



МИЕЛОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

MYELOID TUMORS

Эффективность химиотерапии у больных острыми лейкозами с резистентностью к предшествующему стандартному лечению по данным серийного измерения уровня экспрессии гена *WT1*

Efficacy of Chemotherapy in Acute Leukemia Patients Resistant to Previous Standard Treatment According to the Series Measurement of *WT1* Gene Expression

Н.Н. Мамаев, Я.В. Гудожникова, Т.Л. Гиндина, И.М. Бархатов, А.И. Шакирова, В.А. Катерина, М.В. Губина, Е.С. Николаева, Е.В. Семенова, О.В. Паина, Е.И. Дарская, О.В. Пирогова, В.В. Порунова, И.С. Моисеев, И.А. Михайлова, Б.И. Аюбова, В.М. Кравцова, С.Н. Бондаренко, Л.С. Зубаровская, Б.В. Афанасьев

NN Mamaev, YaV Gudozhnikova, TL Gindina, IM Barkhatov, AI Shakirova, VA Katerina, MV Gubina, ES Nikolaeva, EV Semenova, OV Paina, EI Darskaya, OV Pirogova, VV Porunova, IS Moiseev, IA Mikhailova, BI Ayubova, VM Kravtsova, SN Bondarenko, LS Zubarovskaya, BV Afanas'ev

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197022

IP Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 6/8 L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197022

РЕФЕРАТ

Цель. Оценить эффективность химиотерапии при резистентности к стандартному лечению у больных острыми лейкозами по данным серийного измерения уровня экспрессии гена *WT1*.

Материалы и методы. С помощью серийного измерения уровня экспрессии гена *WT1* оценена эффективность индукционных курсов химиотерапии у 31 больного (лиц мужского пола — 15, женского — 16, возраст от 3 мес. до 68 лет, медиана 28 лет) с прогностически неблагоприятными вариантами острых миелоидных и лимфобластных лейкозов (23 с ОМЛ, 8 с ОЛЛ). Уровень экспрессии гена *WT1* до начала химиотерапии и через 2–3 нед. после ее завершения определяли методом количественной ПЦР в реальном времени. Пороговым уровнем было 250 копий гена *WT1* на 10^4 копий гена *ABL*. Цитогенетический профиль лейкозных клеток оценивали в динамике методами стандартной цитогенетики и флуоресцентной *in situ* гибридизации.

Результаты. Исходный уровень экспрессии гена *WT1* варьировал от 305 до 58 569 копий/ 10^4 копий *ABL*. Ожидаемое снижение уровня экспрессии гена *WT1* после первого индукционного курса химиотерапии было отмечено у 22 (96 %) из 23 больных ОМЛ и у 6 (75 %) из 8 — с ОЛЛ. По нашим данным, экспрессия *WT1* достигла порогового уровня у 13 (42 %) из 31 пациента, в т. ч. у 9 с ОМЛ и 4 с ОЛЛ. После второго курса химиотерапии у 11/31 (35 %) больных нормализация уровня этого молекулярного маркера была зарегистрирована еще у 8 пациентов (5 с ОМЛ, 3 с ОЛЛ). Несмотря на использование высокодозной химиотерапии, ТГСК и таких современных препаратов, как блинатумомаб и гемтузумаб, у

ABSTRACT

Aim. To estimate the efficacy of chemotherapy in acute leukemia patients resistant to previous standard treatment according to the series measurement of *WT1* expression.

Materials & Methods. The series measurement of *WT1* expression formed the basis of the efficacy estimation of induction chemotherapy in 31 patients (15 men and 16 women aged from 3 months to 68 years; the median age was 28 years) with prognostically unfavourable variants of acute myeloid (AML) and lymphoblastic leukemia (ALL) (23 AML and 8 ALL patients). The *WT1* gene expression was measured at baseline and 2–3 weeks after the treatment by the quantitative real-time PCR. The threshold level for detection was 250 copies of *WT1*/ 10^4 copies of *ABL*. The cytogenetic profile of leukemia cells was assessed by standard cytogenetics and FISH.

Results. The baseline expression level of *WT1* varied from 305 to 58,569 copies/ 10^4 copies of *ABL*. The expected reduction of *WT1* expression after the first induction chemotherapy treatment was reported in 22/23 (96 %) AML patients and in 6/8 (75 %) ALL patients. According to our results *WT1* expression reached the threshold in 13/31 (42 %) patients, including 9 AML patients and 4 ALL patients. After 11/31 (35 %) patients received the second course of treatment, *WT1* expression level became normal in 8 cases (5 ALL and 3 AML patients). Despite high dose chemotherapy, HSCT and such agents as blinatumomab and gemtuzumab, an unfavourable outcome was observed in 18/31 (58 %) patients including 6 patients with complex karyotype (CK+) and 2 patients with monosomal karyotype (MK+). Once the MK+ and CK+ combination was observed, in another case

18 (58 %) из 31 больного исход заболевания был неблагоприятным. Среди них было 6 пациентов со сложным кариотипом (СК+) и 2 — с моносомным кариотипом (МК+). В 1 наблюдении имела место комбинация МК+ и СК+, а в другом — МК+ и прогностически неблагоприятная инверсия inv(3)(q21q26).

Заключение. Лечение прогностически неблагоприятных острых лейкозов целесообразно проводить в условиях молекулярного мониторинга. Ген *WT1* — наиболее подходящий для этого маркер. Его экспрессия коррелирует с наиболее известными слитными генами, и на молекулярном уровне создаются условия для количественной оценки содержания бластных клеток в анализируемых тканях.

Ключевые слова: острые лейкозы, индукционная химиотерапия, молекулярный мониторинг, ген *WT1*.

Получено: 18 августа 2017 г.

Принято в печать: 12 ноября 2017 г.

Для переписки: Николай Николаевич Мамаев, д-р мед. наук, профессор, ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197022; тел.: +7(812)233-12-43; e-mail: nikmamaev524@gmail.com

Для цитирования: Мамаев Н.Н., Гудожникова Я.В., Гиндина Т.Л. и др. Эффективность химиотерапии у больных острыми лейкозами с резистентностью к предшествующему стандартному лечению по данным серийного измерения уровня экспрессии гена *WT1*. Клиническая онкогематология. 2018;11(1):78–88.

DOI: 10.21320/2500-2139-2018-11-1-78-88

the MK+ was combined with the prognostically unfavourable inv(3)(q21q26) inversion.

Conclusion. Our results show that the molecular monitoring should be included as part of treatment of the prognostically unfavourable acute leukemia. The *WT1* gene was shown to be the most appropriate marker. *WT1* expression was shown to correlate with the common fusion genes allowing to estimate the blast cell count at the molecular level.

Keywords: acute leukemia, induction chemotherapy, molecular monitoring, *WT1*.

Received: August 18, 2017

Accepted: November 12, 2017

For correspondence: Nikolai Nikolaevich Mamaev, PhD, Professor, 6/8 L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197022; Tel.: +7(812)233-12-43; e-mail: nikmamaev524@gmail.com

For citation: Mamaev NN, Gudozhnikova YaV, Gindina TL, et al. Efficacy of Chemotherapy in Acute Leukemia Patients Resistant to Previous Standard Treatment According to the Series Measurement of *WT1* Gene Expression. Clinical oncohematology. 2018;11(1):78–88.

DOI: 10.21320/2500-2139-2018-11-1-78-88

ВВЕДЕНИЕ

Как известно, ген Wilms' tumor (*WT1*) имеет сложную структуру и находится на коротком плече хромосомы 11 в локусе 11p13. Он ответствен за различные варианты транскрипции и наделен множеством регуляторных функций [1–4]. Факт повышенной экспрессии гена *WT1* при острых лейкозах (ОЛ) был установлен вскоре после его открытия [5, 6], а повышенный интерес исследователей к этому гену объясняется несколькими моментами. Во-первых, уровень гена *WT1* неплохо отражает экспрессию специфических слитных генов [1, 7–12], причем темп его нарастания и снижения значительно опережает последние [1]. Во-вторых, изучение уровня экспрессии гена *WT1* в молекулярной биологии дает возможность количественного определения бластных элементов в тестируемых тканях [1, 4, 9, 13]. Становится ясным, что с помощью простого подхода открывается реальная перспектива обеспечения мониторинга эффективности лечения у подавляющего числа больных ОЛ, включая тех, кто не имеет специфических слитных молекулярных маркеров. В дополнение к этому появились важные данные о сниженном по сравнению с патологическими клетками уровне экспрессии гена *WT1* в нормальных незрелых кроветворных элементах [1], что дало дополнительные шансы для достоверного их разграничения.

