

РОЛЬ МУТАЦИЙ ГЕНА *IKZF1* ПРИ В-КЛЕТОЧНОМ ОСТРОМ ЛИМФОБЛАСТНОМ ЛЕЙКОЗЕ У ВЗРОСЛЫХ БОЛЬНЫХ, ПОЛУЧАЮЩИХ ЛЕЧЕНИЕ ПО ПРОТОКОЛАМ РОССИЙСКОГО МНОГОЦЕНТРОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

The role of *IKZF1* deletions in adult Ph-negative and Ph-positive B-cell acute lymphoblastic leukemia patients treated in Russian Acute Lymphoblastic Leukemia study

Басхаева Г. А., Паровичникова Е. Н., Бидерман Б. В., Гаврилина О. А., Давыдова Ю. О., Дроков М. Ю., Зарубина К. И., Лукьянова И. А., Троицкая В. В., Соколов А. Н., Пискунова И. С., Степанова Е. А., Смирнова С. Ю., Судариков А. Б., Гальцева И. В., Обухова Т. Н., Савченко В. Г.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения России, Москва, Российская Федерация

Baskhaeva G. A., Parovichnikova E. N., Biderman B. V., Gavrilina O. A., Davidova Yu. O., Drovkov M. Yu., Zarubina K. I., Lukyanova I. A., Troitskaya V. V., Sokolov A. N., Piskunova I. S., Stepanova E. A., Smirnova S. A., Sudarikov A. B., Galtseva I. V., Obukhova T. N., Savchenko V. G.

National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

Цель исследования — изучить роль мутаций гена *IKZF1* при В-клеточном остром лимфобластном лейкозе (В-ОЛЛ) у взрослых больных, получающих лечение по протоколам российского многоцентрового исследования. В исследование были включены 67 взрослых больных, из них 49 больных Ph-негативным и 18 — Ph-позитивным В-ОЛЛ. В первой группе лечение проводили по протоколам ОЛЛ-2009, ОЛЛ-2016, во второй — по протоколам ОЛЛ-2009 и ОЛЛ-2012 в сочетании с ингибиторами тирозинкиназ (ИТК). Молекулярный анализ внутригенных делеций гена *IKZF1* проводили методом мультиплексной флуоресцентной полимеразной цепной реакции. Внутригенные делеции *IKZF1* были обнаружены у 10 (56%) больных Ph-позитивным В-ОЛЛ, что было статистически значимо чаще, чем при Ph-негативном В-ОЛЛ, где мутации этого гена были диагностированы у 9 (18%) больных ($p = 0,0074$). При анализе демографических и клиничко-лабораторных показателей (возраст, пол, начальный лейкоцитоз более $30 \times 10^9/\text{л}$, уровень ЛДГ более 750 ед/л, спленомегалия, нейролейкемия) в представленных группах корреляции с наличием делеции гена *IKZF1* не выявлено. У 44% больных Ph-негативным В-ОЛЛ с делецией *IKZF1*

The aim of the study was to investigate the role of *IKZF1* deletions in adult patients with Ph-negative (Ph-) and Ph-positive (Ph+) B-cell acute lymphoblastic leukemia (ALL) who participated in the Russian Acute Lymphoblastic Leukemia (RALL) multicenter study. Our study included 67 patients with newly diagnosed B-cell ALL (49 Ph- and 18 Ph+ cases). Patients with Ph- B-cell ALL were treated according to RALL-2009 and RALL-2016 protocols and were followed up for a median of 18.1 months (range 1.5–93.4 months). Patients with Ph+ B-cell ALL were treated according to RALL-2009 and RALL-2012 protocols with addition of tyrosine kinase inhibitors and were followed up for a median of 21.2 months (range 3.53–91.77 months). Intragenic deletions of *IKZF1* were detected using breakpoint-specific fluorescent multiplex polymerase chain reaction. They were more frequently found in patients with Ph+ ALL ($n = 10$, 56%) than in patients with Ph- ALL ($n = 9$, 18%; $p = 0.0074$). No statistically significant association between *IKZF1* deletions and age, sex, initial WCC of over $30 \times 10^9/\text{L}$, LDH above 750 U/mL, splenomegaly or neuroleukemia was observed. Notably, an expression of both myeloid antigens (MyAg) CD13 and CD33 was detected in almost half ($n = 4,44\%$) of the Ph- ALL patients with *IKZF1* deletions

в дебюте заболевания наблюдалась коэкспрессия двух миелоидных антигенов: CD13 и CD33 на бластных клетках, в то время как у больных без делеции оба маркера одновременно были выявлены только у 2,5% больных ($p = 0,0027$). В анализируемых группах больных различий в долгосрочных результатах терапии в зависимости от наличия мутаций *IKZF1* не обнаружено. Однако у больных Ph-негативным В-ОЛЛ с мутациями гена *IKZF1* наблюдалась персистенция минимальной остаточной болезни (МОБ) на 2-й и 4-й месяц лечения, а также ее более высокие значения, чем у больных без мутаций. Таким образом, внутригенные делеции *IKZF1* не влияют на долгосрочные результаты терапии у больных Ph-негативным и Ph-позитивным В-ОЛЛ при применении протоколов российского многоцентрового исследования. Показано, что при наличии мутаций у больных Ph-негативным В-ОЛЛ наблюдается замедленный клиренс опухолей.

Ключевые слова: В-клеточный острый лимфобластный лейкоз; Ph-позитивный В-ОЛЛ; Ph-негативный В-ОЛЛ; взрослые; делеции гена *IKZF1*

Для цитирования: Басхаева Г. А., Паровичникова Е. Н., Бидерман Б. В., Гаврилина О. А., Давыдова Ю. О., Дроков М. Ю., Зарубина К. И., Лукьянова И. А., Троицкая В. В., Соколов В. Н., Пискунова И. С., Степанова Е. А., Смирнова С. Ю., Судариков А. Б., Гальцева И. В., Обухова Т. Н., Савченко В. Г. *Роль мутаций гена IKZF1 при В-клеточном остром лимфобластном лейкозе у взрослых больных, получающих лечение по протоколам российского многоцентрового исследования.* Гематология и трансфузиология 2018; 63(1):16–30
doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.80..1..002>

Для корреспонденции: Басхаева Галина Александровна, врач-гематолог, аспирант отделения интенсивной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения со стационаром дневного пребывания ФГБУ «НМИЦ гематологии» Министерства здравоохранения России
Электронная почта: rara4v1s@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 28.02.18

Принята в печать 16.05.18

compared to only 1 patient (2.5%) without *IKZF1* deletions ($p = 0.0027$). The presence of *IKZF1* mutations was associated with persistence of minimal residual disease at 2 and 4 months of treatment, with higher leukemic cell counts; however, there seemed to be no observable differences in the long-term results of therapy regardless of whether or not *IKZF1* mutations were present. Thus *IKZF1* mutations in our study did not seem to be prognostically valuable for either Ph+ B-cell ALL or Ph– B-cell ALL, although they were shown to be associated with a delayed tumor clearance in patients with Ph– B-cell ALL.

Keywords: B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia; Ph-positive B-ALL; Ph-negative B-ALL; adults; *IKZF1* gene deletion

For citation: Baskhaeva G. A., Parovichnikova E. N., Biderman B. V., Gavrilina O. A., Davidova Yu. O., Drokov M. Yu., Zarubina K. I., Lukyanova I. A., Troitskaya V. V., Sokolov A. N., Piskunova I. S., Stepanova E. A., Smirnova S. A., Sudarikov A. B., Galtseva I. V., Obukhova T. N., Savchenko V. G. *The role of IKZF1 deletions in adult Ph-negative and Ph-positive B-cell acute lymphoblastic leukemia patients treated in Russian Acute Lymphoblastic Leukemia study.* Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfusiologiya) 2018; 63(1):16–30 (in Russian)
doi: <http://dx.doi.org/10.25837/HAT.2018.80..1..002>

For correspondence: Baskhaeva Galina A., hematologist, National Research Center for Hematology, Moscow, 125167, Russian Federation

E-mail: rara4v1s@gmail.com

Information about authors:

Baskhaeva G. A., <https://orcid.org/0000-0003-2763-5391>;
Parovichnikova E. N., <http://orcid.org/0000-0001-6177-3566>;
Biderman B. V., <http://orcid.org/0000-0002-6253-3334>;
Gavrilina O. A., <http://orcid.org/0000-0002-9969-8482>;
Davidova Yu. O., <http://orcid.org/0000-0001-5932-0285>;
Drokov M. Yu., <http://orcid.org/0000-0001-9431-8316>;
Zarubina K. I., <http://orcid.org/0000-0003-2947-6398>;
Lukyanova I. A., <http://orcid.org/0000-0002-8337-2242>;
Troitskaya V. V., <http://orcid.org/0000-0002-4827-8947>;
Sokolov A. N., <http://orcid.org/0000-0003-1494-7978>;
Piskunova I. S., <http://orcid.org/0000-0003-1571-3161>;
Stepanova E. A., <http://orcid.org/0000-0002-8187-5639>;
Smirnova S. A., <http://orcid.org/0000-0001-6220-8868>;
Sudarikov A. B., <http://orcid.org/0000-0001-9463-9187>;
Galtseva I. V., <http://orcid.org/0000-0002-8490-6061>;
Obukhova T. N., <http://orcid.org/0000-0002-3273-6640>;
Savchenko V. G., <http://orcid.org/0000-0001-8188-5557>.

Financial disclosure. The study had no sponsorship.

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

Received 28 Feb 2018

Accepted 16 May 2018

Введение

В-клеточный острый лимфобластный лейкоз (В-ОЛЛ) представляет собой злокачественное заболевание системы кроветворения, характеризующееся пролиферацией незрелых лимфоидных клеток в костном мозге, периферической крови и других органах [1]. Использование современных программ полихимиотерапии значительно улучшило результаты лечения ОЛЛ у взрослых: ремиссии становится возможным достичь у 85—90% больных. Несмотря на это 5-летняя общая выживаемость (ОВ) не превышает 40—50% [2—5], а риск развития рецидива достигает 40—50%, в том числе у больных из группы стандартного риска с нормальным кариотипом [5, 6]. В российском многоцентровом исследовании ОЛЛ-2009, главным принципом которого является неинтенсивное, но постоянное химиотерапевтическое воздействие с малым числом трансплантаций аллогенного костного мозга (алло-ТКМ), у большинства больных Rh-негативным В-ОЛЛ была достигнута морфологическая ремиссия. Однако при анализе долгосрочных результатов 5-летняя ОВ больных составила 53,3%, безрецидивная выживаемость (БРВ) — 56%. При мультивариантном анализе были выделены следующие факторы риска: возраст старше 30 лет, лейкоцитоз $30 \times 10^9/\text{л}$ и более, уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ) более 750 ед/л, обнаружение транслокации t(4;11). Наблюдаемые с высокой частотой рецидивы свидетельствуют о том, что выделенных факторов риска недостаточно для адекватного прогнозирования течения заболевания. Необходим поиск дополнительных маркеров онкогенных механизмов, которые приводят к селекции опухолевого клона, резистентного к применяемой терапии.

