

- monosomal karyotype in patients treated with or without allogeneic hematopoietic cell transplantation after achieving complete remission. *Haematologica*. 2012; 97(6): 915–8.
29. Middeke J.M., Beelen D., Stadler M., Gohring G., Schlegelberger B., Baumann H., et al. Outcome of high-risk acute myeloid leukemia after allogeneic hematopoietic cell transplantation: negative impact of abn(17p) and -5/5q-. *Blood*. 2012; 120(12): 2521–8.
 30. Breems D.A., van Putten W.L.J., Lowenberg B. The impact of abn(17p) and monosomy 25/del(5q) on the prognostic value of the monosomal karyotype in acute myeloid leukemia. *Blood*. 2013; 121(15): 3056–7.
 31. Yang Y.T., Hou H.A., Liu C.Y., Lin C.C., Chou W.C., Lee F.Y., et al. IPSS-R in 555 Taiwanese patients with primary MDS: Integration of monosomal karyotype can better risk-stratify the patients. *Am. J. Hematol.* 2014; 89(9): E142–9.
 32. Cluzeau T., Mounier N., Karsenti J.M., Richez V., Legros L., Gastaud L., et al. Monosomal karyotype improves IPSS-R stratification in MDS and AML patients treated with azacitidine. *Am. J. Hematol.* 2013; 88(9): 780–3.
 33. Pleyer L., Burgstaller S., Girschikofsky M., Linkesch W., Stauder R., Pfeilstocker M., et al. Azacitidine in 302 patients with WHO-defined acute myeloid leukemia: results from the Austrian Azacitidine Registry of the AGMT-Study Group. *Ann. Hematol.* 2014; 93(11): 1825–38.
 34. Della Porta M.G., Alessandrino E.P., Bacigalupo A., van Lint M.T., Malcovati L., Pascutto C., et al. Predictive factors for the outcome of allogeneic transplantation in patients with MDS stratified according to the revised IPSS-R. *Blood*. 2014; 123(15): 2333–42.
 35. Itzykson R., Thrept S., Eclache V., Quesnel B., Dreyfus F., Beyne-Rauzy O., et al. Prognostic significance of monosomal karyotype in higher risk myelodysplastic syndrome treated with azacitidine. *Leukemia*. 2011; 25(7): 1207–9.
 36. Valcarcel D., Adema V., Soler F., Ortega M., Nomdedeu B., Sanz G., et al. Complex, not monosomal, karyotype is the cytogenetic marker of poorest prognosis in patients with primary myelodysplastic syndrome. *J. Clin. Oncol.* 2013; 31(7): 916–22.
 37. Sekeres M.A., Elson P., Kalaycio M.E., Advani A.S., Copelan E.A., Faderl S., et al. Time from diagnosis to treatment initiation predicts survival in younger, but not older, acute myeloid leukemia patients. *Blood*. 2009; 113(1): 28–36.
 38. Bertoli S., Berard E., Huguet F., Huynh A., Tavitian S., Vergez F., et al. Time from diagnosis to intensive chemotherapy initiation does not adversely impact the outcome of patients with acute myeloid leukemia. *Blood*. 2013; 121(14): 2618–26.
 39. Lusk M.R., Lee J.W., Fernandez H.F., Lazarus H.M., Rowe J.M., Tallman M.S., et al. High dose daunorubicin improves survival in AML up to age 60, across all cytogenetic risk groups including patients with unfavorable cytogenetic risk, and FLT3-ITD mutant AML: updated analyses from Eastern Cooperative Oncology trial E1900. *Blood*. 2014; 124(21): Abstr. 373.
 40. Burnett A.K., Russell N., Hills R.K., Kell J., Cavenagh J., Kjeldsen L., et al. A randomised comparison of daunorubicin 90mg/m² vs 60mg/m² in AML induction: results from the UK NCRI AML17 trial in 1206 patients. *Blood*. 2014; 124(21): Abstr. 7.
 41. Bhella S.D., Atenafu E.G., Schuh A.C., Minden M.D., Schimmer A.D., Gupta V., et al. FLAG-IDA has significant activity as frontline induction or salvage therapy for patients with high risk and/or relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood*. 2014; 124(21): Abstr. 5285.
 42. Wrzesień-Kus A., Robak T., Lech-Maranda E., Wierzbowska A., Dmoszynska A., Kowal M., et al. A multicenter, open, non-comparative, phase II study of the combination of cladribine (2-chlorodeoxyadenosine), cytarabine, and G-CSF as induction therapy in refractory acute myeloid leukemia – a report of the Polish Adult Leukemia Group (PALG). *Eur. J. Haematol.* 2003; 71(3): 155–62.
 43. Seymour J.F., Dohner H., Butrym A., Wierzbowska A., Selleslag D., Jang J.H., et al. Azacitidine versus conventional care regimens in older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia (>30% bone marrow blasts) with morphologic dysplastic changes: a subgroup analysis of the AZA-AML-001 trial. *Blood*. 2014; 124(21): Abstr. 10.
 44. Zeidan A.M., Gore S.D., Komrokji R.S. Higher-risk myelodysplastic syndromes with del(5q): is sequential azacitidine-lenalidomide combination the way to go? *Expert. Rev. Hematol.* 2013; 6(3): 251–4.

Поступила 25.05.15

Принята к печати 10.05.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.155.392.8-036.11:577.21.08

Петрова Е.В.¹, Мартынкевич И.С.¹, Полушкина Л.Б.¹, Мартыненко Л.С.¹, Иванова М.П.¹,
Цыбакова Н.Ю.^{1,2}, Клеина Е.В.¹, Шабанова Е.С.^{1,2}, Чечеткин А.В.¹, Абдулкадыров К.М.¹

КЛИНИЧЕСКИЕ, ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОСТРЫХ МИЕЛОИДНЫХ ЛЕЙКОЗОВ С МУТАЦИЯМИ В ГЕНАХ *FLT3*, *SKIT*, *NRAS* И *NPM1*

¹ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» ФМБА России, 191024, г. Санкт-Петербург, Россия; ²ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, 191015, г. Санкт-Петербург, Россия

Современные методы лабораторной диагностики дают возможность выявить большое количество молекулярно-генетических маркеров, характерных для ОМЛ. Однако невысокая частота встречаемости некоторых повреждений и разрозненность данных литературы не позволяют определить их прогностический потенциал. Таким образом, актуальность работы обусловлена необходимостью выбора наиболее часто встречающихся и прогностически значимых молекулярно-генетических маркеров. Мы провели исследование частоты встречаемости и прогностического потенциала мутаций генов *NRAS*, *SKIT*, *FLT3* и *NPM1*. В работе проанализированы 200 больных ОМЛ. Цитогенетические и молекулярно-генетические исследования выполнены с помощью методов GTG дифференциальной окраски хромосом, метода ПЦР и секвенирования. Получены результаты о статистически значимом влиянии на прогноз заболевания мутаций в генах *SKIT*, *FLT3* и *NPM1*, на основании чего предложен алгоритм генетической диагностики больных ОМЛ. Подчеркнута важность детекции сочетанной встречаемости мутаций в генах, несущих разную функциональную нагрузку.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз; мутации в генах *NPM1*, *FLT3*, *SKIT*, *NRAS*; прогноз; алгоритм диагностики.