До настоящего времени такой подход чаще использовался для диагностики минимальной остаточной болезни после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) [1, 4, 8–22], а также для раннего распознавания рецидивов ОЛ [4, 9, 23–29]. В то же время исследований, посвященных оценке эффективности индукционных курсов химиотерапии, недостаточно [4, 14, 30–37].

В настоящей работе представлены данные, полученные в ходе клинической апробации возможностей использования серийного измерения уровня экспрессии гена *WT1* для оценки эффективности химиотерапии у больных ОЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось в клиниках ФГБУ ВО «Первый СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ с августа 2016 г. по октябрь 2017 г. Всего включен 31 пациент в возрасте от 3 мес. до 68 лет, медиана 28 лет (табл. 1 и 2). У 23 из них установлен острый миелоидный лейкоз (ОМЛ; см. табл. 1), у 8 — острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ; см. табл. 2). Уровень экспрессии гена *WT1* до начала терапии и через 2–3 нед. после ее окончания определяли методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с заранее определенным поро-

говым уровнем экспрессии гена *WT1*, установленным как 250 копий/ 10^4 копий гена *ABL*. Кроме того, у всех больных оценивался в динамике цитогенетический профиль лейкозных клеток методами стандартной цитогенетики и флюоресцентной гибридизации *in situ*, включая многоцветную FISH, а также процентное содержание бластных клеток в костном мозге.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Общая характеристика больных

Исходный уровень экспрессии гена *WT1* в исследуемой когорте больных (рис. 1 и 2; см. табл. 1 и 2) варьировал от 305 до 58 569 копий/ 10^4 копий *ABL*. После первого курса индукционной химиотерапии ожидаемое

Таблица 1. Динамика уровня экспрессии гена *WT1* и содержания бластных клеток в костном мозге до и после индукционной химиотерапии у больных с прогностически неблагоприятными вариантами острых миелоидных лейкозов

Пациент №	Возраст (лет), пол	FAB- вариант ОМЛ	Кариотип	Уровень экспрессии <i>WT1</i> , копии/ 10^4 копий <i>ABL</i> (бластные клетки костного мозга, %)			Вид ТГСК	Общая выживаемость на 1.10.17, дни
				Исходный	После терапии	Изменения, log		
1	55, М	M0	46,Y, der(X)t(X;3)(p22.1;q26), der(3)t(3;8)(q26;q24), der(8)t(X;8)(p22.1;q24)[5]/47, idem, +4, der(4)t(4;13)(q21;q?)x2, -13, der(16)t(4;16)(q21;q22), +22[13]/47, idem, der(2)t(2;8)(q37;q21)[2]	58 569 (70,2)	826 (5,8) 203 (2,4)	> 2	Р/с	211*, П
2	41, М	M5	46,XY, t(6;12)(q12;p12), der(12)t(6;12)t(1;12)(p34;q24), add(18)(q23)[2]	44 106 (66,8)	784 (72,2)	> 2	—	67*
3	26, Ж	M2	46,XX[20]	24 648 (74,4)	4221 (54,0)	> 2	—	87*, П
4	3, М	M2	47,XY, del(1)(q21q25), +15, t(16;21)(q24;q22), der(18)t(1;18)(q3?2;q2?3)[19]/47, idem, inv(9)(p12q13)[1]	14 373 (39,2)	3278 (85,6) 12 (3,6)	> 1 < 2	Гапло	327+
5	8, М	M2	46,XY[20]	14 070 (27,8)	8 (2,8) 8 (0,8)	> 3 < 4	—	192+
6	59, Ж	M1	46,XX[20]	14 029 (33,6)	3207 (2,8)	> 1 < 2	—	241*
7	39, М	M4	46,XY[20]	12 667 (85,0)	1581 (81,8)	< 1	—	35+
8	23, Ж	M0	45,XX, inv(3)(q21q26), -7[15]	11 810 (84,0)	11 098 (50,8)	0		133*, П
9	15, Ж	M3	46,XX, t(15;17)(q24;q21)[15]	11 680 (70,0)	17 (0,4) 9 (1,2)	> 1 < 2		354+
10	35, Ж	M3	46,XX, del(9)(q22q34), t(15;17)(q24;q21)[14]/46, idem, inv(3)(p21q2?6)[2]/46,XX[4]	10 853 (25,0)	4 (0,6)	> 1 < 2		168*
11	68, М	M5	46,XY[20]	10 373 (93,0)	3633 (11,2) 913 (6,4)	< 1		314+
12	68, Ж	M0	45,XX, t(1;14)(p36.1;q32), t(3;8)(q26;q24), -7[19]/46,XX, t(1;14)(p36.1;q32), -7, +21[1]	9886 (79,8)	8456 (29,0) 2151 (29,0)	< 1		49*, П
13	26, Ж	M1	46,XX[20]	7494 (81,4)	2433 (65,5)	< 1		48*, И
14	32, М	M0	46,XX, 9qh+[20]	7260 (83,0)	12 801 (12,0)	> 1 < 2		131*, П, И
15	31, М	M5	46,XY, del(11)(q22)[6]/46,XY[14]	5362 (8,2)	240 (0)	> 1 < 2	Нр/с	185+
16	30, Ж	M0	46,XX[30]	4529 (18,8)	32 (3,2) 1 (1,0)	< 1	Р/с	314+
17	31, Ж	M4	44,XX, t(2;3)(p23;q26), der(5)del(5)(q11q13)t(5;12)(q31;q24), -7, der(12)del(12)(p11p13)del(12)(q11q13)t(12;17)(q24;q11), der(13)t(13;17)(q34;q21)ins(13;5)(q34;q13q?), -16, der(17)t(7;17)(p15;p?)t(16;17)(q?:?), der(17)t(7;17)(q11;q21)[14]/44, idem, del(7)(q22)[6]	3458 (38,8)	1512 (23,6) 1169 (90,4)	< 1 < 1	—	89*, П
18	17, Ж	M5	47,XX, +8[2]/47, idem, t(X;11)(q22;p15)[6]/46,XX[12]	3367 (30,8)	17 (2,4) 693 (62,0)	> 1 < 2 > 1 < 2	Гапло	314+
19	19, М	M2	46,XY, t(8;21)(q22;q22)[3]/46,XY[17]	2541 (21,0)	14 (1,2)	< 1	—	214*
20	32, М	M1	46,XY, der(9)t(9;11)(p22;q23)del(9)(q22q34), der(11)t(9;11)[4]/47, idem, +der(17)[10]/46,XY[6]	1102 (75,6)	28 (0)	> 1 < 2	Гапло	32+
21	34, Ж	M0	46,XX[20]	837 (35,4)	91 (0,6) 6466 (22,40)	< 1	Гапло	110* П, И
22	68, Ж	M0	47,XX, +8[10]/48, idem, +21[2]/46,XX[8]	681 (59,8)	8988 (63,6)	> 1 < 2	—	29*
23	59, Ж	M4	47,XX, +11[3]/46,XX[19]	305 (13,6)	234* (15,8)	< 1	Нр/с	97+

Гапло — гаплоидентичная ТГСК; Ж — женский; И — инфекционные осложнения; М — мужской; Нр/с — неродственная совместимая ТГСК; П — прогрессирование; Р/с — родственная совместимая ТГСК; РТПХ — реакция «трансплантат против хозяина»; ТГСК — трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; * — низкая клеточность; + — смерть.