Современные достижения в области молекулярной генетики открывают новые возможности диагностики, прогнозирования и лечения В-ОЛЛ. Методом детекции однонуклеотидных полиморфизмов было выявлено более 50 мутаций генов, играющих роль в лейкемогенезе, среди них опухолевые супрессоры и гены регуляции клеточного цикла (*CDKN2A/B*, *PTEN*, *RBI*), транскрипционные факторы и гены регуляции транскрипции (*ETV6*, *ERG*, *TBL1XR1*), гены, регулирующие лимфоидную дифференцировку и сигнальные пути (*BTLA/CD200*, *TOX*), а также гены, ответственные за развитие химиорезистентности (например, ген глюкокортикоидного рецептора *NR3C1*). Самыми частыми при В-ОЛЛ были мутации генов транскрипционных факторов *PAX5*, *IKZF1* (*IKAROS*), *EBF1*, принимающих участие в лимфоидной дифференцировке клеток [7]. Наибольший интерес представляют мутации гена *IKZF1* (Ikaros Family Zinc Finger 1), они встречаются в 75% случаев BCR-ABL1-позитивных В-ОЛЛ [8, 9], более чем в 60% случаев бластного криза хронического миелолейкоза (ХМЛ) [10], в 35% случаев В-ОЛЛ, ассоциированного с синдромом Дауна [11], в 15% случа-

ев детских и 30—50% случаев взрослых Rh-негативных В-ОЛЛ [12—17].

Ген *IKZF1* расположен на 7-й хромосоме в области 7p12.2, состоит из 8 экзонов и образует белковый продукт из 519 аминокислот — транскрипционный фактор Ikaros [18]. В нормальных условиях Ikaros является ключевым регулятором лимфоидных клеток на самых ранних этапах лимфопоэза, способствует их дифференцировке и созреванию, участвует в организации структуры хроматина [19, 20]. Функция белка Ikaros реализуется благодаря его способности связываться с регуляторными областями ДНК генов-мишеней с помощью доменов, называемых «цинковыми пальцами». Экзоны 4—6 кодируют четыре «цинковых пальца» на N-конце белковой молекулы, они осуществляют функцию связывания ДНК; экзон 8 кодирует два C-терминальных «цинковых пальца», необходимых для димеризации различных изоформ Ikaros и белок-белковых взаимодействий. В ходе экспрессии гена посредством альтернативного сплайсинга, а также в результате внутригенных и хромосомных делеций образуется по меньшей мере 9 различных по длине и функциональности транскриптов (IK1—IK9). Для нормального функционирования белка необходимо наличие 3 и более «цинковых пальцев» на N-конце молекулы. Длинные изоформы (Ikaros 1—4) обладают высокой аффинностью к ДНК, короткие изоформы (Ikaros 5—9) приводят к потере функции белка и оказывают доминантно-негативный эффект, подавляя активность длинных изоформ и других белков при димеризации. Утрата C-терминальных «цинковых пальцев» Ikaros приводит к неспособности гена к димеризации, и, соответственно, к невозможности взаимодействия с другими изоформами и белками. Различные изоформы Ikaros, образуемые в результате альтернативного сплайсинга, формируют димеры и мультимеры, регулирующие в свою очередь экспрессию генов-мишеней и ремоделирование хроматина. Каждая изоформа обладает уникальными функциями [21, 22]. Нарушение функции Ikaros, возникающее в результате внутригенных делеций и точечных мутаций, приводит к блоку дифференцировки лимфоидных клеток, лежащему в основе патогенеза ОЛЛ [18]. Предполагается, что причина развития внутригенных делеций заключается в aberrантной экспрессии генов *RAG*. Точки разрывов, расположенные в интронах 2, 4, 7 гена *IKZF1*, фланкированы RSS-подобными последовательностями (рекомбинационные сигнальные последовательности), с которыми связываются aberrантные *RAG*-белки, запуская ошибочную RSS-рекомбинацию во время перестройки тяжелых цепей иммуноглобулинов про-В-клеток [23].

В первых работах по изучению экспрессии различных изоформ белка Ikaros при гематологических заболеваниях было обнаружено повышение экспрессии доминантно-негативной изоформы Ik6 при бластном

кризе ХМЛ, Т-ОЛЛ и В-ОЛЛ [18]. В 2007 г. Kuiper [12] и Mullighan [23] показали, что именно внутригенные делеции приводят к увеличению экспрессии доминантно-негативных изоформ *Ikaros* и это играет ключевую роль в лейкогенезе. В 2009 г. на группе детей с В-ОЛЛ было показано, что обнаружение мутаций гена *IKZF1* у больных В-ОЛЛ в мультивариантном анализе является независимым фактором риска, ассоциированным с высокой частотой развития рецидивов [23]. Тогда же при исследовании профиля генной экспрессии с помощью технологии микрочипов у больных Rh-негативным В-ОЛЛ с мутациями *IKZF1* была выявлена специфическая генная экспрессия, сходная с характеристиками молекулярного профиля экспрессии у больных Rh-позитивным В-ОЛЛ [23]. Так был открыт новый подтип ОЛЛ — Rh-подобный ОЛЛ [23], при котором отсутствует t(9;22), но выявляются аберрантные гены, кодирующие тирозинкиназы и рецепторы цитокинов, что ведет к активации киназных путей. К ним относятся реаранжировки гена *CRLF2* (51% случаев), химерные гены ABL класса (9,8%), *JAK2* и *EPOR* (12,4%), другие мутации *JAK-STAT* пути (7,2%), а также мутации *RAS*-пути (3,6%) [24, 25].

Эти открытия демонстрируют значительную гетерогенность ОЛЛ на молекулярном уровне, объясняют различную чувствительность опухоли к применяемой терапии и создают целый спектр мишеней для таргетной терапии [24]. Мутации в гене *IKZF1* при Rh-подобном ОЛЛ встречались чаще других — в 68% случаев, а бессобытийная выживаемость больных этой группы приближалась всего лишь к 18,5% [25]. Многочисленные исследования подтверждают связь делеций *IKZF1* с увеличением риска рецидива и неблагоприятным исходом как среди детей [26–31], так и среди взрослых, больных Rh-негативным В-ОЛЛ [32–35].

Наряду с этим есть данные о том, что не все мутации *IKZF1* имеют клиническую значимость. В одном из исследований Kobitzsch et al. [36] провели сравнение результатов терапии больных с доминантно-негативными изоформами ($\Delta 4-7$, $\Delta 5-7$) и с изоформами, ведущими к утрате функции гена ($\Delta 2$, $\Delta 2-3$, $\Delta 2-7$, $\Delta 2-8$, $\Delta 4-8$). Для обоих вариантов была определена мутационная нагрузка по количеству опухолевых клеток, несущих делецию *IKZF1*. Оказалось, что достоверно низкие показатели выживаемости наблюдались только для больных с высокой мутационной нагрузкой по изоформам, ведущим к утрате функции гена ($0,28 \pm 0,06$; $p = 0,0002$). При этом доминантно-негативные изоформы независимо от уровня мутационной нагрузки значения не имели ($0,54 \pm 0,06$; $p = 0,95$) [36]. Похожие данные были получены у Moorman et al. [17] и у Beldjord et al. [37]. Все это свидетельствует о неоднозначности представлений о прогностическом значении мутаций *IKZF1* у взрослых больных. Изучение биологической и клинической роли мута-

ций *IKZF1* при В-ОЛЛ при проведении различных программ терапии является актуальной проблемой.

Целью нашего исследования стало изучение роли мутаций гена *IKZF1* у взрослых больных В-клеточными ОЛЛ на протоколах российского многоцентрового исследования.

Материалы и методы

В исследование были включены 67 взрослых больных с впервые установленным диагнозом В-клеточного ОЛЛ. У 49 из 67 больных был Rh-негативный В-ОЛЛ (30 женщин и 19 мужчин); возраст больных составлял от 17 до 56 лет (медиана 29 лет); 33 больных получали лечение по протоколу ОЛЛ-2009 с августа 2009 г. по август 2016 г., и 16 больных, включенных в исследование с ноября 2016 г. по август 2017 г., получали лечение по протоколу ОЛЛ-2016. Медиана наблюдения составила 18,1 мес (1,5–93,4 мес). Во вторую группу были включены 18 больных Rh-позитивным В-ОЛЛ (9 женщин и 9 мужчин) в возрасте от 17 до 68 лет (медиана 31,5 года), которым проводили лечение по протоколам ОЛЛ-2009 (5 больных) и ОЛЛ-2012 (13 больных) в сочетании с ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) с февраля 2010 г. по август 2017 г. Медиана наблюдения составила 21,2 мес (3,53–91,77 мес).

Исследование ОЛЛ-2009 зарегистрировано на сайте ClinicalTrials.gov под номером NCT01193933, дизайн его был представлен ранее [38, 39]. Новый исследовательский протокол ОЛЛ-2016 стартовал с ноября 2016 г., в нем были сохранены основные принципы протокола ОЛЛ-2009. Схема протокола ОЛЛ-2016 представлена в приложении 1. Отличия от прежней программы включают:

- уменьшение суммарной дозы L-аспарагиназы за счет укорочения длительности ее применения до 1 года;
- отказ от высокодозной консолидации с метотрексатом и цитарабином;
- увеличение числа люмбальных пункций с 16 до 21;
- централизованный мониторинг минимальной остаточной болезни (МОБ) на 70, 133, 190-й дни и перед трансплантацией аллогенного костного мозга (алло-ТКМ) методом многоцветной проточной цитометрии.

Протокол ОЛЛ-2012 основан на протоколе ОЛЛ-2009, отличие его заключается в деэскалации химиотерапии и включении в программу ИТК. Схема протокола ОЛЛ-2012 представлена в приложении 2.