Для цитирования: Петрова Е.В., Мартынкевич И.С., Полушкина Л.Б., Мартыненко Л.С., Иванова М.П., Цыбакова Н.Ю., Клеина Е.В., Шабанова Е.С., Чечеткин А.В., Абдулкадыров К.М. Клинические, гематологические и молекулярно-генетические особенности острых миелоидных лейкозов с мутациями в генах *FLT3*, *SKIT*, *NRAS* и *NPM1*. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(2): 72–80. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-2-72-80

Petrova E.V.¹, Martynkevich I.S.¹, Polushkina L.B.¹, Martynenko L.S.¹, Ivanova M.P.¹, Tsybakova N.Yu.^{1,2}, Kleina E.V.¹, Shabanova E.S.^{1,2}, Chechetkin A.V.¹, Abdulkadyrov K.M.¹

CLINICAL, HEMATOLOGICAL AND MOLECULAR-GENETIC FEATURES OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA WITH MUTATIONS IN FLT3, CKIT, NRAS AND NPM1

¹Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St. Petersburg, 191024, Russian Federation; ²North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, St. Petersburg, 191015, Russian Federation

Current methods of the laboratory diagnostics permit to detect a large quantity of the molecular markers, typical for patients with acute myeloid leukemia. However, low frequency of some aberrations does not not to determine their prognostic value. Thus, the necessity of the selection of the most frequent and prognostically significant molecular markers specifies the actuality of the present research. We analyzed the incidence and prognostic relevance of NRAS, CKIT, FLT3 and NPM1 mutations in 200 AML patients. Cytogenetic and molecular-genetic analysis was carried out by GTG-method, PCR and sequencing. We found out, that mutations in CKIT, FLT3 and NPM1 significantly influence on the prognosis, thereby the algorithm of genetic diagnostics of AML patients was suggested. We underlined the importance of the detection of simultaneous mutations in genes with different functionality.

Key words: acute myeloid leukemia; mutations in FLT3, CKIT, NRAS and NPM1; prognosis; algorithm of diagnostics.

For citation: Petrova E.V., Martynkevich I.S., Polushkina L.B., Martynenko L.S., Ivanova M.P., Tsybakova N.Y., Kleina E.V., Shabanova E.S., Chechetkin A.V., Abdulkadyrov K.M. Clinical, hematological and molecular-genetic features of acute myeloid leukemia with mutations in FLT3, CKIT, NRAS and NPM1. *Hematology and transfusiology. Russian journal (Gematologiya i Transfusiology)*. 2016; 61(2): 72-80. (In Russian). DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-2-72-80

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study had no sponsorship.

Received 22 Dec 2015

Accepted 10 May 2016

Острые миелоидные лейкозы (ОМЛ) представляют гетерогенную группу миелоидных заболеваний с разным биологическим фенотипом. В настоящее время принципиально важным прогностическим маркером риска, который используют для определения интенсивности терапии таких больных, является кариотип [1]. Рядом исследователей доказано, что выживаемость больных с несбалансированными и множественными хромосомными аномалиями статистически значимо хуже, чем больных со сбалансированными aberrациями. Наибольшие затруднения в прогнозировании выживаемости и риска развития рецидива заболевания представляет группа больных ОМЛ с нормальным кариотипом, показатели выживаемости у которых значительно варьируют при проведении стандартной химиотерапии (ХТ) [2].

Низкая частота встречаемости хромосомных aberrаций и вместе с тем вариабельность клинического течения заболеваний с однотипными цитогенетическими поломками обуславливают целесообразность поиска новых маркеров, позволяющих распределить больных на более однородные группы риска.

Современная терапия гемобластозов заключается в проведении высокодозной ХТ и/или трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Однако в существующих протоколах выбор интенсивности постремиссионной терапии осуществляется без учета прогностических факторов. Это, с одной

стороны, необоснованно увеличивает риск токсической смерти, а с другой – повышает вероятность возникновения рецидива заболевания.

Нерешенность вопросов о сроках инициации и количестве курсов высокодозной ХТ, выборе кандидатов на ТГСК и условиях прекращения лечения определяют актуальность использования в диагностике ОМЛ высокоинформативных молекулярно-генетических методов исследования с целью поиска новых прогностических маркеров заболевания. Комплексное исследование повреждений генов делает возможной разработку эффективных таргетных препаратов, которые в совокупности со стандартной цитостатической терапией способны снижать объем опухолевых клеток и значительно увеличивать выживаемость.

Цель данного исследования – оценить роль молекулярно-генетических методов исследования в диагностике и прогнозировании течения острых миелоидных лейкозов.

Материал и методы

В исследование включены 200 больных ОМЛ (93 мужчин и 107 женщин), проходившие лечение в гематологической клинике ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России и других гематологических отделениях лечебных учреждений Санкт-Петербурга и Ленинградской области. Возраст больных составил от 18 до 86 лет (медиана 55 лет). У 190 (95%) больных верифицирован *de novo* ОМЛ, у 10 (5%) – вторичный ОМЛ

Для корреспонденции:

Петрова Екатерина Вадимовна, кандидат биол. наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» ФМБА России, 191024, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: katterina@mail.ru.

For correspondence:

Petrova Ekaterina V., BD, PhD, research associate of laboratory of molecular genetics of Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, 191024, St.Petersburg, Russian Federation, E-mail: katterina@mail.ru.

Information about authors:

Petrova E.V., <http://orcid.org/0000-0002-6052-6472>; Martynkevich I.S., <http://orcid.org/0000-0001-5958-0490>; Polushkina L.B., <http://orcid.org/0000-0003-0051-2121>; Martynenko L.S., <http://orcid.org/0000-0003-1428-3059>; Ivanova M.P., <http://orcid.org/0000-0001-5450-2944>; Tsybakova N.Yu., <http://orcid.org/0000-0002-0107-6184>; Kleina E.V., <http://orcid.org/0000-0002-8134-7422>; Shabanova E.S., <http://orcid.org/0000-0002-8701-2754>; Chechetkin A.V., <http://orcid.org/0000-0002-7569-0697>; Abdulkadyrov K.M., <http://orcid.org/0000-0002-3771-909X>.

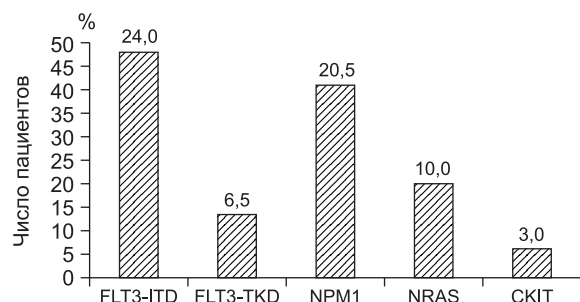


Рис. 1. Частота встречаемости мутаций (в %) в разных генах у больных ОМЛ.

из предшествующих миелодиспластических синдромов (МДС) или лимфомы. Распределение по морфологическим вариантам ОМЛ было следующим: 4 (2%) больных ОМЛ M0, 30 (15%) – M1, 66 (33%) – M2, 20 (10%) – M3, 47 (23,5%) – M4, 19 (9,5%) – M5, 1 (0,5%) – M6, у 3 (1,5%) больных вариант ОМЛ не дифференцирован. Всем больным проведены цитогенетические и молекулярно-генетические исследования.

Метод исследования хромосом. Цитогенетический анализ проводили на клетках костного мозга (КМ). Цитогенетические препараты окрашивали дифференциальным методом GTG. В каждом исследовании было проанализировано не менее 20 метафазных пластин. Интерпретацию патологии кариотипа проводили в соответствии с Международной номенклатурой дифференциально сегментированных хромосом (ISCN, 2013). По результатам цитогенетического исследования больные были разделены на четыре группы: 97 (48,5%) больных с нормальным кариотипом, 18 (9%) – с благоприятным кариотипом, 28 (14%) – с неблагоприятным кариотипом, 57 (28,5%) – с прочими хромосомными аномалиями.

Методы анализа мутационного статуса генов *CKIT*, *NRAS*, *FLT3* и *NPM1*. Материалом для проведения анализа мутационного статуса генов *CKIT*, *NRAS*, *FLT3* и *NPM1* были геномная ДНК и РНК. Выделение геномной ДНК из периферической крови (ПК) или КМ проводили с помощью метода хлороформной экстракции. Выделение РНК выполняли с использованием наборов АмплиСенс Лейкоз Квант («Интерлабсервис», Россия).

