17 (100,0)	20 (95,2)
$\geq$ 1000, n (%)	2 (1,2)	1 (2,8)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (2,7)	0 (0,0)	1 (4,8)
15-й день (доля бластных клеток в костном мозге, %) Day 15 (percentage of blast cells in the bone marrow, %)							
< 5 (M1), n (%)	154 (92,2)	31 (86,1)	29 (90,6)	57 (96,6)	35 (92,1)	16 (94,1)	15 (71,4)
5–25 (M2), n (%)	10 (5,9)	3 (8,3)	3 (9,4)	2 (3,4)	1 (2,6)	1 (5,9)	4 (19,0)
> 25 (M3), n (%)	3 (1,9)	2 (5,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (5,3)	0 (0,0)	2 (9,6)
36-й день (доля бластных клеток в костном мозге, %) Day 36 (count of blast cells in the bone marrow, %)							
< 5%, n (%)	166 (99,4)	36 (100,0)	32 (100,0)	59 (100,0)	38 (100,0)	17 (100,0)	20 (95,2)
$\geq$ 5%, n (%)	1 (0,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (4,8)
36-й день (величина МОБ, %) [§] Day 36 (MRD, %) [§]							
< 0,01%, n (%)	115 (87,8)	24 (88,9)	22 (95,6)	40 (88,8)	27 (84,3)	12 (92,3)	11 (68,7)*
0,01–0,1%, n (%)	11 (8,4)	1 (3,7)	1 (4,4%)	4 (8,8)	3 (9,3)	1 (7,7)	2 (12,5)*
> 0,1%, n (%)	5 (3,8)	2 (7,4)	0 (0,0%)	1 (2,4)	2 (6,4)	0 (0,0)	3 (18,8)*

Примечание. [§] – 2 пациента умерли на этапе индукции ремиссии; [†] – среди моноклональных случаев; [#] – в случае наличия у пациента 2 FISH-паттернов и более для анализа выбирался тот, который встречался более чем в 50% подсчитанных ядер; [§] – ввиду отсутствия данных МОБ у некоторых пациентов размеры отдельных подгрупп отличаются от первоначально указанного объема; * – различия статистически значимы (подробнее в тексте).
Notes. [§] – 2 patients died during the induction of remission; [†] – among monoclonal cases; [#] – if a patient had 2 or more FISH patterns, the one that was found in more than 50% of the counted nuclei was selected for analysis; [§] – due to the lack of MRD data for some patients, the number of the patients in individual subgroups differs from the initial; * – statistically significant differences (see text for details).

Таблица 6
Инициальный лейкоцитоз, ответ на индукцию ремиссии пациентов с прогностически неблагоприятными FISH-паттернами и без них

Table 6
Initial leukocytosis and response to induction of remission in the patients with and without prognostically unfavorable FISH patterns

Показатель Parameter	Пациенты с неблагоприятными FISH-паттернами (n = 7) Patients with unfavorable FISH patterns (n = 7)	Пациенты без неблагоприятных FISH-паттернов (n = 196)* Patients without unfavorable FISH patterns (n = 196)*	p
Инициальный лейкоцитоз, 10 ⁹ /л Initial white blood cell count, 10 ⁹ /L			
< 30, n (%)	4 (57)	142 (72)	0,376
≥ 30, n (%)	3 (43)	54 (28)	
8-й день (количество бластных клеток в периферической крови/мкл) Day 8 (absolute count of blast cells in the peripheral blood/μL)			
< 1000, n (%)	7 (100,0)	193 (98,0)	0,741
≥ 1000, n (%)	0 (0,0)	3 (2,0)	
15-й день (доля бластных клеток в костном мозге, %) Day 15 (percentage of blast cells in the bone marrow, %)			
< 5, n (%)	7 (100,0)	175 (89,0)	0,360
≥ 5, n (%)	0 (0,0)	21 (11,0)	
36-й день (доля бластных клеток в костном мозге, %) Day 36 (percentage of blast cells in the bone marrow, %)			
< 5, n (%)	7 (100,0)	195 (99,0)	0,849
≥ 5, n (%)	0 (0,0)	1 (1,0)	
36-й день (величина МОБ, %) Day 36 (MRD, %)			
< 0,01, n (%)	4 (80,0)	135 (88,0)	0,577
≥ 0,01, n (%)	1 (20,0)	18 (12,0)	

Примечание. * – без учета 2 пациентов, погибших в индукции.
Note. * – excluding 2 patients who died during induction.