Таблица 2. Динамика уровня экспрессии гена *WT1* и содержания бластных клеток в костном мозге до и после индукционной химиотерапии у больных с прогностически неблагоприятными вариантами острых лимфобластных лейкозов

Пациент №	Возраст (лет), пол	Иммуно-подвариант ОЛЛ	Кариотип	Уровень экспрессии <i>WT1</i> , копии/10 ⁴ копий <i>ABL</i> (бластные клетки костного мозга, %)			Вид ТГСК	Общая выживаемость на 1.10.17, дни
				Исходный	После терапии	Изменения, log		
24	1, М	B1	47,XY, +8, t(4;11)(q21;q23)[1]/47, idem, der(X)t(X;1)(q22;p21)[5]/47,XY, +8, t(4;11), der(5)t(1;2)(q21;q37)[2]/47,XY, +8, t(4;11), der(5)t(1;5)(q21;q35)[4]/47,XY, +8, t(4;11), der(19)t(1;19)(q21;p13)[4]/47,XY, +8, t(4;11), der(20)t(1;20)(q21;q13)[5]	12 893 (94,6)	686 (1,0) 16 (41,6)	> 1 < 2	Гапло	59 ⁺
25	3 мес., М	B1	46,XY, der(1)t(1;4)(q21;q21), der(4)t(1;4)ins?(4;11), ins(11;1)(q23;q32q44)[5]/46,XY[2]	12 747 (89,6)	90 (0,6)	> 2 < 3	—	59 ⁺ , И
26	6, М	B2	46,XY[20]	3802 (82,8)	9 (2,0) 11 (2,0)	< 1	—	390 ⁺
27	4, М	B1	46,XY[20]	2923 (44,2)	1807 (38,6) 26 (0,4)	< 1	Гапло	149 ⁺
28	50, Ж	B3	47,XX, t(4;11)(q21;q23), +mar[3]/47,XX, +X, t(4;11)(q21;q23)[1]/46,XX[16]	2754 (55,6)	4485* (95,6)	+ < 1	—	80 ⁺
29	10, М	T2	46,XY, t(3;10)(p13;p13), del(5)(q13), del(17)(p11)[12]/46,XY[3]	1203 (91,8)	6407* (3,0)	+ < 1	—	46 ⁺ , П
30	4, Ж	B2	46,XX, del(2)(q37), der(8)t(8;10)(p?;?), der(11)t(X;11)(q?;?), t(12;21)(p13;q22)[12]/46,XX[6]	756 (93,4)	49 (1,0)	> 1 < 2	—	170 ⁺
31	10, М	B2	46,XY, der(19)t(1;19)(q23;p13)[3]/46,XY[27]	311 (89,2)	116 (3,0) 13 (0,2)	< 1	—	412 ⁺

Гапло — гаплоидентичная ТГСК; Ж — женский; И — инфекционные осложнения; М — мужской; П — прогрессирование; ТГСК — трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; * — низкая клеточность; + — смерть.

снижение уровня экспрессии гена *WT1* было зарегистрировано у 28 (90 %) из 31 пациента, причем у 14 (43 %) он оказался ниже пороговых значений, что совпадало по времени с нормализацией числа бластных клеток в костном мозге. Среди них оказались больные с t(15;17)(q22;q12) и t(8;21)(q22;q22), а также подростки с впервые выявленным ОЛЛ. В то же время у 1 больной с ОМЛ (№ 14) и 2 больных с ОЛЛ (№ 28 и 29) после курса проведенной химиотерапии имело место парадоксальное повышение уровня экспрессии этого молекулярного маркера. Повторный курс индукционной химиотерапии был проведен у 11 (35 %) из 31 больного. При этом дальнейшее снижение уровня экспрессии гена *WT1* или сохранение его на пороговом уровне было отмечено еще у 8 пациентов, в т. ч. у 5 с ОМЛ и 3 с ОЛЛ. В то же время у 2 больных ОМЛ (№ 18 и 21) вместо ожидаемого снижения уровня экспрессии гена *WT1* имело место его существенное повышение. Что касается темпов снижения или повышения уровня экспрессии этого молекулярного маркера в двух основных когортах больных, то на основании логарифмически обработанных данных они были сходными. В целом, несмотря на все наши усилия, в т. ч. выполнение различных типов ТГСК у 10 (32 %) из 31 больного и включение в протоколы в отдельных случаях гемтузумаба и блинатумаба, у 18 (60 %) из 31 пациента предотвратить течение заболевания с неблагоприятным исходом так и не удалось.

Острые миелоидные лейкозы

Исходный уровень экспрессии гена *WT1* у больных ОМЛ (см. табл. 1, рис. 1) варьировал от 305 до 58 569

(медиана 12 962) копий/10⁴ копий гена *ABL*. После первого курса индукционной химиотерапии по данным логарифмического анализа он снизился в разной степени у 22 пациентов, причем подпороговый уровень был достигнут у 9 из них (№ 5, 9, 10, 15, 16 и 18–21). Максимальное снижение уровня экспрессии изучаемого молекулярного маркера имело место у больной № 5, а минимальное — у № 8. Второй курс химиотерапии сопровождался дальнейшим снижением этого молекулярного маркера еще у 4 пациентов (№ 1, 4, 11 и 12), причем у 2 из них (№ 1 и 4) — ниже порогового уровня. Напротив, у 2 больных (№ 18 и 20), которым также выполнена ТГСК, после второго курса химиотерапии отмечено отчетливое повышение уровня экспрессии гена *WT1*.

В качестве иллюстрации приводим краткую выписку из истории болезни пациента (№ 1), 55 лет, без предшествующего лечения, с диагнозом ОМЛ (M1-вариант FAB). Число бластных элементов в аспирате костного мозга — 70 %, при цитогенетическом исследовании которых выявлен сложный кариотип: 46,Y, der(X)t(X;3)(p22.1;q26), der(3)t(3;8)(q26;q24), der(8)t(X;8)(p22.1;q24)[5]/47,idem, +4, der(4)t(4;13)(q21;q?)x2, -13, der(16)t(4;16)(q21;q22), +22[13]/47, idem, der(2)t(2;8)(q37;q21)[2] (рис. 3).

Несмотря на неблагоприятный прогноз, первые клиничко-гематологическая и молекулярная ремиссии были достигнуты уже после первых двух курсов химиотерапии по программе «7+3Ida». В качестве консолидации использовались высокие дозы цитарабина. Далее, в связи с неблагоприятным цитогенетическим

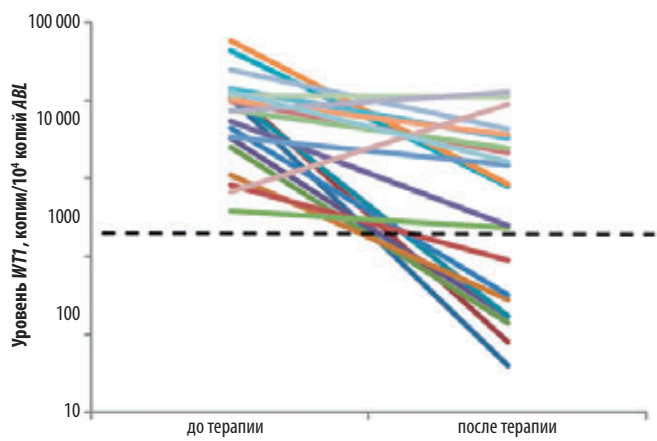


Рис. 1. Динамика уровня экспрессии гена *WT1* после индукционной химиотерапии у больных острыми миелоидными лейкозами

Fig. 1. Changes in *WT1* expression after the induction treatment of patients with acute myeloid leukemia

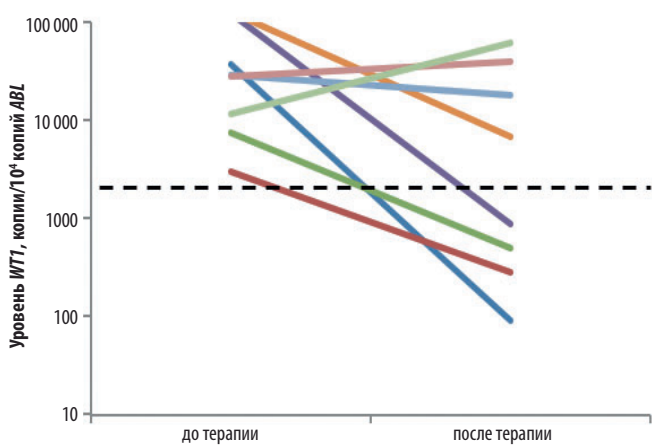


Рис. 2. Динамика уровня экспрессии гена *WT1* после индукционной химиотерапии у больных острым лимфобластным лейкозом

Fig. 2. Changes in *WT1* expression after the induction treatment of patients with acute lymphoblastic leukemia