Центры, в которых больным проводили лечение, представлены в приложении 3.

Диагноз В-ОЛЛ был подтвержден на основании клинических и лабораторных исследований: общего анализа крови, цитологического, цитохимического исследований костного мозга и данных иммунофенотипирования согласно критериям классификации Европейской группы по иммунологической характеристике лейкозов (European Group for the Immunological Characterization of Leukemias, EGIL) [40, 41].

Всем больным выполнялось стандартное цитогенетическое исследование. Клетки костного мозга культивировали в течение 24 ч. G-дифференциальное окрашивание хромосом проводили с использованием красителя Wright («Merck», Германия). По возможности анализировали 20 метафаз. Флюоресцентную гибридизацию *in situ* на интерфазных ядрах (FISH) с локус-специфичными ДНК-зондами выполняли согласно протоколам фирм-производителей: LSI MLL DC BA Rearrangement Probe («Abbott Laboratories», США), BCR/ABL (ABL1) Translocation, Dual Fusion («Cytocell», Великобритания), LSI CDKN2A/CEP 9 («Abbott Molecular», США). Анализ проводили под

флюоресцентным микроскопом Axio Imager A2 («Carl Zeiss», Германия). В каждом случае анализировали 200 интерфазных ядер с четкими сигналами. Кариотип и результаты FISH описывали в соответствии с Международной системой номенклатуры хромосом человека (An International System for Human Cytogenetic Nomenclature — ISCN 2013).

Клинико-лабораторная характеристика больных представлена в табл. 1.

Иммунофенотип бластных клеток был определен у всех больных Ph-позитивным В-ОЛЛ — ранний пре-В вариант (BI) был установлен у 2 (11%) больных, общий В (BII) — у 13 (72%), пре-В (BIII) — у 2 (11%), бифе-

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика 67 больных, включенных в исследование

Показатель	В-ОЛЛ			
	BCR-ABL– (n = 49)		BCR-ABL+ (n = 18)	
	n	%	n	%
ИФТ-вариант острого лейкоза:				
Ранний пре-В (BI)	11	22	2	11
Общий В (BII)	29	59	13	72
Пре-В (BIII)	8	16	2	11
В/миело	0	0	1	5,5
Кариотип:				
Нормальный	17	35	–	–
Цитогенетические aberrации				
Структурные				
Транслокация с вовлечением региона 11q23	7	14	–	–
t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1	2	4	–	–
Делеция CDKN2A/9p21	5	10	–	–
iAMP21	1	2	–	–
Численные				
Гиперплоидия более 46 хромосом	10	20	2	11
Гипоплоидия менее 46 хромосом	0	0	1	5,5
Псевдодиплоидный кариотип	3	6	1	5,5
Моносомия 7	0	0	1	5,5
Комплексные нарушения кариотипа	3	6	0	0
Другие	3	6	0	0
Возраст, лет (медиана (диапазон))	29 (17–56)		31,5 (17–68)	
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л (медиана (диапазон))	7,8 (0,4–556)		43,1 (2,8–261)	
Уровень ЛДГ, ед/л (медиана (диапазон))	850,5 (266–20062)		1279,5(415–5451)	
Бластные клетки, % (медиана (диапазон)):				
в костном мозге	80,4 (21–100)		88 (42–96)	
в периферической крови	34 (0–95)		69 (0–90)	
Спленомегалия	42	85	11	61
Гепатомегалия	34	69	11	61
Нейролейкемия	3	6	1	5,5

нотипический вариант (В/миело) — у 1 (5,5%) больного. Из цитогенетических aberrаций у 1 (5,5%) больного была обнаружена транслокация с вовлечением региона 11q23 в сочетании с гипоплоидией, гиперплоидия — у 2 (11%) больных, комплексные нарушения кариотипа — у 2 (11%) больных, у 1 (5,5%) больного выявлена моносомия 7. Медиана количества лейкоцитов составила 43,1 (диапазон 2,8—261) $\times 10^9/\text{л}$, медиана уровня ЛДГ — 1279,5 (диапазон 415—5451) ед/л, медиана количества бластных клеток в костном мозге и периферической крови 88% (диапазон 42—96%) и 69% (диапазон 0—90%) соответственно. У 11 (61%) больных диагностирована спленомегалия, у 11 (61%) — гепатомегалия. Нейролейкоз выявлен у 1 (5,5%) больного.

В группе Rh-негативного В-ОЛЛ иммунофенотипический вариант бластных клеток установлен у 48 (98%) больных, у 1 больного фенотип неизвестен. У 11 (22%) больных диагностирован ранний пре-В вариант (В1), общий В (ВII) — у 29 (59%), пре-В (ВIII) — у 8 (16%) больных. При цитогенетическом исследовании у 18 (37%) больных был определен нормальный кариотип. Среди структурных перестроек кариотипа у 7 (14%) больных обнаружена транслокация с вовлечением региона 11q23, t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1 — у 2 (4%), делеция CDKN2A/9p21 — у 5 (10%), iAMP21 — у 1 (2%) больного; среди численных перестроек у 10 (20%) больных была диагностирована гиперплоидия, у 3 (6%) — псевдодиплоидный кариотип, у 3 — комплексные нарушения кариотипа, у 3 диагностированы другие аномалии кариотипа. Медиана количества лейкоцитов составила 7,8 (диапазон 0,4—556) $\times 10^9/\text{л}$, медиана уровня ЛДГ 850,5 (диапазон 266—20 062) ед/л, медиана количества бластных клеток в костном мозге — 80,4% (диапазон 21—100%), в периферической крови — 34% (диапазон 0—95%). Спленомегалия диагностирована у 42 (86%) больных, гепатомегалия — у 34 (69%), нейролейкоз выявлен у 3 (6%) пациентов.

Исследование клиренса МОБ методом многоцветной проточной цитометрии было выполнено 21 больному Rh-негативным В-ОЛЛ. Проводили окрашивание материала моноклональными антителами к CD19, CD10, CD34, CD38, CD45, CD20 («BD Biosciences») и CD58 («Beckman Coulter»). Анализ данных проводили на 6-цветном проточном цитометре BD FACS Canto II («BD Biosciences», США). Поиск МОБ осуществляли согласно стратегии «метода пустых мест» [42, 43]. Минимальной популяцией считали популяцию, состоящую из 20 клеток. Минимальная чувствительность составляла 0,01% [42—44]. В протоколах ОЛЛ-2009 и ОЛЛ-2016 терапия до 190-го дня не различалась, а значит, клиренс МОБ на 70-й и 133-й дни не зависел от применяемого протокола.

Исследование МОБ химерного транскрипта *BCR-ABL1* у больных Rh-позитивным В-ОЛЛ проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с чувствительностью 10^{-4} на

70-й день терапии (окончание индукционной фазы лечения). МОБ-негативный статус устанавливали при количестве химерного транскрипта менее 0,01%. В качестве материала для исследования МОБ описанными методами использовали пунктат костного мозга объемом 0,5—1 мл с антикоагулянтом ЭДТА.

Молекулярное исследование мутаций *IKZF1* выполняли в научно-клинической лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «НМИЦ гематологии». Анализ проводили согласно методике мультиплексной флуоресцентной ПЦР, специфичной к горячим точкам внутригенных делеций — $\Delta 2a-7$, $\Delta 2a-8$, $\Delta 2b-7$, $\Delta 2b-8$, $\Delta 4-7$, $\Delta 4-G1$ [14]. ДНК была выделена из лейкоцитарных клеток замороженных образцов костного мозга согласно ранее описанной методике [45]. ПЦР проводили на автоматическом термоджеле C1000 Thermal Cycler («BioRad», США). Реакционная смесь в конечном объеме 25 мкл содержала 50—200 нг ДНК, по 5 пмоль каждого праймера («Синтол», Россия). Программа амплификации включала предварительную денатурацию при температуре 95 °C (4 мин), 30 циклов ПЦР: 95 °C (30 с), 60 °C (30 с), 72 °C (1 мин) и окончательную элонгацию — 72 °C (4 мин). Для фрагментного анализа полученных ПЦР-продуктов использовали автоматический анализатор нуклеиновых кислот Нанофор-05 (ФГБУН ИАП РАН, Россия) и программное обеспечение ДНК ФА v. 5.0.0.73 (ФГБУН ИАП РАН, Россия). Определение первичной нуклеотидной последовательности осуществляли прямым секвенированием по методу Сэнгера с помощью набора Big Dye X-terminator v. 1.1 («ThermoFisher Scientific», США) согласно инструкции производителя. Полученные данные были сопоставлены с референсной последовательностью гена *IKZF1* (NG_034231.1). Молекулярные исследования проводили вслепую относительно клинических данных.

На основании стратификации больных по группам риска для протокола ОЛЛ-2009 к группе стандартного риска были отнесены 18 (37%) больных, к группе высокого риска — 31 (63%) больной при наличии одного и более из перечисленных критериев: возраст старше 30 лет, лейкоцитоз $30 \times 10^9/\text{л}$ и более, обнаружение транслокации t(4;11) [46].

Статистический анализ проводили с помощью программного пакета GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc). Количественные данные приведены в виде среднего $\pm$ стандартной ошибки среднего. Перед проверкой различий средних значений выборок проводили тест Шапиро—Уилка на нормальность распределения (отличным от нормального считали распределение при уровне значимости $p < 0,05$). Проверку достоверности различий средних выборок с нормальным распределением осуществляли с помощью критерия Стьюдента. Для проверки достоверности различий выборок, не подчиняющихся нормальному распределению, использовали критерий Манна—Уитни. Статистическую значимость различий двух связанных вы-

борок определяли с помощью критерия Вилкоксона. Для проверки независимости качественных признаков использовали χ^2 -критерий Пирсона (независимыми признаки считали при $p < 0,05$). Анализ ОВ, БРВ, вероятности развития рецидива (БРР) проводили с помощью программного пакета ABM SPSS методом Каплана—Мейера, статистическую значимость различий между кривыми выживаемости в группах определяли с помощью теста log-rank. Все различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

У 9 (50%) из 18 больных Rh-положительным ОЛЛ были обнаружены внутригенные делеции *IKZF1*, у 1 (5,5%) больного была диагностирована моносомия 7, что расценено как гаплонедостаточность исследуемого гена. В общей сложности выявлено 56% случаев с пере-

стройками гена *IKZF1*, что было статистически значимо чаще, чем при Rh-негативном В-ОЛЛ, где мутации этого гена были выявлены у 9 (18%) больных ($p = 0,0074$).