Праймеры для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) были подобраны с помощью программы Vector NTI. Анализ мутаций проводили методом ПЦР с последующей детекцией продуктов амплификации в полиакриламидном геле (6%) либо рестрикцией или секвенированием полученного фрагмента. Наличие внутренней tandemной дупликации в гене *FLT3* (*FLT3*-ITD) идентифицировали на электрофореграмме. Определение точечной мутации (замены аспарагина в 835-м положении) в гене *FLT3* (*FLT3*-TKD) проводили методом ПЦР с последующим анализом длин рестрикционных фрагментов (эндонуклеазы рестрикции *EcoRV*).

Анализ мутаций в гене *NPM1* был выполнен с помощью ПЦР с последующим разделением продуктов электрофорезом. Также проводили анализ мутаций в 8-м и 11-м экзонах гена *CKIT*. Мутацию D816V в 17-м экзоне *CKIT* определяли с помощью ПЦР с последующим проведением гидролиза рестриктазой *HinfI*. Для анализа мутаций в гене *NRAS* проводили ПЦР с дальнейшим секвенированием амплифицированного фрагмента.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью программы Statistica 10.0. Анализ общей (ОВ) и безрецидивной выживаемости (БРВ) проводили с использованием метода Каплана–Мейера. В качестве точки отсчета для вычисления ОВ и БРВ выбрали дату постановки диагноза ОМЛ. Для сравнения различий в непрерывных данных использовали непараметрический *U*-тест Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

Мутации в генах *CKIT*, *NRAS*, *FLT3* и *NPM1* были обнаружены у 105 (52,5%) из 200 обследованных пациентов. Всего выявлено 128 мутаций генов *FLT3*, *NPM1*, *NRAS* и *CKIT*: 48 (24%) – *FLT3*-ITD, 13 (6,5%) – *FLT3*-TKD, 41 (20,5%) – в гене *NPM1*, 20 (10%) – в гене *NRAS*, 6 (3%) – в гене *CKIT* (рис. 1). У 82 (41%) пациентов обнаружены одиночные мутации. У 23 (11,5%) больных мутации носили сочетанный характер: у 2 (1%) – *FLT3*-ITD и *FLT3*-TKD, у 1 (0,5%) – *FLT3*-TKD и в гене *NPM1*, у 17 (8,5%) – *FLT3*-ITD и в гене *NPM1*, у 3 (1,5%) – в генах *NPM1* и *NRAS*. Статистически значимо чаще ($p = 0,001$) мутации определялись у больных с нормальным кариотипом – у 80 (82,5%) из 97 обследованных больных и в группе промежуточного прогноза у 29 (50,9%) из 57 больных. В группе больных с неблагоприятным кариотипом мутации были выявлены только у 8 (28,6%) из 28 больных. При изучении возрастных особенностей больных ОМЛ с мутациями установлено, что наибольшее количество мутаций обнаружено у больных в возрасте от 60 до 69 лет.

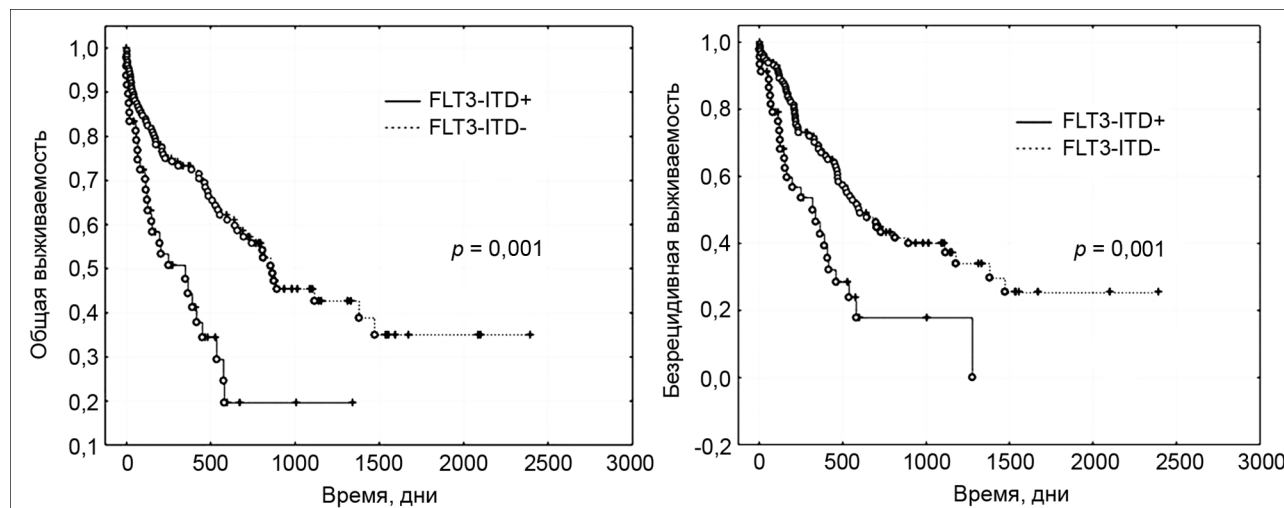
Мутации *FLT3*-ITD найдены у 48 больных, *FLT3*-TKD – у 13 из 200 больных. Больные с мутацией *FLT3*-TKD были старше больных без мутации, медиана возраста равна 61 год по сравнению с 54 годами соответственно ($p = 0,106$). Мутации в гене *FLT3* детектировались при всех морфологических вариантах (кроме M6). Мутации *FLT3*-ITD чаще обнаруживались у больных с вариантом M2 ($p = 0,040$), а мутации *FLT3*-TKD были найдены преимущественно у больных с M1-вариантом ($p = 0,001$).

Показано, что мутации в гене *FLT3* крайне редко (лишь у 5,6%) обнаруживались у больных с благоприятным кариотипом. Схожую картину наблюдали у больных с неблагоприятным кариотипом, мутации выявлены у 21,4% больных. Тем не менее мутация *FLT3*-ITD была обнаружена у 2 больных с неблагоприятной транслокацией t(6;9). Вместе с этим мутации в гене *FLT3* значительно чаще выявлялись у больных с нормальным кариотипом и промежуточным прогнозом: *FLT3*-ITD у 30 (30,9%) ($p = 0,032$) и *FLT3*-TKD у 6 (6,2%) из 97 больных.

Обнаружена высокая частота встречаемости сочетанных мутаций в генах *FLT3* и *NPM1* (у 27,9% больных; $p = 0,012$). Также у 2 больных обнаружены одновременно мутации в юкстамембранном и тирозинкиназном доменах гена *FLT3*.

В ходе нашего исследования у больных с мутациями *FLT3*-ITD и *FLT3*-TKD наблюдали статистически значимую более высокую концентрацию лейкоцитов, чем у больных без мутаций – $68,1 \times 10^9/\text{л}$ и $35,1 \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,001$); $109,8 \times 10^9/\text{л}$ и $37,3 \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,014$) соответственно. Однако только у больных с мутациями *FLT3*-ITD отмечали более высокое содержание бластных клеток в КМ (71,3%), чем у больных без мутации (60,2%; $p = 0,042$).

В результате проведенного исследования мы не обнаружили статистически значимого влияния мутаций *FLT3*-ITD и *FLT3*-TKD на достижение больными полной ремиссии (ПР). Медианы ОВ и БРВ

Рис. 2. ОВ и БРВ больных ОМЛ с мутацией и без мутации *FLT3-ITD*.