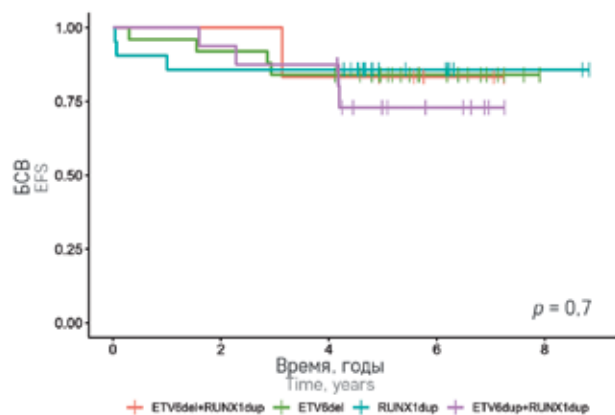
Рисунок 7

БСВ пациентов, получавших лечение по протоколу ALL-MB 2015, FISH-паттерны которых содержали 4 наиболее часто встречающиеся дополнительные генетические aberrации
БСВ пациентов с одновременной делецией *ETV6* и дупликацией *RUNX1* ($n = 6$; кривая розового цвета) составила 83,3% (95% доверительный интервал (ДИ) 27,3–97,4%), пациентов с изолированной делецией *ETV6* ($n = 25$; кривая зеленого цвета) – 84,0% (95% ДИ 62,8–93,7), пациентов с изолированной дупликацией *RUNX1* ($n = 16$; кривая голубого цвета) – 85,7% (95% ДИ 62,0–95,1), пациентов с одновременной дупликацией *ETV6* и *RUNX1* ($n = 16$; кривая фиолетового цвета) – 72,9% (95% ДИ 42,6–88,9)

Figure 7

The event-free survival (EFS) of the patients treated according to the ALL-MB 2015 protocol, with FISH patterns containing the 4 most common additional genetic aberrations

The EFS of the patients with a concurrent deletion of *ETV6* and *RUNX1* duplications ($n = 6$; pink curve) was 83.3% (95% confidence interval (CI) 27.3–97.4); the EFS of the patients with an isolated deletion of *ETV6* ($n = 25$; green curve) was 84.0% (95% CI 62.8–93.7); the EFS of the patients with an isolated duplication of *RUNX1* ($n = 16$; blue curve) was 85.7% (95% CI 62.0–95.1); the EFS of the patients with a concurrent duplication of *ETV6* and *RUNX1* ($n = 16$; purple curve) was 72.9% (95% CI 42.6–88.9)



вторичным генетическим изменением среди моноклональных и поликлональных случаев оказалась делеция *ETV6* (42,5% и 48,3% соответственно), что хорошо согласуется с ранее полученными данными, где она выявлялась [4, 15, 22]. Кроме того, к часто встречающимся aberrациям принадлежали дополнительная копия *RUNX1* (40,2%), сочетание делеции *ETV6* и дополнительной копии *RUNX1* (11,2%), а также дополнительная копия *ETV6* (2,0%). Доля пациентов с 1 FISH-паттерном, который не содержал дополнительных генетических изменений и был следствием стандартной реципрокной транслокации (2F1G1R), оказалась относительно небольшой (17,5%), что указывает на важность вторичных генетических aberrаций для опухолевой прогрессии и развития ВП-ОЛЛ с транслокацией t(12;21)(p13;q22) [1–3]. Частота выявления нами стандартной реципрокной транслокации практически не отличалась от ранее опубликованных данных W. Stams и соавт. (17,0%) [4].