Распределение вариантов делеций было следующим: наиболее частой была $\Delta 4-7$ — она выявлена в 44% случаев, далее шли $\Delta 2-7$ (в 33% случаев), $\Delta 4-8$ и $\Delta 2-8$ (по 11% случаев). Корреляции между демографическими и клинико-лабораторными показателями (возраст, пол, начальный лейкоцитоз более $30 \times 10^9/\text{л}$, уровень ЛДГ более 750 ед/л, спленомегалия, нейтролейкоз) и наличием мутаций установлено не было (табл. 2).

Эффективность лечения у больных Rh-положительным В-ОЛЛ оценивали по молекулярному ответу на 70-й день химиотерапии в сочетании с ИТК 1-й линии (табл. 3).

BCR-ABL негативный статус был достигнут у 11 (61%) больных, у 7 (38%) проведена смена терапии

Таблица 2. Исходные демографические и клинико-лабораторные показатели у пациентов с наличием или отсутствием делеции *IKZF1*

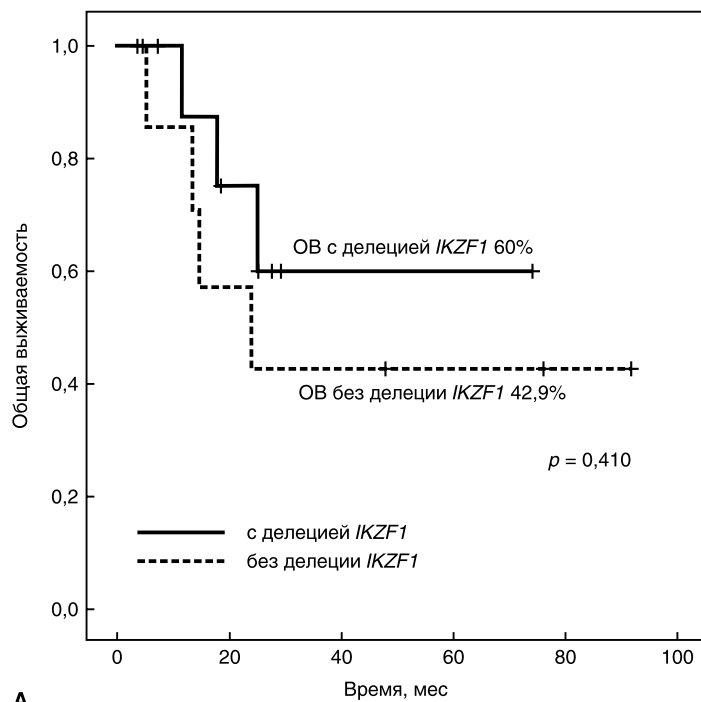
Показатель	Rh-негативный В-ОЛЛ			Rh-положительный В-ОЛЛ		
	Делеция <i>IKZF1</i>	Отсутствие делеции <i>IKZF1</i>	<i>p</i>	Делеция <i>IKZF1</i>	Отсутствие делеции <i>IKZF1</i>	<i>p</i>
Число больных	9	40	–	10	8	–
Возраст (лет), медиана (диапазон)	29 (18–29)	29 (17–56)	0,873	28,5 (17–56)	33 (24–68)	0,393
Пол:						
Мужчины	4 (44%)	15 (37%)	0,719	5 (50%)	4 (50%)	1
Женщины	5 (56%)	25 (63%)		5 (50%)	4 (50%)	
Начальный лейкоцитоз $> 30 \times 10^9/\text{л}$	2 (22%)	17 (43%)	1	4 (40%)	6 (75%)	0,188
Спленомегалия	5 (55%)	37 (92%)	0,22	6 (60%)	5 (63%)	1
Нейтролейкоз	1 (11%)	3 (8%)	0,568	1 (10%)	0	1
Уровень ЛДГ более 750 ед/л	2 (22%)	25 (63%)	0,059	6 (60%)	6 (75%)	0,638
Коэкспрессия миелоидных маркеров CD13, CD33	4 (44%)	1 (2,5%)	0,002	2 (20%)	1 (12,5%)	1
Исходная группа риска по ОЛЛ-2009:						
Стандартная ($n = 18$)	36	15	1	–	–	–
Высокая ($n = 31$)		25				
Нормальный кариотип	5	12	0,244			
Всего	9 (45%)	18 (90%)	5 (25%)	11 (55%)	7 (35%)	2 (10%)

Таблица 3. Эффективность лечения у пациентов с наличием или отсутствием делеции *IKZF1*

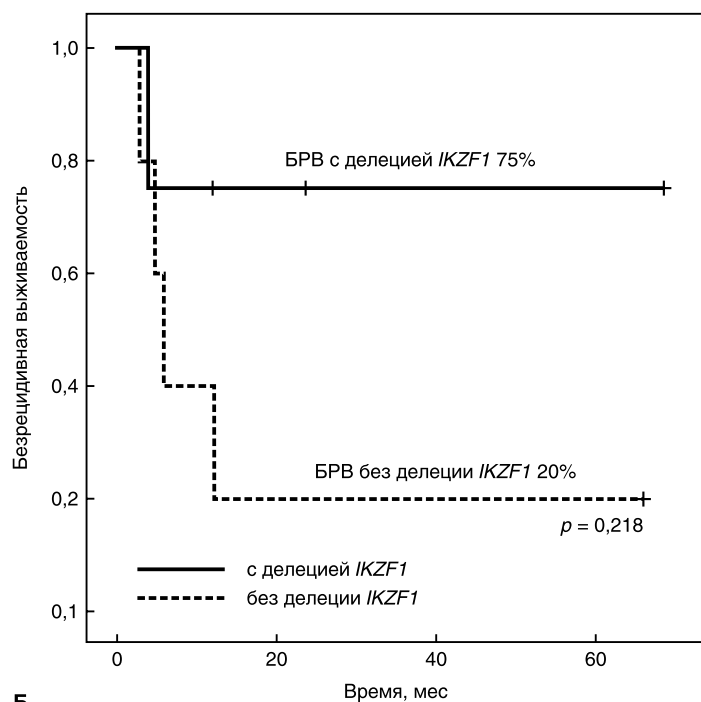
Показатель	Rh-негативный В-ОЛЛ			Rh-положительный В-ОЛЛ		
	Делеция <i>IKZF1</i> ($n = 9$)	Отсутствие делеции <i>IKZF1</i> ($n = 40$)	<i>p</i>	Делеция <i>IKZF1</i> ($n = 10$)	Отсутствие делеции <i>IKZF1</i> ($n = 8$)	<i>p</i>
Рефрактерность	1 (11%)	2 (5%)	0,463	0 (0%)	0 (0%)	–
Ремиссия*	8 (89%)	38 (95%)	0,463	7 (70%)	4 (50%)	0,635
Смертность в индукции	0 (0%)	2 (5%)	–	0 (0%)	0 (0%)	–
Число рецидивов	1 (11%)	8 (20%)	1	4 (40%)	3 (38%)	1

* Морфологическая ремиссия для Rh-негативного В-ОЛЛ, молекулярная — для Rh-положительного В-ОЛЛ.

ИТК. Наличие делеции *IKZF1* не имело значения при оценке молекулярной ремиссии на 70-й день — 70% больных с делецией *IKZF1* и 50% без делеции достигли молекулярной ремиссии ($p = 0,635$). Смертей в индукции зарегистрировано не было. Алло-ТКМ была выполнена 10 больным, из них 4 больным во второй ремиссии заболевания; ауто-ТКМ была выполнена 1 больному. Медиана времени до ТКМ составила 10,1 (5,8—17,9) мес.



А



Б

Рисунок 1. Выживаемость больных Ph-позитивным ОЛЛ с делецией *IKZF1* и без нее. **А.** Общая выживаемость (ОВ). **Б.** Безрецидивная выживаемость (БРВ).

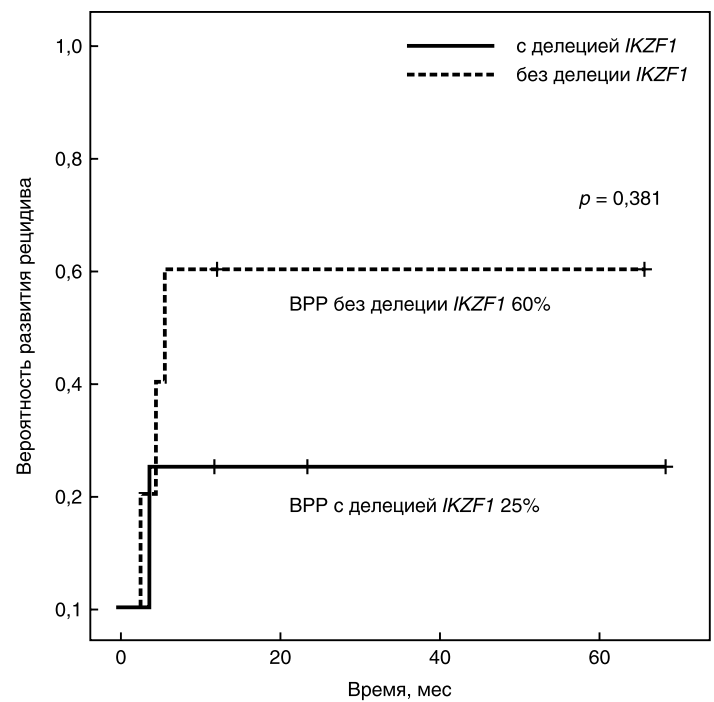


Рисунок 2. Вероятность развития рецидива у больных Ph-позитивным ОЛЛ с делецией *IKZF1* и без нее.

Различий в долгосрочных результатах терапии (5-летние показатели ОВ, БРВ, ВРР) также не обнаружено: среди больных В-ОЛЛ с делецией *IKZF1* ($n = 10$) ОВ составила 60%, без нее — 42,9% ($n = 8$), $p = 0,410$; показатели БРВ составляли 75% ($n = 4$) и 20% ($n = 5$) соответственно, $p = 0,218$ (рис. 1, А и Б), а показатели ВРР 25% ($n = 4$) и 60% ($n = 5$) (рис. 2).