прогнозом, а также с учетом наличия у пациента полностью HLA-совместимого брата-донора, в срочном порядке выполнена аллотГСК в оптимальные для данной категории больных сроки [38], т. е. в течение 100 дней после установления диагноза ОМЛ и начала химиотерапии. Результаты молекулярного мониторинга эффективности химиотерапии и ТГСК представлены в табл. 3. Они показывают, что исходный уровень экспрессии гена *WT1* в данном наблюдении был наивысшим (58 569 копий/10⁴ копий *ABL*) в этой когорте пациентов, что сопровождалось гиперэкспрессией гена *EVI1* (35 %) и мутантным удвоением гена *FLT3* (*FLT3/ITD*). Однако на фоне проведенной химиотерапии уровень экспрессии гена *WT1* ступенчато снизился до 49 копий, что отчетливо соответствовало низкому содержанию бластных клеток и выявленной в те же сроки полной нормализации кариотипа. Несмотря на явный успех химиотерапии и родственной ТГСК, выполненной в оптимальные сроки, первые посттрансплантационные цитогенетический и молекулярный рецидивы имели место уже на 55-й день после трансплантации, когда содержание бластных клеток в костном мозге еще не было увеличенным. Следует отметить, что при рецидиве уровень экспрессии гена *WT1* увеличился только до 262 копий/10⁴ копий *ABL*. Что касается морфологического рецидива

ОМЛ, то из-за крайней скудности костного мозга подтвердить его долго не удавалось, а все предпринятые позднее попытки стабилизировать патологический процесс с помощью химиотерапии и повторной ТГСК от того же сиблинга к успеху не привели. Больной скончался через 211 дней после постановки диагноза, на 99-й день после ТГСК. Основная причина смерти — полная резистентность к проводимой химиотерапии и отсутствие эффекта повторной родственной трансплантации.

У 4 других больных ОМЛ с резистентностью (№ 2, 4, 12 и 17; см. табл. 1) и сложным кариотипом (СК+) исходный уровень экспрессии гена *WT1* был высоким (44 106 копий/10⁴ копий *ABL*) или промежуточным (14 373, 9886 и 3458 копий). В то же время содержание бластных клеток в костном мозге у них составляло 66,8, 39,2, 79,8 и 38,8 % соответственно. В 1 из этих наблюдений (№ 2) второй индукционный курс химиотерапии из-за тяжести состояния провести не удалось. Летальный исход констатирован на 67-й день от начала терапии. Реакция опухолевых клеток на второй индукционный курс химиотерапии у 2 больных (№ 4 и 17) была разноплановой. В частности, высокодозная химиотерапия (ВДХТ) по протоколам FLAGMito и GO-LDAraC/Etoposide GO/Cl-AraCA не дала эффекта в 1 наблюдении (№ 17). Больная имела в бластных клетках

Таблица 3. Динамика изменений уровня экспрессии гена *WT1*, цитогенетического профиля и содержания бластных клеток у пациента с ОМЛ (M1-вариант FAB) и исходным сложным кариотипом

Дата	Уровень экспрессии <i>WT1</i> , копии /10 ⁴ копий <i>ABL</i>	Кариотип	Бластные клетки костного мозга, %
12.10.16	58 569	46,Y, der(X)t(X;3)(p22.1;q26), der(3)t(3;8)(q26;q24), der(8)t(X;8)(p22.1;q24)[5]/47, idem, +4, der(4)t(4;13)(q21;q?)x2, -13, der(16)t(4;16)(q21;q22), +22[13]/47, idem, der(2)t(2;8)(q37;q21)[2]	70,2
08.11.16	826	46,Y, der(X)t(X;3)(p22.1;q26), der(3)t(3;8)(q26;q24), der(8)t(X;8)(p22.1;q24)[7]/47, idem, +4, der(4)t(4;13)(q21;q?)x2, -13, der(16)t(4;16)(q21;q22), +22[2]/46,XY[11]	5,8
08.12.16	203	46,Y, t(X;3)(p22.1;q26)[2]/46,XY[18]	3,0
10.01.17	49	46,XY[20]	3,0
28.02.17	28	46,XY[20]	2,6
28.03.17	262	46,Y, der(X)t(X;3)(p22.1;q26), der(3)t(3;8)(q26;q24), der(8)t(X;8)(p22.1;q24)[2]/46,XY[18]	0
07.05.17		Летальный исход	

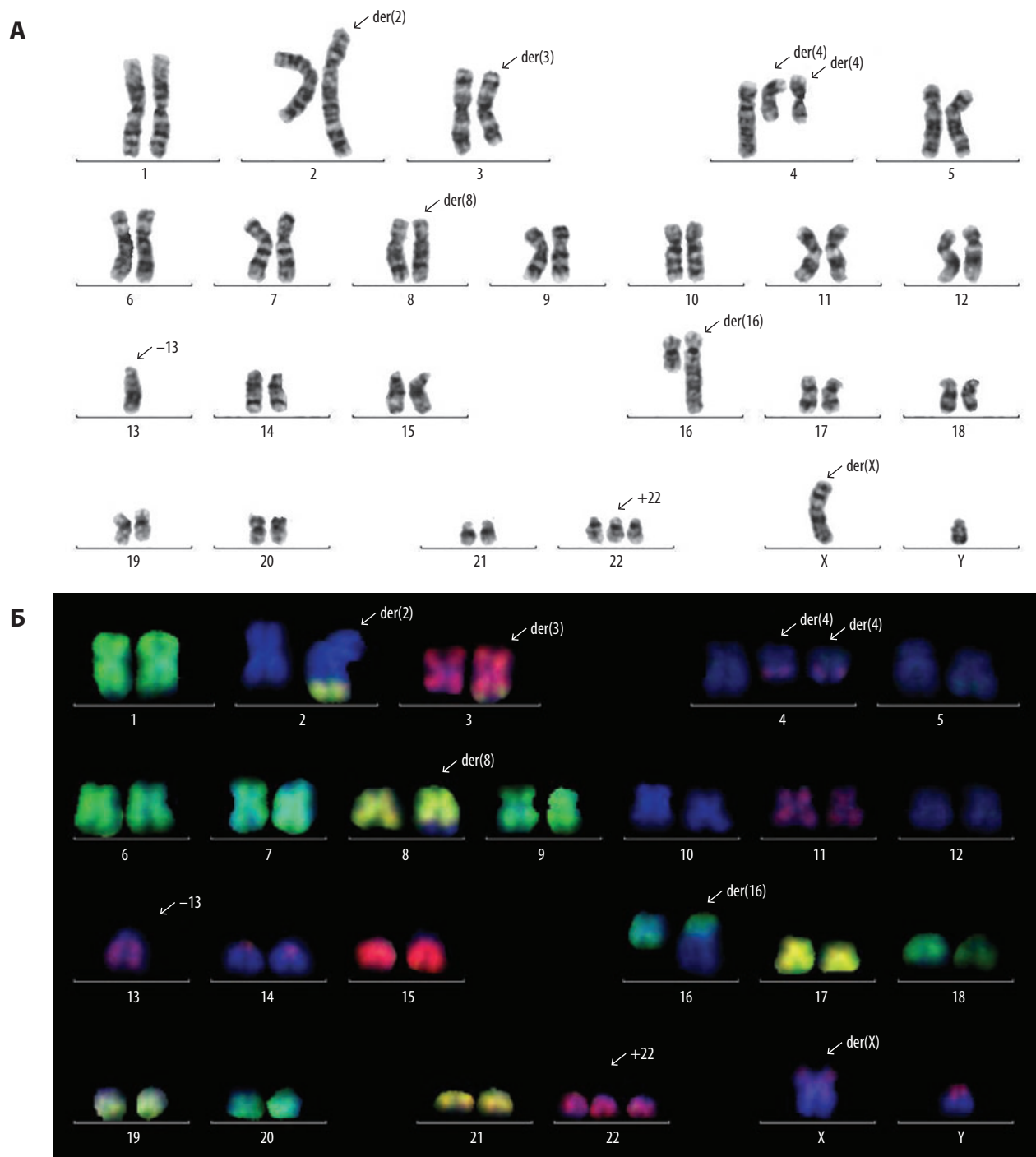


Рис. 3. Кариограммы бластных клеток пациента с M1-вариантом ОМЛ *de novo* (№ 1), иллюстрирующие сложный кариотип с несбалансированными транслокациями, образованием нескольких дериватов хромосом [der(X)t(X;3) , der(2)t(2;8) , der(3)t(3;8) , der(8)t(X;8) , der(4)t(4;13) , der(16)t(4;16)] и трисомией 22

А — GTG-бэндинг; Б — многоцветная FISH

Fig. 3. Blast cell karyograms in patient with the M1 variant of AML *de novo* (No. 1), demonstrating a complex karyotype with unbalanced translocations, several chromosome derivatives [der(X)t(X;3) , der(2)t(2;8) , der(3)t(3;8) , der(8)t(X;8) , der(4)t(4;13) , der(16)t(4;16)] and trisomy 22

А — GTG-banding; Б — multicolor FISH

не только сложно перестроенный, но и одновременно гиподиплоидный кариотип. После терапии уровень экспрессии гена *WT1* в этом наблюдении (№ 17) снизился только до 1512 копий, а степень бластной инфильтрации костного мозга практически стала тотальной.