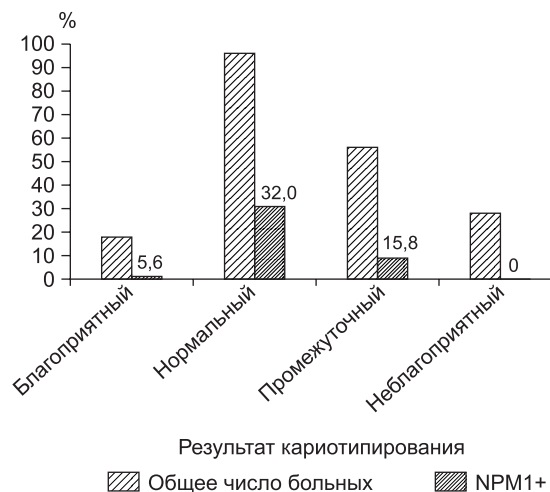
больных с *FLT3-ITD* по сравнению с больными без мутации составили: 5,4 и 12,8 мес ($p = 0,001$) и 4,9 мес и 10 мес ($p = 0,001$) соответственно (рис. 2). В случае наличия мутации *FLT3-TKD* мы не получили данные о ее влиянии на ОВ и БРВ у больных ОМЛ. Однако при сравнении ОВ и БРВ больных с мутациями *FLT3-TKD* и больных без мутации *FLT3-ITD* получены статистически значимые различия ($p = 0,037$ и $p = 0,042$ соответственно), т.е. наличие мутации *FLT3-TKD* также негативно влияло на выживаемость больных ОМЛ. При этом ОВ и БРВ больных с *FLT3-ITD* и с *FLT3-TKD* статистически значимо не различались.

Мутации в гене *NPM1* были обнаружены у 41 из 200 больных ОМЛ. При разделении больных на группы в зависимости от возраста было обнаружено, что наименьшая встречаемость мутаций в гене *NPM1* детектировали в группе больных старше 70 лет – у 2 (7,7%) из 26 больных. Чаше мутации встречались в группах 40–55 лет у 15 (23,1%) из 65 больных и 56–69 лет у 18 (27,4%) из 68 больных. Медиана возраста больных с нормальным кариотипом и мутациями в гене *NPM1* была статистически значимо ниже в сравнении с медианой возраста у больных без мутаций (55 и 59 лет соответственно; $p = 0,010$). Отмечалось увеличение количества лейкоцитов в ПК и бластных клеток в КМ у больных с мутациями в гене *NPM1* по сравнению с группой без мутаций – $50,6 \times 10^9/\text{л}$ против $40,6 \times 10^9/\text{л}$ и 66,6% против 60,5% соответственно, но различие было статистически незначимым ($p = 0,183$ и $p = 0,261$ соответственно). Мутации в гене *NPM1* встречались у больных с разными морфологическими вариантами ОМЛ кроме М3 ($p = 0,020$) и М6. Мутации часто (31,6%) детектировались у больных с М5-вариантом ОМЛ.

Наличие мутаций в гене *NPM1* было статистически значимо ассоциировано с нормальным кариотипом у больных ОМЛ ($p = 0,001$). При этом у больных с аномальным расположением нуклеофозмина не обнаружено таких хромосомных aberrаций, как $t(15;17)$ и $inv(16)$. Только у 1 больного найдена прогностически благоприятная хромосомная поломка – $t(8;21)$. Вместе с этим выявлено отсутствие мутаций

в гене *NPM1* у больных с неблагоприятным кариотипом ($p = 0,004$). У небольшого числа больных с промежуточным кариотипом с мутациями в *NPM1* в основном выявлялись одиночные aberrации (трисомии, делеции, моносомии). Данные хромосомные нарушения, возможно, имеют характер вторичных событий, возникающих в процессе развития лейкоза. Также мы обнаружили достаточно редкую встречаемость мутаций в гене *NPM1* при вторичных лейкозах – только у 1 больного (рис. 3).

Мы не обнаружили корреляции между встречаемостью мутаций в *NPM1* и *FLT3-TKD* ($p = 0,579$) и мутаций в генах *CKIT* и *NRAS* ($p = 0,521$ и $p = 0,207$ соответственно). Нами констатируется тенденция к увеличению процента больных, которые достигли ПР в группе с мутациями в *NPM1* по сравнению с остальными больными ($p = 0,186$). В группе больных старше 60 лет статистически значимо чаще ПР достигали больные с мутациями в гене *NPM1* (84,6%), чем больные без мутации (47,7%; $p = 0,019$). На рис. 4 представлены кривые ОВ и БРВ больных ОМЛ с и без мутаций в гене *NPM1*. Медиана ОВ больных с мутацией в гене *NPM1* составила 15,3 мес по сравнению с 10,1 мес у пациентов без мутации ($p = 0,002$).

Рис. 3. Распределение больных ОМЛ с мутациями в *NPM1* в зависимости от варианта кариотипа.

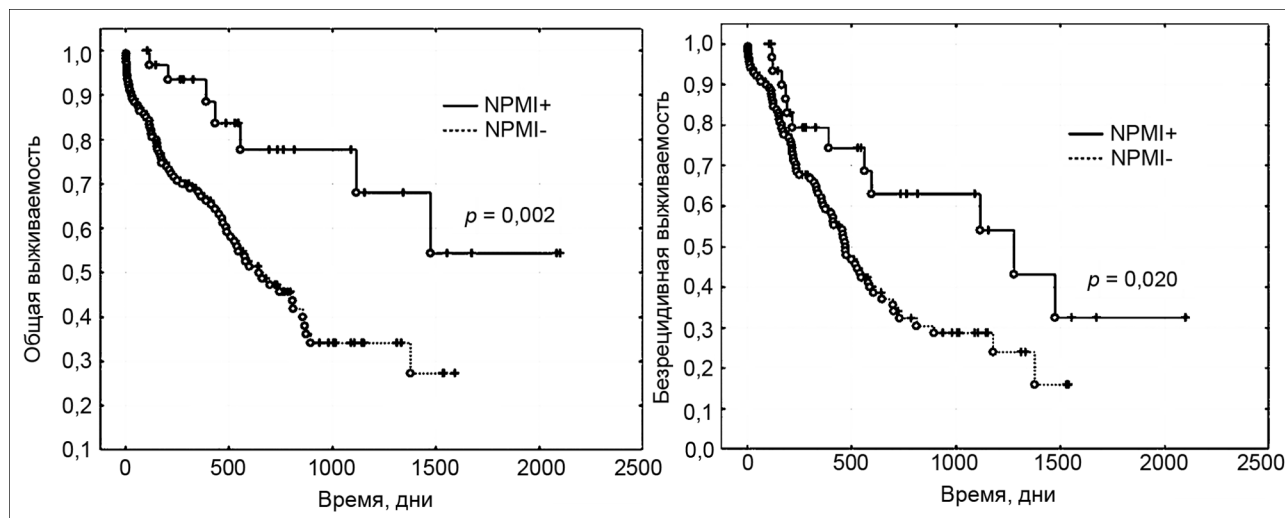


Рис. 4. ОВ и БРВ больных ОМЛ с наличием и без мутаций в гене *NPM1*.

БРВ также оказалась статистически значимо длиннее у больных с мутациями в гене *NPM1* (10,1 мес), чем у больных без мутации (8,8 мес); $p = 0,020$. Такую же закономерность наблюдали в группе больных с нормальным кариотипом.