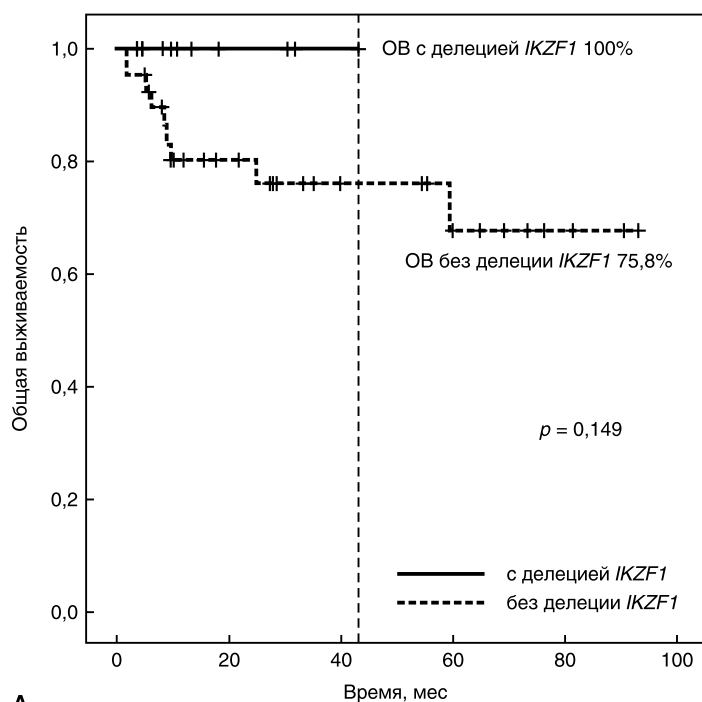
Внутригенные делеции *IKZF1* были обнаружены у 9 (18%) из 49 больных Ph-негативным В-ОЛЛ. Наиболее частой была делеция $\Delta 4-7$, она выявлена у 5 (56%) больных, у 2 (22%) больных найдена делеция $\Delta 2-7$, у 1 (11%) больного — делеция $\Delta 2-8$, и у 1 (11%) больного были обнаружены все варианты делеций — $\Delta 4-7$, $\Delta 4-8$, $\Delta 2-7$, $\Delta 2-8$.

Мы не выявили корреляции между наличием делеций *IKZF1* и исходными демографическими и клинико-лабораторными показателями, такими как возраст, пол, начальный лейкоцитоз более $30 \times 10^9/\text{л}$, уровень ЛДГ более 750 ед/л, спленомегалия, нейрорлейкоз. Взаимосвязи между наличием мутаций гена *IKZF1* и группой риска также не наблюдалось.

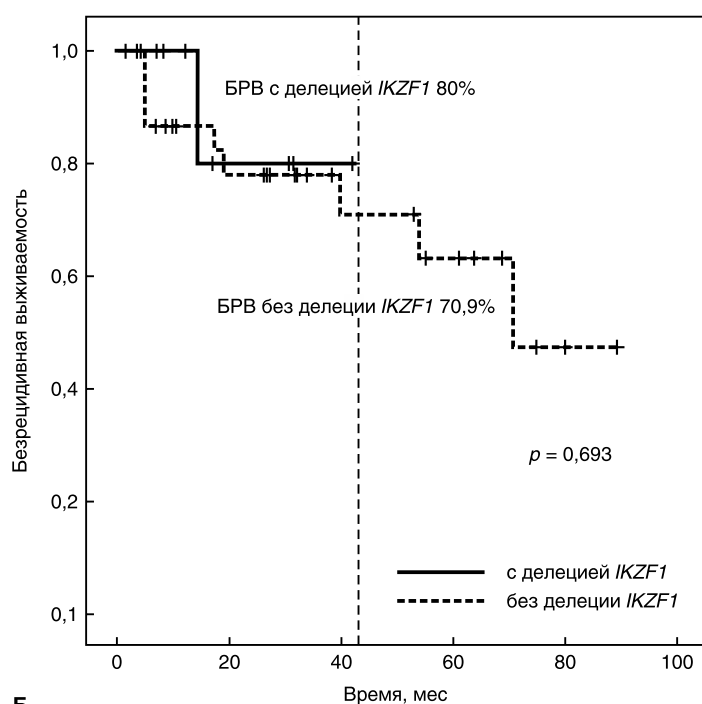
Эффективность лечения была проанализирована у всех 49 больных. Полная ремиссия была достигнута у 8 (89%) больных ОЛЛ с делециями *IKZF1* и у 38 (95%) больных без делеций. На этапе индукционной терапии вследствие инфекционных осложнений умерли 2 (4%) больных, ни у кого из них мутаций обнаружено не было. Доля тех больных, у кого ремиссия была достигнута после предфазы, составила 12,5% (в случае делеции *IKZF1*) и 8% (в случае отсутствия делеции *IKZF1*), после I фазы индукции — 75 и 82%, после II фазы ин-

дукции — 12,5 и 5% соответственно. Рефрактерность к проводимой терапии была диагностирована у 1 (11%) больного с делецией и у 2 (5%) больных без нее.

У 44% больных с делецией *IKZF1* в дебюте заболевания наблюдалась коэкспрессия двух миелоидных маркеров CD13 и CD33 на бластных клетках по данным иммунофенотипического исследования, в то время как у больных без делеции оба маркера одновременно были выявлены только в 2,5% случаев ($p = 0,0027$).



А



Б

Рисунок 3. Выживаемость больных Rh-негативным ОЛЛ с делецией *IKZF1* и без нее. **А.** Общая выживаемость (ОВ). **Б.** Безрецидивная выживаемость (БРВ).

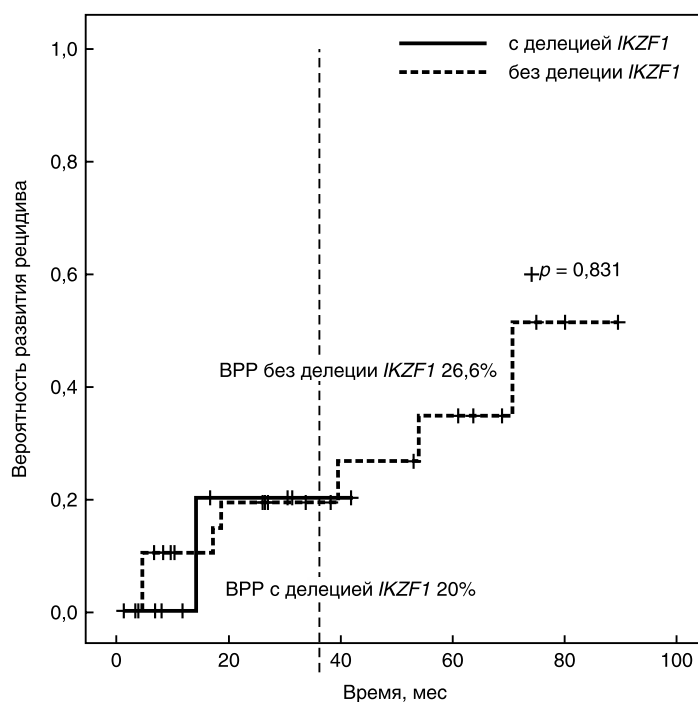


Рисунок 4. Вероятность развития рецидива у больных Rh-негативным ОЛЛ с делецией *IKZF1* и без нее.

У 3 из 4 больных с делецией *IKZF1* и коэкспрессией миелоидных маркеров наблюдались неудачи в лечении. У первого пациента была констатирована рефрактерность к проводимой терапии, в связи с чем он был переведен на терапию блинатумомабом в сочетании с дазатинибом и весаноидом, после чего была достигнута ремиссия. В настоящее время больному планируется алло-ТКМ. У 2 больных, несмотря на достижение морфологической ремиссии, наблюдалось значимое увеличение МОБ, что послужило причиной снятия с терапии после 1-й консолидации. Одному из них также проводили терапию блинатумомабом в сочетании с дазатинибом и весаноидом, в результате которой был достигнут МОБ-негативный статус и выполнена ауто-ТКМ в связи с отсутствием донора. Второму пациенту запланирована алло-ТКМ.

Долгосрочные результаты терапии (3-летние показатели ОВ, БРВ, БРР) у больных Rh-негативным В-ОЛЛ не выявили статистически значимых различий в зависимости от наличия или отсутствия мутаций *IKZF1*. ОВ у больных с делецией *IKZF1* ($n = 9$) составила 100%, а без делеции ($n = 40$) — 75,8%, $p = 0,149$; БРВ — 80% ($n = 8$) и 70,9% ($n = 34$) соответственно, $p = 0,693$ (рис. 3, А и Б), а БРР — 20 и 26,6% соответственно (рис. 4), $p = 0,831$ (рис. 1, А и Б).

Исследование МОБ у 21 больного Rh-негативным В-ОЛЛ, среди которых у 6 (29%) больных были мутации гена *IKZF1*, а у 15 (71%) мутаций не было, показало, что у пациентов с делециями клиренс опухолевых клеток происходит медленнее. МОБ на 70-й день была выявлена у 5 (33%) из 15 больных без делеций *IKZF1*,

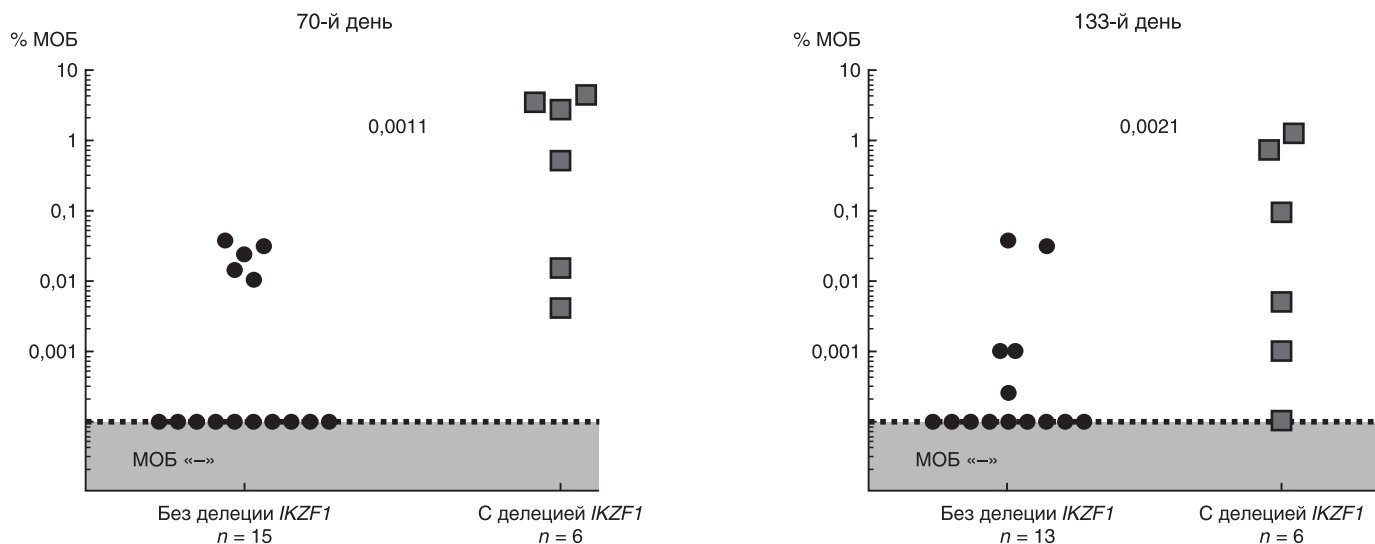


Рисунок 5. Уровень МОБ на 70-й и 133-й дни терапии у больных Ph-негативным В-ОЛЛ в зависимости от наличия делеции *IKZF1*.