Результаты лечения другой больной с диагнозом ОМЛ M0 (№ 12) оказались хуже. Опухолевые элементы имели не только сложный, но и моносомный кариотип (МК+). Клинически у больной констатирована абсо-

лютная резистентность к химиотерапии с включением гемтузумаба. По нашим данным, экспрессия гена *WT1* после первого и второго курсов химиотерапии оставалась на уровне 8455 и 2151 копия/10⁴ копий *ABL*. В то же время содержание бластных клеток в костном мозге на обоих этапах лечения было умеренно повышенным (29 %). Из этого следует, что два курса химиотерапии по протоколу «5+2» с гемтузумабом не привели к достижению молекулярной, цитогенетической и морфологической ремиссий. В свою очередь,

данное обстоятельство не только способствовало естественному течению заболевания с прогрессированием, но и быстро привело к летальному исходу.

Полные цитогенетическая, молекулярно-биологическая и морфологическая ремиссии при ОМЛ СК+ получены лишь у одного ребенка 2 лет. Лечение проводилось по протоколу МетА. В пользу достижения ремиссии убедительно свидетельствовала не только нормализация кариотипа и содержания бластных клеток в костном мозге (3,2 %), но и дальнейшее понижение уровня экспрессии гена *WT1* до 12 копий. Однако, в силу того, что исходные цитогенетические и клинические характеристики у данного ребенка имели неблагоприятное прогностическое значение, для закрепления достигнутого эффекта ему была выполнена гаплоидентичная ТГСК. В качестве донора стволовых клеток выступил отец. В целом трансплантация проведена успешно. Пациент остается под наблюдением гематологов дневного стационара НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой. Продолжительность жизни ко времени оформления настоящей работы составила 299 дней.

Заслуживает также внимания проведенное в условиях молекулярного мониторинга лечение 2 больных острым промиелоцитарным лейкозом (ОПЛ). У одной из них (№ 10) речь шла о наличии в кариотипе дополнительных к стандартной транслокации $t(15;17)(q24;q22)$ повреждений хромосом 9 и 3, что может определять неблагоприятный прогноз. При этом исходный уровень экспрессии гена *WT1* был равен 10863 копиям/ 10^4 копий *ABL*, хотя содержание бластных клеток в костном мозге (25 %) расценивалось как минимальное. Гемтузумаб в дозе 3 мг/м² применялся на фоне ВДХТ по протоколу НАМ в сочетании с ретиноевой кислотой. Поначалу такая комбинация казалась успешной. В этом убеждало, в частности, снижение у больной до порогового уровня экспрессии гена *WT1* и до минимальных цифр (0,6 %) числа бластных клеток в костном мозге. С этим совпало по времени также исчезновение всех основных цитогенетических и молекулярных признаков ОПЛ. Между тем новый виток повышения уровня экспрессии гена *WT1* был зафиксирован вскоре, хотя нарастание числа бластных клеток в костном мозге произошло позднее. Больная скончалась 22.05.17 при наличии всех основных лабораторных признаков, подтверждающих прогрессирование ОПЛ.

У другой больной с впервые выявленным ОПЛ (№ 9) заболевание отличалось более легким течением. В кариотипе опухолевых клеток присутствовала та же транслокация $t(15;17)(q24;q22)$, но она не была отягощена никакими другими дополнительными хромосомными изменениями. В итоге полные цитогенетическую, молекулярную и морфологическую ремиссии удалось достичь уже после первого курса индукционной химиотерапии по протоколу AIDA. В результате уровень экспрессии гена *WT1* снизился до 17 копий/ 10^4 копий *ABL* и сохранился на уровне 9 копий после второго закрепляющего курса. При этом число бластных клеток в костном мозге в контрольных точках оказалось равным 0,4 и 1,2 % соответственно.

В отличие от перечисленных выше у 2 других рано умерших пациентов (№ 13 и 21) после курсов химиотерапии, дополненных ТГСК, никаких цито-

генетических нарушений в кариотипе, так же как и ухудшающих прогноз молекулярных маркеров, не обнаружено. Исходные уровни экспрессии гена *WT1*, равные 7494 и 837 копий/ 10^4 копий *ABL*, могли быть расценены соответственно как промежуточный или низкий, чему соответствовало и разное количество бластных элементов в костном мозге (81,4 и 35,4 %). Этим больным проведены курсы ВДХТ по протоколам FLAG и GO/FLAG-Ida, а затем — ТГСК. В первом наблюдении отмеченное вначале снижение экспрессии гена *WT1* задержалось на уровне 2433 копии/ 10^4 копий *ABL*. При этом количество бластных клеток в костном мозге уменьшилось всего до 65,5 %. Во втором наблюдении уровень экспрессии гена *WT1*, так же как и число бластных клеток в костном мозге, по сравнению с исходными уровнями увеличились до 6466 копий/ 10^4 копий *ABL* и 22,4 % соответственно. Неудивительно, что ТГСК, выполненная на фоне прогрессирования заболевания, оказалась безуспешной.

Наконец, у 4 пациентов (№ 19, 20, 18 и 22) после ВДХТ ремиссия не достигнута. У 1 из них (№ 19) в кариотипе имела место стандартная транслокация $t(8;21)(q22;q22)$, а у другого (№ 20) — промежуточной прогностической значимости транслокация $t(9;11)$, дополненная другими изменениями кариотипа. У 2 из 4 пациентов (№ 18 и 22) имел место гипердиплоидный кариотип с модальным числом хромосом (47), связанным с трисомией 8 или 11. Во всех этих наблюдениях исходный уровень экспрессии гена *WT1* можно расценивать как промежуточный (3382, 2541 и 1102 копии/ 10^4 копий *ABL*) или низкий (305 копий). У 1 из этих пациентов (№ 18) наличие в клетках гипердиплоидного кариотипа с трисомией 8 в части из них было осложнено появлением не частой транслокации $t(X;11)$. Индукционная химиотерапия в этом наблюдении сопровождалась временным снижением уровня экспрессии гена *WT1* (с 3387 до 17 копий/ 10^4 копий *ABL*), а также уменьшением содержания бластных клеток в костном мозге (с 30,8 до 2,4 %). Однако выполненные позже контрольные исследования позволили вновь обнаружить повышение как уровня экспрессии гена *WT1* до 693 копий, так и содержания бластных элементов в костном мозге (62 %). Это давало все основания предположить развитие рецидива лейкоза. Наконец, у 2 последних пациентов этой группы на фоне индукционной терапии уровень экспрессии гена *WT1* уменьшился ниже порогового значения. У одного из них на фоне низкой клеточности костного мозга содержание бластных клеток было повышено до 15,8 %, что гипотетически могло быть связано не с прогрессированием лейкоза, а с временной регенерацией кроветворения.

Острый лимфобластный лейкоз

В группу ОЛЛ с различными иммунологическими и цитогенетическими подвариантами заболевания включено 8 пациентов (см. табл. 2). Среди них было 6 мужчин и 2 женщины в возрасте 1–50 лет (медиана 11 лет). Уровень экспрессии гена *WT1* до начала химиотерапии находился в пределах 12–893–311 (медиана 4673,6) копий/ 10^4 копий *ABL*. Содержание бластных клеток в костном мозге варьировало от 44,2 до 94,6 % (медиана 80,2 %). После первого индукци-

онного курса химиотерапии уровень экспрессии гена *WT1* снизился у 6 (75 %) из 8 пациентов, причем у 4 (№ 25, 26, 30 и 31) — ниже порогового уровня. После второго курса индукционной химиотерапии нормализация уровня этого молекулярного маркера имела место еще у 2 пациентов (№ 24 и 27). Напротив, у 2 других больных (№ 28 и 29), в т. ч. у 1 с Т-клеточной лимфомой и лейкозным составом костного мозга (№ 29), уровень экспрессии гена *WT1* превысил исходный в несколько раз. Следует отметить, что в последнем случае содержание бластных клеток в костном мозге не увеличивалось. Это указывает либо на несовпадение по времени развития молекулярного и морфологического рецидивов [1, 8, 11, 21, 39], либо на экстрамедуллярную его природу.