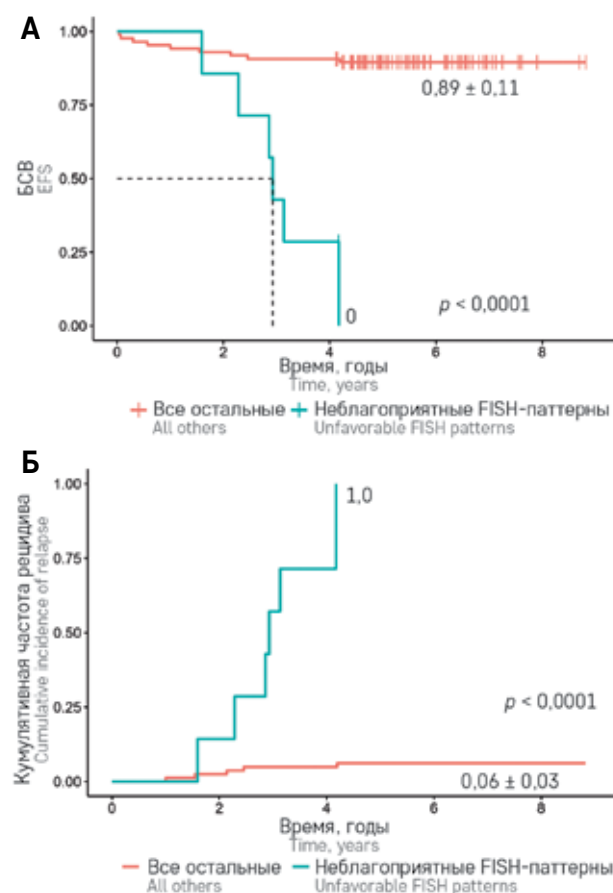
Среди поликлональных вариантов часто выявлялись следующие aberrации: стандартная реципрокная транслокация t(12;21) (36,6%), наличие

Рисунок 8

БСВ (А) и кумулятивная частота рецидивов (Б) у пациентов, включенных в исследование ALL-MB 2015 и имеющих прогностически неблагоприятные FISH-паттерны (кривые зеленого цвета), а также пациентов с остальными вариантами транслокации t(12;21) (кривые розового цвета)

Figure 8

The EFS (A) and the cumulative relapse rate (Б) of the patients included in the ALL-MB 2015 study with prognostically unfavorable FISH patterns (green curves), as well as of the patients with other variants of the t(12;21) translocation (pink curves)



дополнительной копии *RUNX1* (56,1%), дополнительный сигнал слияния (31,7%), нерасщепленная транслокация t(12;21) в сочетании с дополнительными копиями *RUNX1* (29,2%).

Сравнение паттернов на этапах первичной диагностики и диагностики рецидива показало, что только 6 (50%) из 12 оцениваемых случаев, которым было проведено FISH-исследование в обеих точках наблюдения, сохранили стабильность.

Важно подчеркнуть, что, несмотря на очень хорошие показатели выживаемости в исследуемой группе пациентов в целом, нам удалось выявить несколько FISH-паттернов на этапе инициальной диагностики, которые были ассоциированы с достоверно более высоким риском развития рецидива. В первую очередь это FISH-паттерн 2F2G2R, который встречался статистически значимо чаще среди пациентов, позднее развивших рецидив, а также еще

4 FISH-паттерна, которые не были выявлены ни у одного из пациентов, которые остаются в первой клинико-гематологической ремиссии. Три из этих 4 FISH-паттернов были поликлональными и характеризовались дополнительными копиями *RUNX1* (2F2R-3F2R) ($n = 1$), дополнительными копиями *ETV6* (1F1G2R-2F2G4R) ($n = 1$), еще в 1 случае была выявлена нерцепируемая транслокация $t(12;21)$ (1F1R-1F1G1R). Лишь 1 пациент из 3 сохранил поликлональность на момент рецидива. Кроме вышеуказанных к группе прогностически неблагоприятных был отнесен вариант 2F1Gdim1R (частичная делеция *ETV6*).