В проведенном исследовании продемонстрирована высокая частота встречаемости сочетанных мутаций в генах *NPM1* и *FLT3* (*FLT3*-ITD). В связи с этим проанализировали ОВ и БРВ в четырех группах больных: *NPM1*⁺/*FLT3*⁻, *NPM1*⁻/*FLT3*⁻, *NPM1*⁺/*FLT3*⁺, *NPM1*⁻/*FLT3*⁺. При разделении пациентов на группы в зависимости от мутационного статуса генов *NPM1* и *FLT3* установлено, что больные с одиночными мутациями в гене *NPM1* показывали лучшую ОВ и БРВ, а с мутациями в *FLT3*-ITD – худшую ОВ и БРВ по сравнению с группой без мутаций ($p = 0,012$ и $p = 0,017$; $p = 0,001$ и $p = 0,001$ соответственно). В то же время больные, у которых детектировались сочетано *FLT3*-ITD и *NPM1*⁺, не различались по прогнозу от пациентов без мутаций ($p = 0,398$) (рис. 5).

Мутации в гене *NRAS* были обнаружены у 10% больных ОМЛ. Чаще всего мутации встречались в 12-м кодоне (G12D) – у 13 (65%) из 20 больных. В 13-м кодоне (G13D, G13V, G13C) мутации выяв-

лены у 6 (30%), в 61-м кодоне – у 1 (5%) больного (Q61R). У всех больных мутации в гене *NRAS* были обнаружены в гетерозиготе. Распределение больных ОМЛ с мутациями в гене *NRAS* в зависимости от морфологического варианта показало, что мутации чаще встречались у больных с М2, а также М4 вариантами ОМЛ. В основном мутации обнаруживались у больных с *de novo* ОМЛ – у 19 (10%) из 190 пациентов. Медиана возраста больных с мутациями в гене *NRAS* составила 53 года, в то время как медиана возраста больных без мутации в этом гене была 55 лет ($p = 0,192$). Среднее количество лейкоцитов в ПК в дебюте заболевания у больных с мутациями в гене *NRAS* было незначительно выше ($p = 0,128$), чем у больных без мутаций ($46,4 \times 10^9/\text{л}$ и $42,4 \times 10^9/\text{л}$ соответственно). Среднее количество бластных клеток в КМ в дебюте заболевания у больных с мутацией было выше ($p = 0,096$), чем у больных без мутации (72 и 60,8% соответственно).

При сравнительном анализе встречаемости мутаций в гене *NRAS* в зависимости от варианта кариотипа мы обнаружили их ассоциацию с благоприятными хромосомными поломками у больных ОМЛ – у 6 (33,3%) из 18 больных ($p = 0,001$), в частности

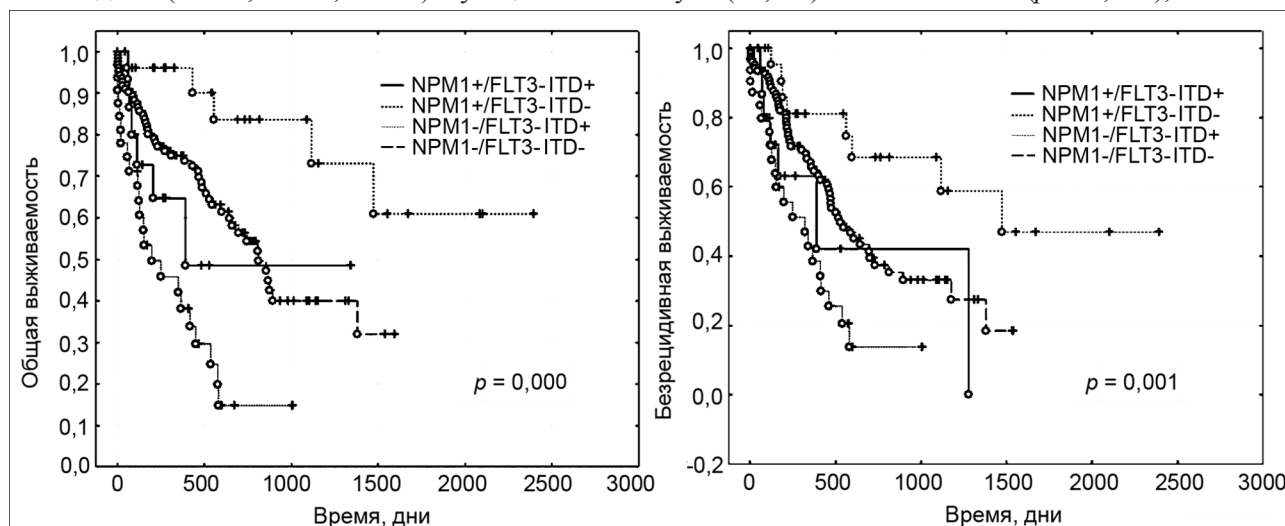
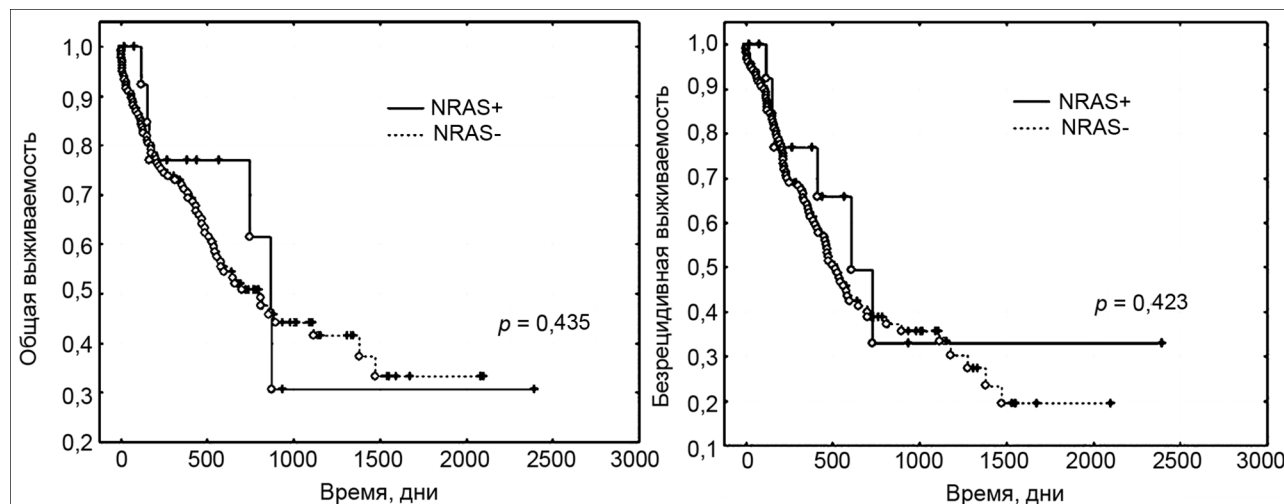


Рис. 5. ОВ и БРВ больных ОМЛ с разным мутационным статусом генов *NPM1* и *FLT3*.

Рис. 6. ОБ и БРВ больных ОМЛ с наличием и без мутаций в *NRAS*.

у больных с *inv(16)*. Половина из 20 больных с мутациями в гене *NRAS* имела нормальный кариотип. Также мутации в *NRAS* были найдены у 4 (7%) из 57 больных с промежуточным прогнозом, у которых детектировали хромосомные поломки, такие как трисомии 8-й и 21-й хромосом, а также *t(10;12)*. У больных с *t(15;17)* и неблагоприятными хромосомными aberrациями ни у одного больного не было обнаружено мутаций в гене *NRAS*, но данная закономерность не была статистически значимой ($p = 0,151$ и $p = 0,057$ соответственно), возможно из-за небольшой исследуемой группы.

Число вышедших в ПР, ОБ и БРВ больных с мутациями и без мутации в *NRAS*, значительно не различались (рис. 6). В группе больных с благоприятным кариотипом, у которых мутации в гене *NRAS* встречались статистически значимо чаще ($p = 0,001$), обнаружена тенденция к ухудшению ОБ и БРВ у больных с мутациями в *NRAS* по сравнению с остальными больными ($p = 0,214$ и $p = 0,160$ соответственно).