Представил интерес анализ динамики изменений уровня экспрессии гена *WT1* у отдельных больных ОЛЛ. Так, у ребенка в возрасте 12 мес. (№ 24) с диагнозом врожденного пре-В ОЛЛ с прогностически неблагоприятной транслокацией t(4;11), клинические и цитогенетические данные которого были недавно опубликованы [40], исходный уровень экспрессии гена *WT1* равнялся 502 копиям/10⁴ копий *ABL*. При этом содержание бластных клеток в костном мозге достигало 89 % (см. табл. 2). На фоне введения блинатумомаба число бластных элементов в костном мозге снизилось до 62 %. В то же время уровень экспрессии гена *WT1* увеличился до 801 копии/10⁴ копий *ABL*. Выполненная в данной ситуации гаплоидентичная родственная ТГСК не только не привела к успеху, но и совпала с прогрессированием опухоли. Основанием для такого вывода послужило отмеченное повышение уровня экспрессии гена *WT1* до 12 893 копий/10⁴ копий *ABL*, что имело место при максимально высоком (94,6 %) числе бластных клеток в костном мозге. Использование в подобных ситуациях ВДХТ (протокол ALL17 с блоком дексаметазона) способствовало снижению и уровня экспрессии гена *WT1*, и числа бластных клеток в костном мозге. Однако достигнутый эффект оказался непродолжительным.

Как показали дальнейшие контрольные исследования через короткие промежутки времени в опухолевых клетках костного мозга (аспират) вновь были

выявлены хромосомные нарушения, причем более сложные, чем обнаруженные ранее (табл. 4). В то же время число бластных элементов в костном мозге увеличилось до 41,6 %. Здесь необходимо отметить зафиксированный нами факт частичного изменения лимфоидной природы бластных клеток на миелоидную, что в свете вовлечения в перестройки гена *MLL* неудивительно. Факт отсутствия параллельного увеличения количества бластных клеток и нарастания уровня экспрессии гена *WT1* представляется более интересным в научном плане. В частности, правомочно допущение, что под видом типичных бластных клеток в этом случае могли маскироваться другие, принадлежащие к лейкозному клону, но по какой-то причине не экспрессирующие *WT1* кроветворные элементы. По-видимому, на эту роль никак не могли претендовать промиелоциты, поскольку в клеточных популяциях, включенных в исследование больных ОПЛ, с небольшим содержанием бластных клеток в костном мозге экспрессия гена *WT1* была все же высокой.

У другой больной (№ 28) имел место такой же подвариант ОЛЛ и такой же кариотип, но с дополнительными изменениями хромосом. Исходный уровень экспрессии гена *WT1* в клетках был увеличен до 2754 копий/10⁴ копий *ABL*, а содержание бластных клеток в костном мозге нарастало (55,6 %). Немаловажно и то, что после первого курса индукционной химиотерапии экспрессия гена *WT1* не только не уменьшилась, а увеличилась до 4485 копий, чему соответствовало и параллельное нарастание числа бластных клеток в костном мозге до 95,6 %.

Такая парадоксальная реакция на химиотерапию была еще более выраженной у больной с трансформировавшейся в ОЛЛ Т-клеточной лимфомой (№ 29). Следует отметить, что число бластных клеток в костном мозге в этот момент не было повышенным, что могло объясняться экстрамедуллярным рецидивом лейкоза. Кариотип лейкозных клеток у этой больной расценивался как сложный, что по аналогии с рассмотренными ранее случаями ОМЛ могло быть основной причиной прогрессирования лейкоза и его фатального исхода.

Таблица 4. Определение в динамике уровня экспрессии гена *WT1*, цитогенетического профиля и числа бластных клеток костного мозга у больного с пре-В-клеточным ОЛЛ и t(4;11)(q21;q23)

Дата	Уровень экспрессии <i>WT1</i> , копии/10 ⁴ копий <i>ABL</i>	Кариотип	Бластные клетки в костном мозге, %
17.05.16	502	47,XY, t(4;11)(q21;q23), +8[20]	89,0
		Блинатумомаб	
28.06.16	801	48,XY, +1, t(4;11)(q21;q23), +der(4)t(4;11), +8[20]	61,8
19.07.16		Родственная гаплоТГСК	
08.08.16	12 893	47,XY, t(4;11)(q21;q23), +8[1]/47,Y, der(X)t(X;1)(p22;q21), +8[5]/47,XY, der(2)t(1;2)(q21;q37), t(4;11), +8[2]/47,XY, t(4;11), der(5)t(1;5)(q21;q35), +8[4]/47,XY, t(4;11), +8, der(19)t(1;19)(q21;p13)[4]/47,XY, t(4;11), +8, der(20)t(1;20)(q21;q14)[5]	94,6
29.08.16	68	46,XY[20]	1,0
26.09.16	16	47,XY, t(4;11)(q21;q23), +8[5]/47,Y, der(X)t(X;1)(p22;q21), t(4;11), +8[5]/47,XY, der(2)t(1;2)(q21;q37), t(4;11), +8[2]/47,XY, t(4;11), der(5)t(1;5)(q21;q35), +8[2]/47,XY, t(4;11), +8, der(19)t(1;19)(q21;p13)[1]/47,XY, t(4;11), +8, der(20)t(1;20)(q21;q14)[5]/47,XY, t(4;11), +8, der(12)t(1;12)(q21;q24)[1]/47,X, der(Y)t(1;Y)(p11;q21), t(4;11)[1]/46,XY[3]	41,2 (м-л?)
06.10.16		Летальный исход	

л — лимфоидный; м — миелоидный.

У больных ОЛЛ (№ 25 и 30) с менее выраженными изменениями кариотипа начало терапии сопровождалось промежуточным или низким уровнем экспрессии гена *WT1*, в то время как число бластных клеток в костном мозге было повышено до 89,6 и 93,4 % соответственно. При этом снижение экспрессии гена *WT1* ниже порогового уровня уже после первого курса химиотерапии служило предвестником хорошего прогноза. Аналогичная ситуация имела место еще у 1 больного с неосложненной другими изменениями хромосом транслокацией t(1;19)(q23;p13).

Наконец, у 2 детей с ОЛЛ, которые не имели никаких изменений хромосом, достигнуты полные молекулярная и морфологическая ремиссии (№ 26 и 27).

ОБСУЖДЕНИЕ

Как было показано в данной работе, когорта обследованных больных ОЛ отличалась резистентностью к проводимой ВДХТ, которая в части наблюдений дополнялась блинатумомабом, гемтузумабом и постиндукционной ТГСК. Одно из объяснений феномена резистентности клеток к химиотерапии лежит на поверхности. Дело в том, что у 6 наших пациентов имел место прогностически неблагоприятный СК+, а у 1 больной он сочетался с МК+. Кроме того, у другой больной МК+ наслаивался на прогностически неблагоприятную инверсию inv(3)(q21q26). Далее, у части наших больных были выявлены гипердиплоидный кариотип (ГК+), транслокация t(4;11) или t(15;17), осложненные дополнительными изменениями кариотипа. В свете этих данных не вызывает удивления, что реакция на ВДХТ у этих больных была ослабленной, а летальность — высокой. Исключением были дети, у которых полные цитогенетические, молекулярные и морфологические ответы в группах высокого риска достигались проще, что может быть частично связано с меньшим влиянием на показатели общей выживаемости СК+, МК+ и ГК+.

Согласно данным нашей работы, использованный для мониторинга оценки эффективности терапии ОЛ метод серийного измерения уровня экспрессии гена *WT1* оказался вполне приемлемым. В частности, в подавляющем числе наблюдений он хорошо отражает число бластных клеток в костном мозге, и на этом основании гематологам открывается реальная возможность раннего распознавания ожидаемого морфологического рецидива ОЛ. Следует отметить, что в 1 наблюдении (№ 14) высокий уровень экспрессии гена *WT1* (12 801 копия/10⁴ копий *ABL*) не подкреплялся соответствующим числом бластных элементов в костном мозге, что, вероятно, могло быть обусловлено несовпадением развития морфологического и молекулярного рецидивов во времени. В другом наблюдении повышение числа бластных клеток в костном мозге до 41,6 % и исходное наличие в них цитогенетических изменений не сопровождалось повышением уровня экспрессии гена *WT1*. Поскольку в этом наблюдении бластные клетки цитохимически более соответствовали миелоидным, можно допустить, что отсутствие ожидаемого повышения

экспрессии гена *WT1* определенным образом связано с самой природой этих бластных элементов, что, естественно, нуждается в дополнительном изучении.