Объединение этих прогностически неблагоприятных FISH-паттернов в 1 группу позволило спрогнозировать 6 (46%) из 13 рецидивов. Важно подчеркнуть, что доля пациентов с неблагоприятными FISH-паттернами и инициальным лейкоцитозом выше $30 \times 10^9/\text{л}$ достоверно не отличалась от остальной группы пациентов. Еще одним важным наблюдением являлось то, что пациенты с прогностически неблагоприятными FISH-паттернами хорошо отвечали на индукционную терапию как по данным цитологического исследования крови и костного мозга на 8, 15 и 36-й дни терапии, так и по результатам определения МОБ на момент окончания индукционной терапии по протоколу ALL-MB 2015.

В отношении связи между прогнозом заболевания и наличием той или иной вторичной генетической аберрации существуют противоречивые данные. Так, согласно результатам W. Stams и соавт. [4], отсутствие дополнительных изменений генов *ETV6* и *RUNX1* было ассоциировано с неблагоприятным прогнозом и низкой БСВ, в то же время другие исследователи не находили подобной взаимосвязи [32, 39, 40]. Мы также не смогли подтвердить это наблюдение. В нашем исследовании лишь у 3 (6,5%) пациентов, имевших стандартный вариант транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ (2F1G1R), развился рецидив опухоли.

Неоднозначной в литературе является роль делеции *ETV6* в сочетании с транслокацией $t(12;21)$ [41]. Ряд авторов считали данную аберрацию

признаком неблагоприятного исхода для пациентов с ВП-ОЛЛ и транслокацией $t(12;21)$ [41], другие сообщали о ее благоприятном значении [4, 33, 42]. Результаты проведенного нами исследования не показали значимого влияния делеции *ETV6* на выживаемость пациентов.

Видимыми недостатками нашей работы являются ее ретроспективный характер и относительно небольшое количество прогностически неблагоприятных событий, произошедших за оцениваемый промежуток времени, равно как и малый размер группы с прогностически неблагоприятными FISH-паттернами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение следует отметить, что ВП-ОЛЛ с транслокацией $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ характеризуется большим разнообразием вторичных генетических вариантов, выявляемых с помощью метода FISH, наиболее частой из которых является делеция *ETV6*. Выявленная нами группа прогностически неблагоприятных FISH-паттернов требует дальнейшего изучения на большей когорте пациентов в целях возможной их рестратификации для более интенсивного лечения.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ORCID

Kotov I.S. ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-1533-7038>

Tsaur G.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9881-6221>

Nokhrina E.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0174-0345>

Olshanskaya Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2352-7716>

Permikin Z.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1904-4989>

Verzhbitskaya T.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9329-1828>

Riger T.O. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1324-3568>

Ponomarev A.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0150-6471>

Tsvirenev S.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0185-0050>

Kovtun O.P. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5250-7351>

Fechina L.G. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1885-3912>

Литература / References

1. Ford A.M., Bennett C.A., Price C.M., Bruin M.C., Van Wering E.R., Greaves M., et al. Fetal origins of the TEL-AML1 fusion gene in identical twins with leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 4584–8.
2. Wiemels J.L., Cazzaniga G., Daniotti M., Eden O.B., Addison G.M., Maser G., et al. Prenatal origin of acute lymphoblastic leukaemia in children. *Lancet* 1999; 354: 1499–503.
3. Lausten-Thomsen U., Madsen H.O., Vestergaard T.R., Hjalgrim H., Nersting J., Schmiegelow K. Prevalence of $t(12;21)[ETV6-RUNX1]$ -positive cells in healthy neonates. *Blood* 2011; 117: 186–9.
4. Stams W.A., Beverloo H.B., den Boer M.L., de Menezes R.X., Stigter R.L., van Drunen E., et al. Incidence of additional genetic changes in the TEL and AML1 genes in DCOG and COALL-treated $t(12;21)$ -positive pediatric ALL, and their relation with drug sensitivity and clinical outcome. *Leukemia* 2006; 20 (3): 410–6.