среднее значение МОБ составило $0,008 \pm 0,003\%$, в то время как у 6 больных с делециями *IKZF1* МОБ обнаружена в 100% случаев со средним показателем МОБ $1,847 \pm 0,788\%$ ($p = 0,0011$). На 133-й день, как и на 70-й день у больных без мутаций *IKZF1*, МОБ выявлялась реже и ее показатели были ниже, чем у пациентов с делециями *IKZF1* ($0,0002 \pm 0,0001$ и $0,376 \pm 0,233\%$ соответственно; $p = 0,0021$) (рис. 5). У больных с делециями *IKZF1* отмечается снижение значений МОБ к 133-му дню по сравнению с 70-м днем ($p = 0,016$), однако только у 1 больного достигнут МОБ-негативный статус. Среди 5 больных без делеций *IKZF1*, у которых определялась МОБ, к 133-му дню у 1 больного МОБ не выявлена, у 3 больных наблюдается уменьшение МОБ по отношению к 70-му дню; $p = 0,063$ (рис. 6).

Обсуждение

Высокая частота рецидивов среди больных Ph-негативным В-ОЛЛ с нормальным кариотипом из группы стандартного риска обуславливает необходимость в выделении среди них подгруппы «других В-ОЛЛ» с неблагоприятным прогнозом. Прогностические шкалы, основанные на клинических, цитогенетических, иммунофенотипических характеристиках, не всегда позволяют с уверенностью отнести больного к той или иной группе риска. Благодаря появлению полногеномных методов исследования стало возможным открытие нового подтипа — Ph-подобного В-ОЛЛ, который впоследствии в 2017 г. был включен в классификацию ВОЗ. Многообразие патогенетических путей при Ph-подобном ОЛЛ обуславливает гетерогенность лейкоза на молекулярном уровне и способствует развитию новых терапевтических возможностей для улучшения долгосрочных результатов лечения. Внутрингенные делеции *IKZF1* при Ph-подобном ОЛЛ встречаются с высокой частотой, связь с неблагоприятным прогно-

зом делает актуальным исследование роли делеций на различных протоколах химиотерапии.

В нашем исследовании частота делеций *IKZF1* среди больных Ph-позитивным В-ОЛЛ составила 56%, что сопоставимо с данными исследования Martinelli et al. [47], где делеции обнаружены у 83 (63%) больных с таким же диагнозом. У больных Ph-негативным В-ОЛЛ мы выявили мутации в 18% случаев. В работе Moorman et al. [37] в когорте из 454 больных Ph-негативным В-ОЛЛ делеции *IKZF1* выявлены в 11% случаев, Beldjord et al. [17] наблюдали их у 216 (25%) больных. При анализе типов делеций при Ph-позитивном и Ph-негативном В-ОЛЛ чаще всего встречались $\Delta 4-7$, в 44 и 55% случаев соответственно; делеции $\Delta 2-7$, $\Delta 2-8$, $\Delta 4-8$ представлены в данных группах примерно в равном соотношении (11–22%). Полученные результаты соответствуют данным, пред-

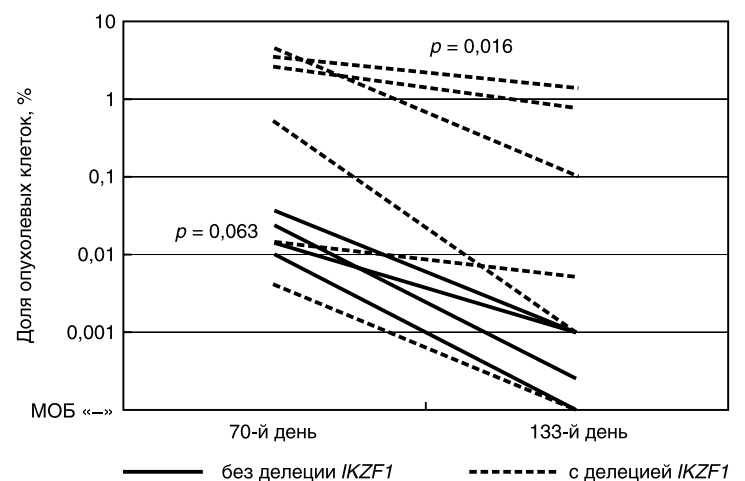


Рисунок 6. Клиренс МОБ у больных Ph-негативным В-ОЛЛ в зависимости от наличия делеции *IKZF1*.

ставленным в работах других исследователей [23, 36]. Мы не выявили корреляции с демографическими и клинико-лабораторными показателями (возраст, пол, начальный лейкоцитоз более $30 \times 10^9/\text{л}$, уровень ЛДГ более 750 ед/л, спленомегалия, нейролейкоз).

Среди больных Ph-негативным В-ОЛЛ с делецией *IKZF1* ни в одном случае не было обнаружено перестройки региона 11q23 (локуса гена *MLL*), делеций *CDKN2A*, комплексного кариотипа, t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1, интрахромосомной амплификации *iAMP21*. У 17 (35%) больных Ph-негативным В-ОЛЛ имелся нормальный кариотип, из них у 5 (29%) больных найдены делеции *IKZF1*, что превышает показатель, полученный в исследовании Othman et al. [48], составивший 14%.

Интересным наблюдением стала достоверно более частая коэкспрессия двух миелоидных маркеров CD13 и CD33 у больных с делецией *IKZF1* ($p = 0,0027$). Экспрессия одного или нескольких миелоидных антигенов у взрослых больных В-ОЛЛ встречается, по данным разных исследований, примерно в 30–50% случаев [49]. Данные о взаимосвязи aberrантной экспрессии CD13, CD33 с прогнозом заболевания противоречивы [50, 51]. Однако доказана их связь с t(9;22), моносомией 7 и антигеном стволовых клеток CD34, что дает основание предполагать происхождение CD13, CD33 позитивных ОЛЛ из мультимипотентной стволовой клетки [52]. Kobitzsch et al. [36] высказали гипотезу о взаимосвязи лейкозной клетки со стволово-клеточным фенотипом и мутациями *IKZF1*. В своей работе, посвященной значению высокой мутационной нагрузки изоформ, ведущих к утрате функции гена, исследователи предполагают, что спорадическое возникновение делеций *IKZF1* возможно на всех этапах созревания В-лимфоцита в результате RAG-опосредованной VDJ-рекомбинации [53, 54]. Появление мутации на самой ранней стадии созревания приводит к образованию лейкозной клетки со стволово-клеточным фенотипом [54]. Вследствие этого формируется опухолевый клон с высокой мутационной нагрузкой, определяющий неблагоприятное клиническое течение заболевания. В целом патогенез aberrантной экспрессии миелоидных антигенов при В-ОЛЛ и формирования опухолевых клеток с высокой мутационной нагрузкой *IKZF1* остается малоизученным и требует дальнейших исследований.

По нашим результатам достоверное значение делеции *IKZF1* у больных Ph-позитивным и Ph-негативным В-ОЛЛ при выполнении протоколов Российской исследовательской группы не доказано. Небольшая когорта больных с делециями *IKZF1* и короткий срок наблюдения затрудняют оценку их клинической значимости. Также необходимо отметить, что хорошие результаты терапии у больных Ph-негативным В-ОЛЛ в представленном нами исследовании могут быть связаны с относительно молодым возрастом больных (медиана 29 лет) и небольшим сроком наблюдения.

Создается впечатление, что в ряде случаев делеции *IKZF1* связаны с течением заболевания у больных Ph-негативным В-ОЛЛ. В данной группе у больных с мутациями гена *IKZF1* ($n = 6$) наблюдалась персистенция МОБ на 2-м и 4-м месяце лечения, а также ее более высокие количественные значения по сравнению с больными без мутаций. Данные о связи делеций *IKZF1* с персистенцией МОБ описаны в российском педиатрическом исследовании, а также представлены в работах зарубежных авторов [15, 55, 56]. Во французском и немецком исследованиях [15, 56] наличие МОБ и обнаружение делеций *IKZF1* стали определяющими факторами для выделения группы высокого риска. В нашем исследовании сочетание факторов МОБ и делеций *IKZF1* на долгосрочных результатах не отразилось, вероятно, в силу малого срока наблюдения.

Таким образом, несмотря на то, что не было доказано достоверное значение делеций *IKZF1* при лечении по протоколам Российской исследовательской группы у больных Ph-позитивным и Ph-негативным В-ОЛЛ, показано, что при наличии мутаций у больных Ph-негативным В-ОЛЛ наблюдается замедленный клиренс опухоли. Полученные результаты демонстрируют в данной группе больных длительную персистенцию МОБ (в 83% случаев), а также высокую частоту коэкспрессии миелоидных маркеров CD13, CD33 (в 44% случаев).