Следует сказать несколько слов о наблюдавшейся нами парадоксально повышенной экспрессии гена *WT1* в ответ на индукционную терапию, которая имела место у ряда больных (№ 18, 21, 22, 28 и 29). На наш взгляд, в части этих наблюдений проведение химиотерапии и формирование новых рецидивов могли просто совпасть по времени и не были связаны с регенерацией кроветворения, при которой уровень экспрессии гена *WT1* существенно ниже, чем в опухолевых элементах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Апробированный в данной работе молекулярный метод оценки эффективности терапии резистентных форм ОЛ с помощью серийного измерения уровней экспрессии гена *WT1* — удобный, относительно дешевый в работе и поэтому может быть успешно использован в клинической практике. На наш взгляд, он пригоден для оценки как стандартной терапии, так и лечения в рамках клинических исследований, в т. ч. с использованием новых лекарственных средств. По всей вероятности, дальнейшее накопление материала в этом направлении окажет гематологам неоспоримую помощь при выборе как рациональной, так и оптимальной терапии прогностически неблагоприятных ОЛ. Кроме того, такой подход поможет оценить вклад новых таргетных препаратов в лечение резистентных форм ОЛ.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа проведена в рамках одобренной и финансируемой Министерством здравоохранения РФ клинической апробации.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: Н.Н. Мамаев, Т.Л. Гиндина.

Предоставление материалов исследования: И.М. Бархатов, А.И. Шакирова, О.В. Паина, И.А. Михайлова, В.В. Порунова, О.В. Пирогова, И.С. Моисеев, Е.И. Дарская, Е.В. Семенова, Б.И. Аюбова, В.А. Катерина, В.М. Кравцова.

Сбор и обработка данных: Я.В. Гудожникова, Т.Л. Гиндина, М.В. Губина, Е.С. Николаева.

Анализ и интерпретация данных: Н.Н. Мамаев, Т.Л. Гиндина, Я.В. Гудожникова.

Подготовка рукописи: Н.Н. Мамаев, Т.Л. Гиндина, Я.В. Гудожникова.

Окончательное одобрение рукописи: Б.В. Афанасьев, С.Н. Бондаренко.