В нашем исследовании частота встречаемости мутаций в гене *SKIT* во всей исследуемой группе составила 3%. Мы не выявили статистически значимых различий в количестве лейкоцитов ($40,7 \times 10^9/\text{л}$ и $42,8 \times 10^9/\text{л}$ соответственно) и тромбоцитов ($86,7 \times 10^9/\text{л}$ и $70,4 \times 10^9/\text{л}$ соответственно) в ПК, а также бластных клеток (70 и 61,8% соответственно) в КМ у больных с и без мутаций в *SKIT*. Также не найдены статистически значимые различия в этих группах в отношении возраста или пола больных. Следует отметить, что статистически значимой оказалась высокая встречаемость D816V у больных со вторичными лейкозами (из МДС), чем у больных с *de novo* ОМЛ ($p = 0,001$). Также было детектировано, что мутации в гене *SKIT* значительно чаще встречаются – у 25% больных из группы благоприятного прогноза с *t(8;21)* ($p = 0,001$) (рис. 7).

Медиана ОБ больных с мутациями D816V составила 7,8 мес и 10,2 мес у больных без мутации ($p = 0,254$). При этом наличие мутации в 816-м кодоне гена *SKIT* приводит к значительному ухудшению показателей БРВ по сравнению с больными без мутации – 6,7 и 8,9 мес соответственно ($p = 0,041$) (рис. 8).

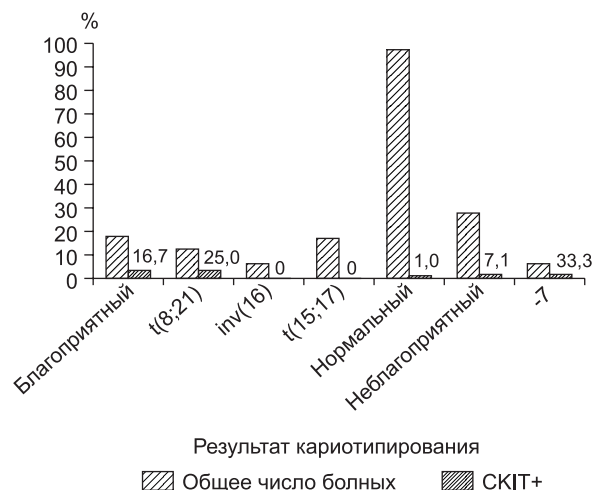
В группе больных с *t(8;21)* нами показана тенденция к уменьшению длительности ОБ и БРВ у больных с мутациями D816V по сравнению с больными без мутации ($p = 0,224$ и $p = 0,162$ соответственно).

По результатам проведенных исследований предложен алгоритм генетической диагностики больных ОМЛ (рис. 9).

Обсуждение

Современная диагностика ОМЛ определяет прогноз течения заболевания и выбор направленной терапии. Повышенный интерес в настоящее время вызывает исследование мутационного статуса генов с высокой частотой встречаемости при ОМЛ, а также со значительным прогностическим потенциалом.

FLT3 играет важную роль в формировании патогенеза острых лейкозов, а наличие мутаций и высокая экспрессия данного гена существенно влияют на прогноз заболевания. Вместе с этим показана [3–5] высокая частота встречаемости мутаций в гене *FLT3*: *FLT3*-ITD у 15–45%, *FLT3*-TKD у 5–10% больных. В результате нашего исследования мутации *FLT3*-ITD обнаружены у 24% больных, *FLT3*-TKD – у 6,5%. Наиболее значимой является ассоциация мутаций в гене *FLT3* с хромосомными перестройками

Рис. 7. Распределение больных ОМЛ с мутациями в *SKIT* в зависимости от варианта кариотипа.

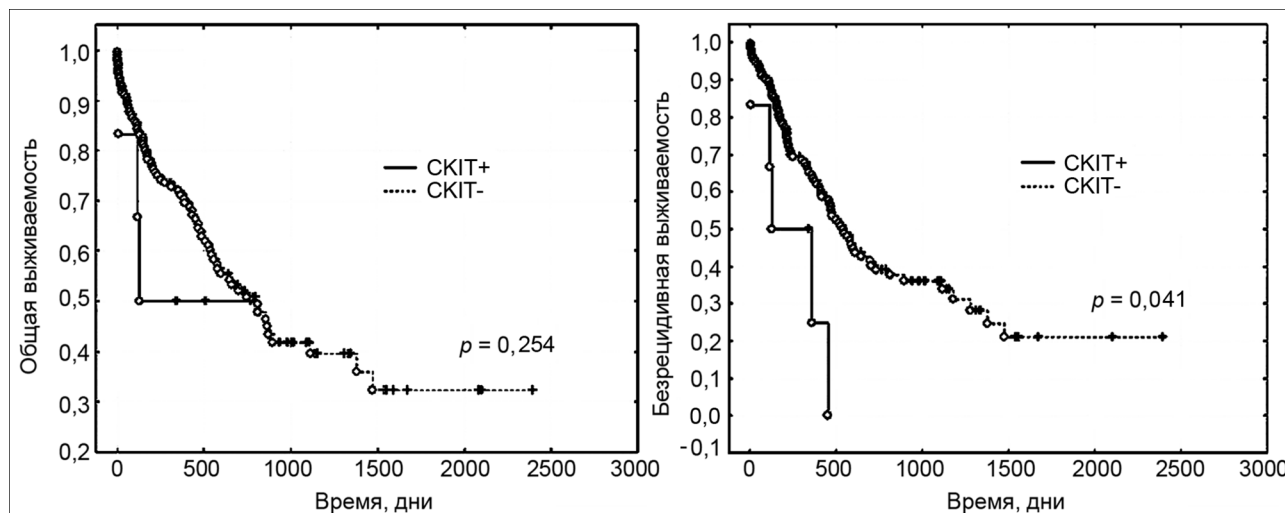


Рис. 8. ОВ и БРВ больных ОМЛ с наличием и без мутаций в *SKIT*.

и мутациями в других генах. В нашей работе мутации в гене *FLT3* чаще обнаруживались у больных с нормальным кариотипом и промежуточным прогнозом. У пациентов с *CBF*-ОМЛ данные мутации детектировались достаточно редко, как и у больных с неблагоприятным прогнозом. Была отмечена высокая частота встречаемости сочетанных мутаций в генах *FLT3* и *NPM1*. Это подтверждает теорию о том, что для запуска лейкогенеза недостаточно наличия одной аберрации. Данный процесс является многоступенчатым и затрагивает как минимум два гена. Эти мутации относятся к различным классам (I и II) и оба гена отвечают за активацию разных сигнальных путей в клетке. Исследование с использованием мышиных моделей подтверждает данный факт [6]. С другой стороны, мутации в гене *FLT3* не обнаруживались в сочетании с мутациями в генах *NRAS* и *SKIT*. Есть предположения о невозможности их сочетанного присутствия в одной клетке из-за принадлежности к мутациям одного (I) класса, так как продукты всех трех генов выполняют в клетке идентичные функции.

Мутации *FLT3*-ITD часто ассоциируют со значительным повышением концентрации лейкоцитов в ПК и высоким процентом бластных клеток в КМ у больных ОМЛ. Данные относительно мутации *FLT3*-TKD остаются противоречивыми, так как некоторые авторы не обнаруживают подобной закономерности [7, 8]. Наличие лейкоцитоза у больных с мутациями в гене *FLT3* можно объяснить тем, что мутации ведут к конститутивной активации рецептора, вызывающей бесконтрольную пролиферацию, блокирование

апоптоза и дифференцировки лейкемических клеток. Данная аномальная активация тирозинкиназы *FLT3* приводит к запуску различных сигнальных путей в клетке, включая регуляцию MAP-киназ, транскрипционного фактора STAT5, Akt-киназ, отвечающих за клеточное деление и способность к выживанию.