5. De Braekeleer E., Douet-Guilbert N., Morel F., Le Bris M.-J., Basinko A., De Braekeleer M. *ETV6* fusion genes in hematological malignancies: a review. *Leuk Res* 2012; 36 (8): 945–61.
6. De Braekeleer E., Douet-Guilbert N., Morel F., Le Bris M.-J., Férec C., De Braekeleer M. *RUNX1* translocations and fusion genes in malignant hemopathies. *Future Oncol* 2011; 7 (1): 77–91.
7. Sood R., Kamikubo Y., Liu P. Role of *RUNX1* in hematological malignancies. *Blood* 2017; 129 (15): 2070–82.
8. Fuka G., Kauer M., Kofler R., Haas O.A., Panzer-Grümayer R. The leukemia-specific fusion gene *ETV6/RUNX1* perturbs distinct key biological functions primarily by gene repression. *PLoS One* 2011; 6: 26348.
9. Sun C., Chang L., Zhu X. Pathogenesis of *ETV6/RUNX1*-positive childhood acute lymphoblastic leukemia and mechanisms underlying its relapse. *Oncotarget* 2017; 8: 35445–59.
10. Sundaresh A., Gasparoli L., Mangolini M., Edwards D., Hubank M., Brooks T., et al. Aberrant transcriptional pathways in t (12; 21) Acute Lymphoblastic Leukemia. *Klinische Pädiatrie* 2016; 228: A12.
11. Fuka G., Kantner H.P., Grausenburger R., Inthal A., Bauer E., Krapf G., et al. Silencing of *ETV6/RUNX1* abrogates PI3K/AKT/mTOR signaling and impairs reconstitution of leukemia in xenografts. *Leukemia* 2012; 26: 927–33.
12. Raynaud S.D., Dastugue N., Zoccola D., Shurtleff S.A., Mathew S., Raimondi S.C. Cytogenetic abnormalities associated with the t(12;21): a collaborative study of 169 children with t(12;21)-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1999; 13 (9): 1325–30.
13. Raynaud S., Cave H., Baens M., Bastard C., Cacheux V., Grosgeorge J., et al. The 12;21 translocation involving TEL and deletion of the other TEL allele: two frequently associated alterations found in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1996; 87: 2891–9.
14. Cave H., Cacheux V., Raynaud S., Brunie G., Bakkus M., Cochaux P., et al. *ETV6* is the target of chromosome 12p deletions in t(12;21) childhood acute lymphocytic leukemia. *Leukemia* 1997; 11: 1459–64.
15. Peter A., Heiden T., Taube T., Körner G., Seeger K. Interphase FISH on TEL/AML1 positive acute lymphoblastic leukemia relapses—analysis of clinical relevance of additional TEL and AML1 copy number changes. *Eur J Haematol* 2009; 83: 420–32.
16. Fears S., Vignon C., Bohlander S.K., Smith S., Rowley J.D., Nucifora G. Correlation between the *ETV6/CBFA2 (TEL/AML1)* fusion gene and karyotypic abnormalities in children with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 1996; 17: 127–35.
17. Sawinska M., Ladon D. Mechanism, detection and clinical significance of the reciprocal translocation t(12;21) (p12;q22) in the children suffering from acute lymphoblastic leukaemia. *Leuk Res* 2004; 28: 35–42.
18. Harada H., Harada Y. Point mutations in the *AML1/RUNX1* gene associated with myelodysplastic syndrome. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2005; 15 (3): 183–96.