Возможно, внедрение дополнительных диагностических методов, таких как оценка мутационной нагрузки, исследование МОБ внутригенных делеций *IKZF1* методом RT-PCR, позволит рассматривать их в качестве независимых прогностических факторов. Вместе с тем иной подход к терапии, применяемый на основании протоколов российского многоцентрового исследования, главный принцип которых заключается в неинтенсивном, но постоянном химиотерапевтическом воздействии с малым числом алло-ТКМ, а также повышение эффективности лечения в результате применения таргетных препаратов (блинатумомаб, ИТК) у больных с прогрессией МОБ может нивелировать значение *IKZF1*. Для подтверждения этих выводов необходимо дальнейшее исследование мутаций *IKZF1*, расширение диапазона молекулярной диагностики для своевременного выявления Ph-подобных ОЛЛ с ориентацией на последующую индивидуализацию программ терапии с помощью таргетного воздействия и оптимального планирования алло-ТКМ.

Литература

1. Moorman AV. New and emerging prognostic and predictive genetic biomarkers in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2016; 101:407–416.
2. Inaba H, Greaves M, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukemia. *Lancet* 2013; 381:1–27.
3. Bassan R, Spinelli O, Oldani E et al. Improved risk classification for risk-specific therapy based on the molecular study of minimal residual

- disease (MRD) in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood* 2015; 113:4153–4163.
4. Bassan R, Hoelzer D. Modern therapy of acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2011; 29:532–543.
5. Paul S, Kantarjian H, Jabbour EJ. Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *Mayo Clin Proc* 2016; 91:1645–1666.
6. Issa GC, Kantarjian HM, Yin CC et al. Prognostic impact of pretreatment cytogenetics in adult Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in the era of minimal residual disease. *Cancer* 2017; 123:459–467.
7. Mullighan CG, Goorha S, Radtke I et al. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature* 2007; 446:758–764.
8. Iacobucci I, Iraci N, Messina M et al. IKAROS deletions dictate a unique gene expression signature in patients with adult B-cell acute lymphoblastic leukemia. *PLoS One* 2012; 7:1–10.
9. Mullighan CG, Miller CB, Radtke I et al. BCR-ABL1 lymphoblastic leukaemia is characterized by the deletion of Ikaros. *Nature* 2008; 453:110–114.
10. Nakayama H, Ishimaru F, Avitahl N et al. Decreases in Ikaros activity correlate with blast crisis in patients with chronic myelogenous leukemia. *Cancer Res* 1999; 59:3931–3934.
11. Buitenkamp TD, Pieters R, Gallimore NE et al. Outcome in children with Down's syndrome and acute lymphoblastic leukemia: Role of IKZF1 deletions and CRLF2 aberrations. *Leukemia* 2012; 26:2204–2211.
12. Kuiper RP, Waanders E, Van Der Velden VHJ et al. IKZF1 deletions predict relapse in uniformly treated pediatric precursor B-ALL. *Leukemia* 2010; 24:1258–1264.
13. Waanders E, Van Der Velden VHJ, Van Der Schoot CE et al. Integrated use of minimal residual disease classification and IKZF1 alteration status accurately predicts 79% of relapses in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2011; 25:254–258.
14. Caye A, Beldjord K, Mass-Malo K et al. Breakpoint-specific multiplex polymerase chain reaction allows the detection of IKZF1 intragenic deletions and minimal residual disease monitoring in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2013; 98:597–601.
15. Dorge P, Meissner B, Zimmermann M et al. IKZF1 deletion is an independent predictor of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia treated according to the ALL-BFM 2000 protocol. *Haematologica* 2013; 98:428–432.
16. Kushner BH, LaQuaglia MP, Wollner N et al. Desmoplastic small round-cell tumor: Prolonged progression-free survival with aggressive multimodality therapy. *J Clin Oncol* 1996; 14:1526–1531.
17. Beldjord K, Chevret S, Asnafi V et al. Oncogenetics and minimal residual disease are independent outcome predictors in adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2014; 123:3739–3750.
18. Olsson L, Johansson B. Ikaros and leukaemia. *Br J Haematol* 2015; 169:479–491.
19. Cortes M, Wong E, Koipally J et al. Control of lymphocyte by the Ikaros gene family. *Curr Opin Immunol* 1999; 11:167–171.
20. Georgopoulos K. Haematopoietic cell-fate decisions, chromatin regulation and Ikaros. *Nat Rev Immunol* 2002; 2:162–174.
21. Molnar A, Georgopoulos K. The Ikaros gene encodes a family of functionally diverse zinc finger DNA-binding proteins. *Mol Cell Biol* 1994; 14:8292–8303.
22. Dovat S, Editor S. Regulation of Ikaros function by casein kinase 2 and protein phosphatase 1. *World J Biol Chem* 2011; 2:126–131.
23. Mullighan C, Su X, Zhang J et al. Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2009; 360:470–480.
24. Roberts KG, Gu Z, Payne-Turner D et al. High frequency and poor outcome of Philadelphia chromosome-like acute lymphoblastic leukemia in adults. *J Clin Oncol* 2017; 35:394–401.
25. Roberts KG, Li Y, Payne-Turner D et al. Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371:1005–1015.
26. Clappier E, Grardel N, Bakkus M et al. IKZF1 deletion is an independent prognostic marker in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia, and distinguishes patients benefiting from pulses during maintenance therapy: Results of the EORTC Children's Leukemia Group study 58951. *Leukemia* 2015; 29:2154–2161.
27. Olsson L, Ivanov Ofverholm I, Noren-Nystrom U et al. The clinical impact of IKZF1 deletions in paediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia is independent of minimal residual disease stratification in Nordic Society for Paediatric Haematology and Oncology treatment protocols used between 1992 and 2013. *Br J Haematol* 2015; 170:847–858.
28. Van der Veer A, Zaliouva M, Mottadelli F et al. IKZF1 status as a prognostic feature in BCR-ABL1 – positive childhood ALL. *Blood* 2014; 123:1691–1699.
29. Van der Veer A, Waanders E, Pieters R et al. Independent prognostic value of BCR-ABL1-like signature and IKZF1 deletion, but not high CRLF2 expression, in children with B-cell precursor ALL. *Blood* 2013; 122:2622–2629.
30. Olsson L, Castor A, Behrendtz M et al. Deletions of IKZF1 and SPRED1 are associated with poor prognosis in a population-based series of pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia diagnosed between 1992 and 2011. *Leukemia* 2014; 28:302–310.
31. Asai D, Imamura T, Suenobu S et al. IKZF1 deletion is associated with a poor outcome in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia in Japan. *Cancer Med* 2013; 2:412–419.
32. Yao Q, Liu K, Gale RP et al. Prognostic impact of IKZF1 deletion in adults with common B-cell acute lymphoblastic leukemia. *BMC Cancer* 2016; 16:269.
33. Fang Q, Zhao X, Li Q et al. IKZF1 alterations and expression of CRLF2 predict prognosis in adult Chinese patients with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2017; 58:127–137.
34. Ribera J, Morgades M, Zamora L et al. Prognostic significance of copy number alterations in adolescent and adult patients with precursor B acute lymphoblastic leukemia enrolled in PETHEMA protocols. *Cancer* 2015; 121:3809–3817.
35. Kim M, Park J, Kim DW et al. Impact of IKZF1 deletions on long-term outcomes of allo-SCT following imatinib-based chemotherapy in adult Philadelphia chromosome-positive ALL. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50:354–362.
36. Kobitzsch B, Gokbuget N, Schwartz S et al. Loss-of-function but not dominant-negative intragenic IKZF1 deletions are associated with an adverse prognosis in adult BCR-ABL-negative acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2017; 102:1739–1747.
37. Moorman AV, Schwab C, Ensor HM et al. IGH@ translocations, CRLF2 deregulation, and microdeletions in adolescents and adults with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2017; 30:3100–3108.
38. Паровичникова Е. Н., Клясова Г. А., Исаев В. Г. и др. Первые итоги терапии Ph-негативных острых лимфобластных лейкозов взрослых по

протоколу Научно-исследовательской группы гематологических центров России ОЛЛ-2009. Тер архив 2011; 83:7—11.

39. Паровичникова Е. Н., Троицкая В. В., Соколов А. Н. и др. Промежуточные результаты по лечению острых Ph-негативных лимфобластных лейкозов у взрослых больных (итоги Российской исследовательской группы по лечению острых лимфобластных лейкозов — RALL). Онкогематология 2014; 3:6—15.

40. Bene MC, Nebe T, Bettelheim P et al. Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: A consensus proposal of the European LeukemiaNet Work Package 10. Leukemia 2011; 25:567—574.

41. Bene MC, Castoldi G, Knapp W et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). Leukemia 1995; 9:1783—1786.

42. Borowitz MJ, Pullen DJ, Shuster JJ et al. Minimal residual disease detection in childhood precursor-B-cell acute lymphoblastic leukemia: Relation to other risk factors. A Children's Oncology Group study. Leukemia 2003; 17:1566—1572.

43. Попов А. М., Вержбицкая Т. Ю., Фечина Л. Г. и др. Острые лейкозы: различия иммунофенотипа бластных клеток и их неопухолевых аналогов в костном мозге. Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика 2016; 9:302—313.

44. Попов А. М., Белевцев М. В., Боякова Е. В. и др. Стандартизация определения минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом. Опыт работы российско-белорусской кооперативной группы. Онкогематология 2016; 11:64—73.

45. Сидорова Ю. В., Сорокина Т. В., Бидерман Б. В. и др. Определение минимальной остаточной болезни у больных В-клеточным хроническим лимфолейкозом методом пациент-специфической ПЦР. Клиническая лабораторная диагностика 2011; 12:22—24.

46. Паровичникова Е. Н., Троицкая В. В., Соколов А. Н. и др. Острые В-лимфобластные лейкозы взрослых: выводы из Российского проспек-

тивного многоцентрового исследования ОЛЛ-2009. Тер архив 2017; 89:10—17.

47. Martinelli G, Iacobucci I, Storlazzi CT et al. IKZF1 (Ikars) deletions in BCR-ABL1-positive acute lymphoblastic leukemia are associated with short disease-free survival and high rate of cumulative incidence of relapse: A GIMEMA AL WP report. J Clin Oncol 2009; 27:5202—5207.

48. Othman MAK, Melo JB, Carreira IM et al. High rates of submicroscopic aberrations in karyotypically normal acute lymphoblastic leukemia. Mol Cytogenetic 2015; 8:1—12.

49. Kavianpour M, Ketabchi N, Saki N. Prognostic significance of aberrant expression of CD markers in acute lymphoblastic leukemia. Magazine Eur Med Oncol 2017; 10:164—169.