На сегодняшний день многие исследовательские лаборатории представили данные о высокой прогностической значимости мутаций в гене *FLT3* [7–9]. Они показали, что наличие мутации *FLT3*-ITD является неблагоприятным прогностическим фактором у больных ОМЛ, влияющим на ОВ, БРВ и бессобытийную выживаемость (БСВ), особенно у больных с промежуточным прогнозом по результатам кариотипирования [10–12]. Нами обнаружено статистически значимое негативное влияние наличия мутации *FLT3*-ITD на ОВ и БРВ по сравнению с остальными пациентами. Даже у пациентов из неблагоприятной возрастной группы старше 65 лет была детектирована тенденция к ухудшению прогноза у пациентов с мутацией. Это дает основание считать, что наличие мутации *FLT3*-ITD является независимым негативным прогностическим маркером. Что касается мутации *FLT3*-TKD, только при сравнении ОВ и БРВ больных с мутациями *FLT3*-TKD и пациентов без мутации *FLT3*-ITD, мы получили отрицательное влияние наличия данной мутации. Таким образом, высокая частота встречаемости и негативное прогностическое влияние мутаций в гене *FLT3* (как *FLT3*-ITD, так и *FLT3*-TKD) у больных ОМЛ, позволили включить их в алгоритм лабораторной диагностики больных ОМЛ.



Рис. 9. Алгоритм генетической диагностики больных ОМЛ.

Нуклеофозмин (*NPM1*) вовлечен в разные хромосомные транслокации и играет важную роль в патогенезе лейкозов. Мутации в гене *NPM1* являются одними из наиболее часто встречающихся при ОМЛ [13]. В нашем исследовании доля больных с мутациями в гене *NPM1* составило 20,5%. Было показано, что инсерции в гене *NPM1* характерны для больных с *de novo* ОМЛ без хромосомных aberrаций. По данным литературы [14], значительно чаще мутации *NPM1* встречаются в сочетании с мутациями *FLT3-ITD*, что подтверждает теорию «двух событий» в развитии лейкозогенеза.

Во многих исследованиях показана ассоциация мутаций в гене *NPM1* с более высоким уровнем ПР в группе больных с нормальным кариотипом по сравнению с больными с нормальным кариотипом без мутации. Предполагают [15, 16], что присутствие в лейкозных клетках цитоплазматического *NPM1* обеспечивает повышенную чувствительность этих клеток к воздействию ХТ за счет связывания и инактивации транскрипционного фактора NF-κB. Нами также констатирована тенденция к увеличению процента больных, которые достигли ПР в группе с мутациями в *NPM1* по сравнению с остальными больными. Идентичные результаты получены и у больных с нормальным кариотипом. При анализе ОБ и БРВ в общей обследуемой группе и в группе больных с нормальным кариотипом было обнаружено, что у пациентов с мутациями в гене нуклеофозмина прогноз оказался статистически значимо лучше, чем у больных без мутации.

Полученные данные демонстрировали, что мутации в гене *NPM1* часто встречаются в группе больных с нормальным кариотипом, гетерогенной скоростью ответа на проводимую терапию и длительности ОБ и БРВ, и имеющей промежуточный прогноз течения заболевания. Таким образом, мутационный статус гена *NPM1* может служить важным прогностическим маркером для таких пациентов. В то же время наличие мутации в гене *FLT3* может негативно влиять на прогноз у пациентов с мутациями нуклеофозмина. Эти данные обуславливают целесообразность включения детекции мутационного статуса генов *NPM1* и *FLT3* в современные алгоритмы диагностики ОМЛ.

Семейство протоонкогенов *RAS* играет важную роль в регуляции таких внутриклеточных процессов, как пролиферация, дифференцировка и апоптоз [17]. Несмотря на то что мутации в гене *NRAS* у больных ОМЛ были впервые выявлены в 1987 г. [18], дискуссии о прогностическом влиянии данных мутаций продолжают до сих пор. Полученные нами результаты не выявили значимого влияния наличия мутаций в *NRAS* на прогноз течения заболевания. Так, число больных, вышедших в ПР, ОБ и БРВ пациентов с мутациями в *NRAS* и без мутации, значительно не отличались. В исследовании U. Bacher и соавт. [19] также не найдено статистически значимых различий при оценке прогноза заболевания у больных с и без мутаций в гене *NRAS*. Однако они обнаружили тенденцию к улучшению прогноза у больных с нормальным кариотипом и мутациями в гене *NRAS* по

сравнению с остальными больными. H. Kiyoi и соавт. [20] показали негативное влияние мутаций в *NRAS* в группе больных с благоприятным кариотипом. M. Krauth и соавт. [21] выделили в своей работе группу больных с t(8;21), у которых изучали влияние мутаций в различных генах на прогноз течения заболевания. В результате они не обнаружили статистически значимых различий по длительности ОБ в группе с мутациями в *NRAS* и без них. Таким образом, основную сложность в корректной оценке прогностического потенциала мутаций в *NRAS* составляет малочисленность исследований и относительно небольшая частота встречаемости данных мутаций. Противоречивые данные о прогностическом значении мутаций в *NRAS* не позволяют на сегодняшний день включить этот маркер в стандартный алгоритм обследования больных ОМЛ.

В нашем исследовании мутация тирозинкиназного домена *CKIT* (D816V) найдена у 6 из 200 больных ОМЛ. Данная мутация является наиболее часто встречаемой по сравнению с мутациями 8-го и 11-го экзонов. В редких случаях исследователи обнаруживают вместе мутации в 8-м и 17-м экзонах *CKIT* [22]. Обнаружение мутаций в гене *CKIT* ассоциируется с благоприятным кариотипом, а именно с *CBF*-лейкозами. В большинстве исследований частота встречаемости мутаций в *CKIT* у больных *CBF*-лейкозами составляет около 25% [23]. Однако в некоторых исследованиях это значение доходит до 50% у больных с t(8;21) [24]. Этот факт дает основание предположить, что кооперация данных нарушений лежит в основе образования лейкозного клона. Данные о том, что у некоторых больных в ПР еще детектируется t(8;21), а мутации в гене *CKIT* уже не обнаруживаются, говорят, что образование *RUNX1-RUNX1T1* является первичным событием в процессе лейкозогенеза, но имеет крайне ограниченный пролиферативный потенциал *in vivo*. Поэтому требуется возникновение второго события – мутации в гене *CKIT*.

Выявление транслокации t(8;21) у больных ОМЛ ассоциируется с благоприятным прогнозом течения заболевания, высоким уровнем ремиссий и длительной медианой выживаемости. Однако присутствие в этой группе мутаций в *CKIT* может существенно изменить прогноз. В некоторых странах диагностику мутаций в *CKIT* уже внесли в стандартный алгоритм обследования больных ОМЛ и есть рекомендации по проведению ТГСК для больных с *CBF*-лейкозами и мутациями в *CKIT* в период первой ПР [25]. По данным нашего исследования, обнаружение мутаций в гене *CKIT* у больных ОМЛ с t(8;21) является частым событием. Наличие мутаций в гене *CKIT* у больных ОМЛ с t(8;21) делает ее гетерогенной в отношении длительности ремиссий и ответа на проводимую терапию. Наличие мутации D816V в гене *CKIT* ассоциируется с высоким риском развития рецидива. Это свидетельствует о важности включения данного маркера в стандартный алгоритм диагностики больных ОМЛ.