19. Bhojwani D., Pei D., Sandlund J.T., Jeha S., Ribeiro R.C., Rubnitz J.E., et al. *ETV6-RUNX1*-positive childhood acute lymphoblastic leukemia: improved outcome with contemporary therapy. *Leukemia* 2012; 2 (26): 265–70.
20. Moorman A.V., Ensor H.M., Richards S.M., Chilton L., Schwab C., Kinsey S.E., et al. Prognostic effect of chromosomal abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results from the UK Medical Research Council ALL97/99 randomised trial. *Lancet Oncol* 2010; 11 (5): 429–38.
21. Borst L., Wesolowska A., Joshi T., Borup R., Nielsen F.C., Andersen M.K., et al. Genome-wide analysis of cytogenetic aberrations in *ETV6/RUNX1*-positive childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2012; 157: 476–82.
22. Bokemeyer A., Eckert C., Meyr F., Koerner G., von Stackelberg A., Ullmann R., et al. Copy number genome alterations are associated with treatment response and outcome in relapsed childhood *ETV6/RUNX1*-positive acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2014; 99: 706–14.
23. Hunger S.P., Mullighan C.G. Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. *New Engl J Med* 2015; 373 (16): 1541–52.
24. Roberts K.G., Mullighan C.G. Genomics in acute lymphoblastic leukaemia: insights and treatment implications. *Nat Rev Clin Oncol* 2015; 12: 344–57.
25. Greaves M.F., Maia A.T., Wiemels J.L., Ford A.M. Leukemia in twins: lessons in natural history. *Blood* 2003; 102: 2321.
26. Mullighan C.G., Phillips L.A., Su X., Ma J., Miller C.B., Shurtleff S.A., Downing J.R. Genomic analysis of the clonal origins of relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Science* 2008; 322: 1377–80.
27. Szczepanski T., Willemse M.J., Brinkhof B., van Wering E.R., van der Burg M., van Dongen J.J.M. Comparative analysis of *Ig* and *TCR* gene rearrangements at diagnosis and at relapse of childhood precursor-B-ALL provides improved strategies for selection of stable PCR targets for monitoring of minimal residual disease. *Blood* 2002; 99: 2315–23.
28. Kuster L., Grausenburger R., Fuka G., Kaendl U., Krapf G., Inthal A., et al. *ETV6/RUNX1*-positive relapses evolve from an ancestral clone and frequently acquire deletions of genes implicated in glucocorticoid signaling. *Blood Cancer J* 2011; 117: 2658–67.
29. van Delft F.W., Horsley S., Colman S., Anderson K., Bateman C., Kempinski H., et al. Clonal origins of relapse in *ETV6-RUNX1* acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2011; 117: 6247–54.
30. Yang J.J., Bhojwani D., Yang W., Cai X., Stocco G., Crews K., et al. Genome-wide copy number profiling reveals molecular evolution from diagnosis to relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2008; 112: 4178–83.
31. Jin Y., Wang X., Hu S., Tang J., Li B., Chai Y. Determination of *ETV6-RUNX1* genomic breakpoint by next-generation sequencing. *Cancer Med* 2016; 5: 337–51.
32. Barbany G., Andersen M.K., Autio K., Borgström G., Cavalier Franco L.,