50. Bhushan B, Chauhan PS, Saluja S et al. Aberrant phenotypes in childhood and adult acute leukemia and its association with adverse prognostic factors and clinical outcome. Clin Exp Med 2010; 10:33—40.

51. Suggs JL, Cruse JM, Lewis RE. Aberrant myeloid marker expression in precursor B-cell and T-cell leukemias. Exp Mol Pathol 2007; 83:471—473.

52. Suggs JL, Cruse JM, Lewis RE. Aberrant myeloid marker expression in precursor B-cell and T-cell leukemias. Exp Mol Pathol 2007; 83:471—473.

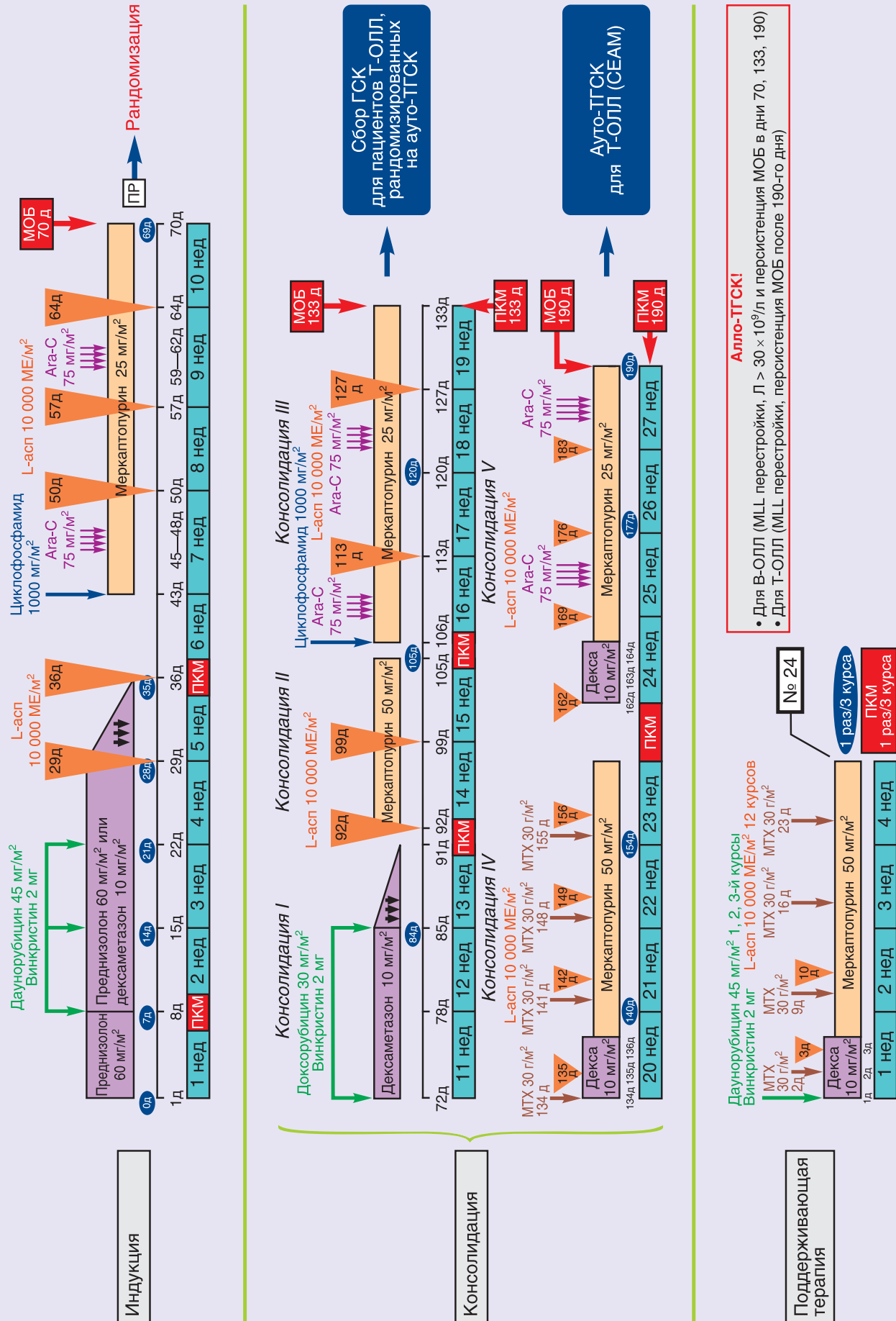
53. Iacobucci I, Storlazzi CT, Cilloni D et al. Identification and molecular characterization of recurrent genomic deletions on 7p12 in the IKZF1 gene in a large cohort of BCR-ABL1-positive acute lymphoblastic leukemia patients. Hematology 2009; 114:2159—2167.

54. Yu W, Nagaoka H, Jankovic M et al. Continued RAG expression in late stages of B cell development and no apparent re-induction after immunization. Nature 1999; 400:682—687.

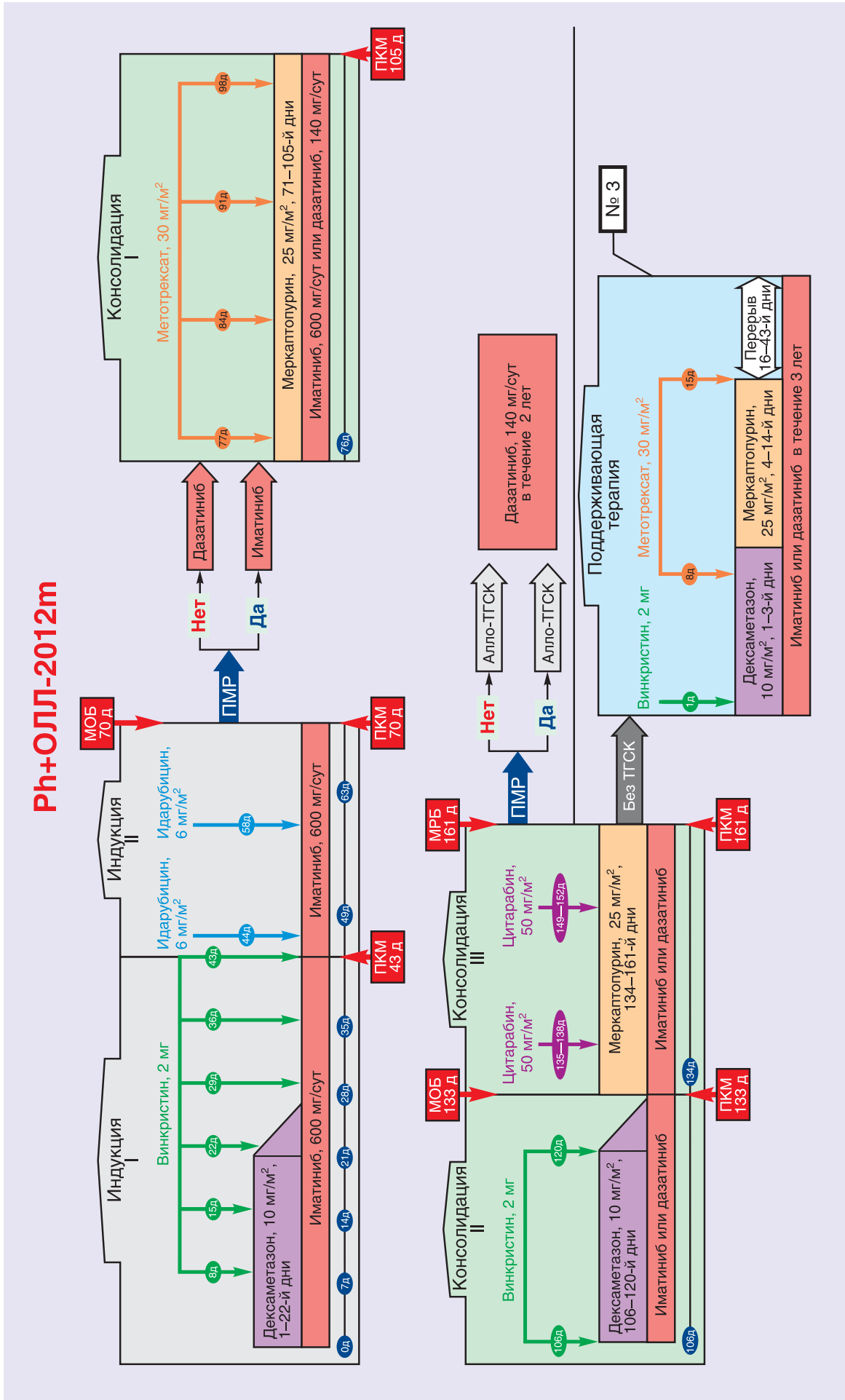
55. Цаур Г. А., Друй А. Е., Солодовников А. Г. и др. Делеции гена IKZF1 — независимый прогностический фактор у детей с острым лимфобластным лейкозом из В-линейных предшественников. Онкогематология 2016; 11:32—48.

56. Dhedin N, Huynh A, Maury S et al. Role of allo-SCT in adult Ph(-) ALL. Blood 2015; 125:2486—2497.

ОЛЛ-2016



Приложение 1. Схема протокола ОЛЛ-2016. Ага-С — цитарабин; SEAM — режим кондиционирования (ломустин, 360 мг/м² в день 1, этопозид, 100 мг/м² в дни 2–5, цитарабин, 100 мг/м² в дни 2–5, мелфалан, 140 мг/м² в день 6); Л-асп — аспаргиназа; д — день; КМ — пункция костного мозга; МОБ — мониторинг остаточной болезни; ГР — полная ремиссия; СКК — стволовые клетки крови; ТСКК — трансплантация стволовых клеток крови.



Приложение 2. Схема протокола ОЛЛ-2012. Ата-С — цитарабин; Д — день; МолПР — молекулярная полная ремиссия; ТГСК — трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; 6-МП — 6-меркаптопурин.

1. ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения России (n = 59).
2. ФГБУ «Калужская областная клиническая больница» (n = 1).
3. ФГБУ «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови ФМБА» (n = 2).
4. ГБУЗ НО «Нижегородская областная клиническая больница им. Н. А. Семашко» (n = 3).
5. ГБУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер № 1» (n = 1).
6. ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Министерства здравоохранения России (n = 1).
7. ГБУЗ Республики Мордовия «Республиканская клиническая больница № 4» (n = 1).

Приложение 3. Центры проведения исследования (n — число больных, включенных в исследование).