Административная поддержка: Б.В. Афанасьев, Л.С. Зубаровская.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Cilloni D, Gottardi A, De Micheli D, et al. Quantitative assessment of WT1 expression by real time quantitative PCR may be a useful tool for monitoring minimal residual disease in acute leukemia patients. *Leukemia*. 2002;16(10):2115–21. doi: 10.1038/sj.leu.2402675.
- Hochenstein P, Hastie ND. The many facets of the Wilms' tumor gene, WT1. *Hum Mol Genet*. 2006;15(15):R196–R201. doi: 10.1093/hmg/ddl196.
- Ujj Z, Buglyo G, Udvardy M, et al. WT1 overexpression affecting clinical outcome in non-Hdglin lymphomas and adult acute lymphoblastic leukemia. *Pathol Oncol Res*. 2014;20(3):20565–70. doi: 10.1007/s12253-013-9729-7.
- Мамаев Н.Н., Гудожникова Я.В., Горбунова А.В. Гиперэкспрессия гена WT1 при злокачественных опухолях системы крови: теоретические и клинические аспекты (обзор литературы). *Клиническая онкогематология*. 2016;9(3):257–64. doi: 10.21320/2500-2139-2016-9-3-257-264.
- [Mamaev NN, Gudozhnikova YaV, Gorbunova AV. WT1 Gene Overexpression in Oncohematological Disorders: Theoretical and Clinical Aspects (Literature Review). *Clinical oncohematology*. 2016;9(3):257–64. doi: 10.21320/2500-2139-2016-9-3-257-264. (In Russ)]
- Miwa H, Beran M, Anders GF. Expression of the Wilms' tumor gene (WT1) in human leukemias. *Leukemia*. 1992;6(5):405–9.
- Bergmann L, Miething C, Maurer U, et al. High levels of Wilms' tumor gene (WT1) mRNA in acute myeloid leukemia are associated with a worse long-term outcome. *Blood*. 1997;90(3):1217–25.
- Lasa A, Carricondo M, Esteve S, et al. WT1 monitoring in core binding factor AML comparison with specific chimeric products. *Leuk Res*. 2009;33(12):1643–9. doi: 10.1016/j.leukres.2009.03.046.
- Zhao XS, Jin S, Zhu H-Y, et al. Wilms' tumor 1 gene expression: an independent acute leukemia prognostic indicator following allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2011;47(4):499–507. doi: 10.1038/bmt.2011.121.
- Мамаев Н.Н., Горбунова А.В., Гиндина Т.Л. и др. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при остром миелоидном лейкозе с транслокацией t(8;21)(q22;q22). *Клиническая онкогематология*. 2013;6(4):439–44.
- [Mamaev NN, Gorbunova AV, Gindina TL, et al. Hematopoietic Stem Cell Transplantation in AML Patients with t(8;21)(q22;q22) Translocation. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2013;6(4):439–44. (In Russ)]
- Мамаев Н.Н., Семенова Е.В., Станчева Н.В. и др. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при остром лимфобластном лейкозе с транслокацией t(12;21)(p13;q22). *Клиническая онкогематология*. 2014;7(3):327–34.
- [Mamaev NN, Semenova EV, Stancheva NV, et al. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for ALL Patients with t(12;21)(p13;q22) Translocation. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2014;7(3):327–34. (In Russ)]
- Мамаев Н.Н., Горбунова А.В., Бархатов И.М. и др. Молекулярный мониторинг течения острых миелоидных лейкозов по уровню экспрессии гена *WT1* после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Клиническая онкогематология*. 2015;8(3):309–20. doi: 10.21320/2500-2139-2015-8-3-309-320.
- [Mamaev NN, Gorbunova AV, Barkhatov IM, et al. Molecular Monitoring of WT1 Gene Expression Level in Acute Myeloid Leukemias after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Clinical oncohematology*. 2015;8(3):309–20. doi: 10.21320/2500-2139-2015-8-3-309-320. (In Russ)]
- Гиршова Л.Л., Будаева И.Г., Овсянникова Е.Г. и др. Прогностическое значение и корреляция динамики гиперэкспрессии гена *WT1* и мутации гена *NPM1* у пациентов с острым миелоидным лейкозом. *Клиническая онкогематология*. 2017;10(4):485–93. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-4-485-493.
- [Girshova LL, Budaeva IG, Ovsyannikova EG, et al. Prognostic Value and Correlation Between WT1 Overexpression and NPM1 Mutation in Patients with Acute Myeloblastic Leukemia. *Clinical oncohematology*. 2017;10(4):485–93. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-4-485-493. (In Russ)]
- Alonso-Dominquez JM, Tenorio M, Velasco D, et al. Correlation of WT1 expression with the burden of total and residual leukemic blasts in bone marrow samples of acute myeloid leukemia patients. *Cancer Genet*. 2012;205(4):190–1. (Letter to the Editor). doi: 10.1016/j.cancergen.2012.02.008.
- Cilloni D, Giuseppe S, Gottardi E, et al. WT1 as a universal marker for minimal residual disease detection and quantification in myeloid leukemias and in myelodysplastic syndrome. *Acta Hematol*. 2004;112(1–2):79–84. doi: 10.1159/000077562.
- Weisser M, Kern W, Rauhut S, et al. Prognostic impact of RT-PCR-based quantification of WT1 gene expression during MRD monitoring of acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2005;19(8):1416–23. doi: 10.1038/sj.leu.2403809.
- Cilloni D, Renneville A, Hermitte F, et al. Real-time quantitative polymerase chain reaction detection of minimal residual disease by standardized WT1 assay to enhance risk stratification in acute myeloid leukemia. *A European LeukemiaNet study*. *J Clin Oncol*. 2009;27(31):5195–201. doi: 10.1200/jco.2009.22.4865.
- Ostergaard M, Olesen LH, Hasle H, et al. WT1 gene expression: an excellent tool for monitoring minimal residual disease in 70% of acute myeloid leukemia patients – results from a single-centre study. *Br J Haematol*. 2004;125(5):590–600. doi: 10.1111/j.1365-2141.2004.04952.x.
- Candoni A, Toffoletti E, Gallina R, et al. Monitoring of minimal residual disease by quantitative WT1 gene expression following reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation in acute myeloid leukemia. *Clin Transplant*. 2011;25(2):308–16. doi: 10.1111/j.1399-0012.2010.01251.x.
- Rossi G, Minervini MM, Carella AM, et al. Comparison between multiparameter flow cytometry and WT1 RNA quantification in monitoring minimal residual disease in acute myeloid leukemia without specific molecular targets. *Leuk Res*. 2011;36(4):401–6. doi: 10.1016/j.leukres.2011.11.020.
- Kwon M, Martinez-Laperche C, Infante M, et al. Evaluation of minimal residual disease by real-time quantitative PCR of Wilms' Tumor 1 expression in patients with acute myelogenous leukemia after allogeneic stem cell transplantation: Correlation with flow cytometry and chimerism. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012;18(8):1235–42. doi: 10.1016/j.bbmt.2012.01.012.
- Nomdedeu JF, Esquirol A, Carricondo M, et al. Bone marrow WT1 levels in allogeneic hematopoietic stem cell transplant (HCT) for acute myeloid leukemia and myelodysplasia: Clinically relevant time-points and 100 copies threshold value. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018;24(1):55–63. doi: 10.1016/j.bbmt.2017.09.001.
- Ogawa H, Tamaki Y, Ikegame K, et al. The usefulness of monitoring WT1 gene transcripts for the prediction of relapse following allogeneic stem cell transplantation in acute type leukemia. *Blood*. 2003;101(5):1698–704. doi: 10.1182/blood-2002-06-1831.
- Ommen HB, Nyvold CG, Braendstrup K, et al. Relapse prediction in acute myeloid leukemia patients in complete remission using WT1 as a molecular marker: development of a mathematical model to predict time from molecular to clinical relapse and define optimal sampling intervals. *Br J Haematol*. 2008;141(6):782–91. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07132.x.
- Lange T, Hubmann M, Burkhardt R, et al. Monitoring of WT1 expression in PB and CD34+ donor chimerism of BM predicts early relapse in AML and MDS patients after hematopoietic cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Leukemia*. 2011;25(3):498–505. doi: 10.1038/leu.2010.283.
- Pozzi S, Gheraldi S, Tedfene E, et al. Leukemia relapse after allogeneic transplants for acute myeloid leukemia: predictive role of WT1 expression. *Br J Haematol*. 2013;160(4):503–9. doi: 10.1111/bjh.12181.
- Yoon JH, Kim HJ, Shin SH, et al. BAALC and WT1 expressions from diagnosis to hematopoietic stem cell transplantation: consecutive monitoring in adult patients with core-binding-factor-positive AML. *Eur J Haematol*. 2013;91(2):112–21. doi: 10.1111/ejh.12142.
- Yoon JH, Kim HJ, Kim JW, et al. Identification of molecular and cytogenetic risk factors for unfavorable core-binding factor-positive adult AML with post-remission treatment outcome analysis including transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2014;49(12):1466–74. doi: 10.1038/bmt.2014.180.
- Messina C, Sala E, Carraba M, et al. Early post-allogeneic transplantation WT1 transcript positivity predicts AML relapse. *Bone Marrow Transplant*. 2015;50(S1):236–7. doi: 10.1038/bmt.2015.29.
- Boublikova L, Kalinova M, Ryan J, et al. Wilms' tumor gene 1 (WT1) expression in childhood acute lymphoblastic leukemia: a wide range of WT1 expression levels, its impact on prognosis and minimal residual disease monitoring. *Leukemia*. 2006;20(2):254–63. doi: 10.1038/sj.leu.2404047.
- Lapillonne H, Renneville A, Auvrignon A, et al. High WT1 expression after induction therapy predicts high risk of relapse and death in pediatric acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2006;24(10):1507–15. doi: 10.1200/jco.2005.03.5303.
- Busse A, Gokbuget N, Sechl JM, et al. Wilms' tumor gene 1 (WT1) expression in subtypes of acute lymphoblastic leukemia (ALL) of adults and impact on clinical outcome. *Ann Hematol*. 2009;88(12):1199–205. doi: 10.1007/s00277-009-0746-2.
- Sadek HA, El-Metnawey WH, Shaheen IA, et al. Quantitative assessment of Wilms' tumor 1 (WT1) gene transcripts in Egyptian acute lymphoblastic leukemia patients. *J Invest Med*. 2011;59(8):1258–62. doi: 10.2130/JIM.0b013e31822a247.
- Mossalam GI, Abdel Hamid TM, Mahmoud HK. Prognostic significance of WT1 expression at diagnosis and end of induction in Egyptian adult acute myeloid leukemia patients. *Hematology*. 2013;18(2):69–73. doi: 10.1179/1607845412Y.0000000048.
- Capelli D, Attolico I, Saraceli F, et al. Early cumulative incidence of relapse in 80 acute leukemia patients after chemotherapy and transplant post-consolidation treatment prognostic role of post-induction WT1. *Bone Marrow Transplant*. 2015;50(S1):262–3. doi: 10.1038/bmt.2015.29.
- Ujj Z, Buglyo G, Udvardy M, et al. WT1 expression in adult acute myeloid leukemia: assessing its presence, magnitude and temporal changes as prognostic factors. *Pathol Oncol Res*. 2016;22(1):217–21. doi: 10.1007/s12253-015-0002-0.
- Гиршова Л.Л., Овсянникова Е.Г., Кузин С.О. и др. Молекулярный мониторинг уровня транскрипта *RUNX1-RUNX1T1* при острых миелоидных лейкозах на фоне терапии. *Клиническая онкогематология*. 2016;9(4):456–64. doi: 10.21320/2500-2139-2016-9-4-456-464.
- [Girshova LL, Ovsyannikova EG, Kuzin SO, et al. Molecular Monitoring of RUNX1-RUNX1T1 Transcript Level in Acute Myeloblastic Leukemias on Treatment. *Clinical oncohematology*. 2016;9(4):456–64. doi: 10.21320/2500-2139-2016-9-4-456-464. (In Russ)]
- Nomdedeu JF, Hoyos M, Carricondo M, et al. Bone marrow WT1 levels at diagnosis, post-induction and post-intensification in adult de novo AML. *Leukemia*. 2013;27(11):2157–64. doi: 10.1038/leu.2013.111.

38. Schmid C, Schleuning M, Tischer J, et al. Early allo-SCT for AML with a complex aberrant karyotype – results from a prospective pilot study. *Bone Marrow Transplant.* 2012;47(1):46–53. doi: 10.1038/bmt.2011.15.

39. Мамаев Н.Н., Горбунова А.В., Гиндина Т.Л. и др. Стойкое восстановление донорского гемопоэза у больной с посттрансплантационным рецидивом острого миеломонобластного лейкоза с *inv(3)(q21q26)*, моносомией 7 и экспрессией онкогена *EV11* после трансфузий донорских лимфоцитов и использования гипометилирующих агентов. *Клиническая онкогематология.* 2014;7(1):71–5.

[Mamayev NN, Gorbunova AV, Gindina TL, et al. Stable donor hematopoiesis reconstitution after posttransplantation relapse of acute myeloid leukemia in patient with *inv(3)(q21q26)*, –7 and *EV11* oncogene overexpression treated by

donor lymphocyte infusions and hypomethylating agents. *Klinicheskaya onkologematologiya.* 2014;7(1):71–5. (In Russ)]

40. Гиндина Т.Л., Мамаев Н.Н., Паина О.В. и др. Острый лимфобластный лейкоз с транслокацией *t(4;11)(q21;q23)/KMT2A-AFF1*: результаты аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у детей и взрослых. *Клиническая онкогематология.* 2017;10(3):342–50. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-342-350.

[Gindina TL, Mamaev NN, Paina OV, et al. Acute Lymphoblastic Leukemia with *t(4;11)(q21;q23)/KMT2A-AFF1* Translocation: The Results of Allogeneic Hematopoietic Stem Cells Transplantation in Children and Adults. *Clinical oncohematology.* 2017;10(3):342–50. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-342-350. (In Russ)]