Таким образом, из четырех изученных генов, мутации чаще обнаруживали в гене *FLT3*. Мутации в

генах *FLT3* и *NPM1* чаще детектировались у больных ОМЛ с нормальным кариотипом, а в генах *СКIT* и *NRAS* – у больных с благоприятным кариотипом. Мутация *FLT3*-ITD ассоциируется с повышенным содержанием лейкоцитов в ПК и бластных клеток в КМ в дебюте ОМЛ, а также отрицательным влиянием на выживаемость больного и высоким риском развития рецидива. Мутация *FLT3*-TKD статистически значимо снижает ОБ и БРВ у больных ОМЛ по сравнению с больными с генотипом *FLT3*-ITD⁺. Инсерции в гене *NPM1* у больных ОМЛ являются благоприятным фактором, коррелирующим с длительной БРВ у всех больных, за исключением больных с генотипом *FLT3*-ITD⁺/*NPM1*⁺. Мутации в гене *СКIT* чаще встречаются у больных с t(8;21) и связаны с высоким риском рецидива заболевания у больных ОМЛ. Мутации в гене *NRAS* статистически значимо не влияют на прогноз у больных ОМЛ. Значительный прогностический потенциал генов *СКIT*, *NPM1* и *FLT3* позволяет рекомендовать проведение скрининга их мутационного статуса наряду с изучением хромосомных aberrаций у всех больных ОМЛ при первичной диагностике независимо от результатов других исследований. Поиск сочетанной встречаемости мутаций в генах, несущих разную функциональную нагрузку, необходим для установления наиболее точного прогноза течения заболевания у больных ОМЛ.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Grimwade D., Hills R.K., Moorman A.V., Walker H., Chatters S., Goldstone A.H., et al. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trial. *Blood*. 2010; 116(3): 354–65.
- Renneville A., Roumier C., Biggio V., Nibourel O., Boissel N., Fenaux P., et al. Cooperating gene mutations in acute myeloid leukemia: a review of the literature. *Leukemia*. 2008; 22(5): 915–31.
- Abu-Duhier F., Goodeve A., Wilson G., Care R., Peake I., Reilly J. Identification of novel FLT3 Asp835 mutations in adult acute myeloid leukaemia. *Br. J. Haematol.* 2001; 113(4): 983–8.
- Chan P.M. Differential signaling of Flt3 activating mutations in acute myeloid leukemia: a working model. *Protein Cell*. 2011; 2(2): 108–15. doi:10.1007/s13238-011-1020-7.
- Georgiou G., Karali V., Zouvelou C., Kyriakou E., Dimou M., Chrisochou S., et al. Serial determination of FLT3 mutations in myelodysplastic syndrome patients at diagnosis, follow up or acute myeloid leukaemia transformation: incidence and their prognostic significance. *Br. J. Haematol.* 2006; 134(3): 302–6.
- Rau R., Magoon D., Greenblatt S., Li L., Annesley C., Duffield A., et al. NPMc+ cooperates with Flt3/ITD mutations to cause acute leukemia recapitulating human disease. *Exp. Hematol.* 2014; 42(2): 101–13.
- Fröhling S., Schlenk R., Breitnick J., Benner A., Kreitmeier S., Tobis K., et al. AML Study Group Ulm. Acute myeloid leukemia. Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML Study Group Ulm. *Blood*. 2002; 100(13): 4372–80.
- Stirewalt D., Kopecky K., Meshinchi S., Appelbaum F., Slovak M., Willman C., et al. FLT3, RAS, and TP53 mutations in elderly patients with acute myeloid leukemia. *Blood*. 2001; 97(11): 3589–95.
- Port M., Böttcher M., Thol F., Ganser A., Schlenk R., Wasem J., et al. Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication, nucleophosmin 1, and CEBPA gene mutations for acute myeloid leukemia patients with normal karyotype and younger than 60 years: a systematic review and meta-analysis. *Ann. Hematol.* 2014; 93(8): 1279–86.
- Koh Y., Park J., Ahn K., Kim I., Bang S., Lee J., et al. Different clinical importance of FLT3 internal tandem duplications in AML according to FAB classification: possible existence of distinct leukemogenesis involving monocyte differentiation pathway. *Ann. Hematol.* 2009; 88(11): 1089–97. doi: 10.1007/s00277-009-0733-7.
- Levis M. FLT3 mutations in acute myeloid leukemia: what is the best approach in 2013? *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*. 2013; 2013: 220–6. doi: 10.1182/asheducation-2013.1.220.
- Meshinchi S., Appelbaum F. Structural and functional alterations of FLT3 in acute myeloid leukemia. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15(13): 4263–9.
- Falini B., Nicoletti I., Martelli M., Mecucci C. Acute myeloid leukemia carrying cytoplasmic/mutated nucleophosmin (NPMc+ AML): biologic and clinical features. *Blood*. 2007; 109(3): 874–85.
- Falini B., Martelli M.P., Bolli N., Sportoletti P., Liso A., Tacci E., Haferlach T. Acute myeloid leukemia with mutated nucleophosmin (NPM1): is it a distinct entity? *Blood*. 2011; 117(4): 1109–20. doi: 10.1182/blood-2010-08-299990.
- Cilloni D., Messa F., Rosso V., Arruga F., Defilippi I., Carturan S., et al. Increase sensitivity to chemotherapeutic agents and cytoplasmic interaction between NPM leukemic mutant and NF-kappaB in AML carrying NPM1 mutations. *Leukemia*. 2008; 22(6): 1234–40. doi: 10.1038/leu.2008.68.
- Federici L., Falini B. Nucleophosmin mutations in acute myeloid leukemia: A tale of protein unfolding and mislocalization. *Protein Sci.* 2013; 22(5): 545–56.
- Johnson D.B., Smalley K.S., Sosman J.A. Molecular pathways: targeting NRAS in melanoma and acute myelogenous leukemia. *Clin. Cancer Res.* 2014; 20(16): 4186–92.
- Bos J.L., Verlaan-de Vries M., van der Eb A.J., Janssen J.W., Delwel R., Löwenberg B., Colly L.P. Mutations in N-Ras predominate in acute myeloid leukemia. *Blood*. 1987; 69: 1237–41.
- Bacher U., Haferlach T., Schoch C., Kern W., Schnittger S. Implications of NRAS mutations in AML: a study of 2502 patients. *Blood*. 2006; 107(10): 3847–53.
- Kiyoi H., Naoe T., Nakano Y., Yokota S., Minami S., Miyawaki S., et al. Prognostic implication of FLT3 and N-RAS gene mutations in acute myeloid leukemia. *Blood*. 1999; 93(9): 3074–80.
- Krauth M.T., Eder C., Alpermann T., Bacher U., Nadarajah N., Kern W., et al. High number of additional genetic lesions in acute myeloid leukemia with t(8;21)/RUNX1-RUNX1T1: frequency and impact on clinical outcome. *Leukemia*. 2014; 28(7): 1449–58.
- Care R.S., Valk P.J., Goodeve A.C., Abu-Duhier F.M., Geertsma-Kleinekoort W.M., Wilson G.A., et al. Incidence and prognosis of CKIT and FLT3 mutations in core binding factor (CBF) acute myeloid leukaemias. *Br. J. Haematol.* 2003; 121(5): 775–7.
- Boissel N., Leroy H., Brethon B., Philippe N., de Botton S., Auvrignon A., et al. Incidence and prognostic impact of c-kit, FLT3, and Ras gene mutations in core binding factor acute myeloid leukemia (CBF-AML). *Leukemia*. 2006; 20(6): 965–70.
- Wang Y.Y., Zhou G.B., Yin T., Chen B., Shi J.Y., Liang W.X., et al. AML1-ETO and C-KIT mutation overexpression in t(8;21) leukemia: Implication in stepwise leukemogenesis and response to Gleevec. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2005; 102(4): 1104–9.
- Machado L.E., Pinho J.R., Sitnik R., Muto N.H., Velloso E.D., Petroni R.C., Campregher P.V. The detection of KIT mutations in acute myeloid leukemia. *Einstein (Sao Paulo)*. 2012; 10(3): 286–91.

Поступила 22.12.15

Принята к печати 10.05.16