- Golovleva I., et al. Additional aberrations of the *ETV6* and *RUNX1* genes have no prognostic impact in 229 t(12;21) (p13;q22)-positive B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemias treated according to the NOPHO-ALL-2000 protocol. *Leuk Res* 2012; 36 (7): 936–8.
33. Kutlay N.Y., Pekpak E., Altiner S., Ileri T., Nedime Vicdan A., Dinçaslan H., et al. Prognostic impact of *RUNX1* and *ETV6* gene copy number on pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with or without hyperdiploidy. *Int J Hematol* 2016; 104 (3): 368–77.
 34. Цаур Г.А., Ольшанская Ю.В., Обухова Т.Н., Судариков А.Б., Лазарева О.В., Гиндина Т.Л. Цитогенетическая и молекулярно-генетическая диагностика онкогематологических заболеваний: позиция Организации молекулярных генетиков в онкологии и онкогематологии. *Гематология и трансфузиология* 2023; 68 (1): 129–43. DOI: 10.35754/0234-5730-2023-68-1-129-143 [Tsaur G.A., Olshanskaya Yu.V., Obukhova T.N., Sudarikov A.B., Lazareva O.V., Gindina T.L. Cytogenetic and molecular genetic diagnostics in oncohematological disorders: a position paper of the Organization of Molecular Geneticists in Oncology and Oncohematology. *Russian journal of hematology and transfusiology* 2023; 68 (1): 129–43. (In Russ.)].
 35. Borkhardt A., Cazzaniga G., Viehmann S., Valsecchi M.G., Ludwig W.D., Burci L., et al. Incidence and clinical relevance of *TEL/AML1* fusion genes in children with acute lymphoblastic leukemia enrolled in the German and Italian multicenter therapy trials. *Blood* 1997; 90 (2): 571–7.
 36. Цаур Г.А., Ригер Т.О., Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Вахонина Л.В., Власова А.А. и др. Значение определения химерного транскрипта *ETV6-RUNX1* методом полимеразной цепной реакции у детей с острым лимфобластным лейкозом из В-линейных предшественников с наличием транслокации t(12;21) (p13;q22). *Онкогематология* 2017; 12 (4): 57–70. DOI: 10.17650/1818-8346-2017-12-4-57-70 [Tsaur G.A., Riger T.O., Popov A.M., Verzhbitskaya T.Yu., Vakhonina L.V., Vlasova A.A., et al. Significance of *ETV6-RUNX1* fusion gene transcript detection in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with translocation t(12;21)(p13;q22). *Oncohematology* 2017; 12 (4): 57–70. (In Russ.)].
 37. Romana S.P., Mauchauffe M., Le Coniat M., Chumakov I., Le Paslier D., Berger R., et al. The t(12;21) of acute lymphoblastic leukemia results in a tel-AML1 gene fusion. *Blood* 1995; 85 (12): 3662–70.
 38. Попов А.М., Михайлова Е.В., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Л.В., Пермикин Ж.В., Шман Т.В. и др. Определение минимальной остаточной болезни при В-линейном остром лимфобластном лейкозе методом проточной цитометрии. Рекомендации российско-белорусской кооперативной группы по диагностике острых лейкозов у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2023; 22 (3): 199–209. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-3-199-209 [Popov A.M., Mikhailova E.V., Verzhbitskaya T.Yu., Movchan L.V., Permikin Zh.V., Shman T.V., et al. Minimal residual disease monitoring in B-lineage acute lymphoblastic leukemia using flow cytometry. Guidelines of the Russian-Belarusian multicenter group for pediatric acute leukemia studies. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2023; 22 (3): 199–209. (In Russ.)].
 39. Chae H., Kim M., Lim J., Kim Y., Han K., Lee S. B lymphoblastic leukemia with *ETV6* amplification. *Cancer Genet Cytogenet* 2010; 203 (2): 284–7.
 40. Alvarez Y., Coll M.D., Ortega J.J., Bastida P., Dastugue N., Robert A., et al. Genetic abnormalities associated with the t(12;21) and their impact in the outcome of 56 patients with B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 2005; 162 (1): 21–9.
 41. Krstic A.D., Impera L., Guc-Scekic M., Lakic N., Djokic D., Slavkovic B., Tiziana Storlazzi C. A complex rearrangement involving cryptic deletion of *ETV6* and *CDKN1B* genes in a case of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 2009; 195 (2): 125–31.
 42. Ko D.H., Jeon Y., Kang H.J., Duk Park K., Young Shin H., Kyung Kim H., et al. Native *ETV6* deletions accompanied by *ETV6-RUNX1* rearrangements are associated with a favourable prognosis in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a candidate for prognostic marker. *Br J Haematol* 2011; 155 (4): 530–3.