Клиническая онкогематология. 2016;9(1):22–9
ОНКО клиническая ГЕМАТОЛОГИЯ

КЛИНИКА, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ЛИМФОИДНЫХ ОПУХОЛЕЙ

Clinical oncohematology. 2016;9(1):22–9
ONCO clinical HEMATOLOGY

LYMPHOID MALIGNANCIES

Острые лейкозы у детей первого года жизни: прогностическое значение локализации точки разрыва в ДНК гена *MLL*

Г.А. Цаур[1,2,3], К. Мейер[4], Т.О. Ригер[1,2], А.М. Кустанович[5], Е.В. Флейшман[6], Ю.В. Ольшанская[7], А.М. Попов[7], О.И. Сокова[6], Е.А. Матвеева[7], О.В. Никулина[1,2], А.Е. Друй[1,2], О.Р. Аракаев[1,2], О.В. Стренева[1,2], С.А. Румянцев[7], Е.В. Шориков[1,2], А.Г. Солодовников[2], Л.И. Савельев[1,2], Р. Маршалек[4], Л.Г. Фечина[1]

[1] Областная детская клиническая больница № 1, ул. Серафимы Дерябиной, д. 32, Екатеринбург, Российская Федерация, 620149

[2] ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», ул. К. Маркса, д. 22а, Екатеринбург, Российская Федерация, 620026

[3] ФГАОУ ВПО «УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина», ул. Мира, д. 19, Екатеринбург, Российская Федерация, 620002

[4] Диагностический центр острых лейкозов, Институт фармацевтической биологии/ЗАФЕС, Университет им. В. Гете Франкфурта-на-Майне, N230, Max-von-Laue Str. 9, Frankfurt am Main Deutschland, 60438

[5] Республиканский центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, ул. Фрунзенская, д. 43, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь, 223053

[6] ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Каширское ш., д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478

[7] ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева», ул. Саморы Машела, д. 1, Москва, Российская Федерация, 117198

Relation between Genomic DNA Breakpoints in *MLL* Gene and Treatment Outcome in Infants with Acute Leukemia

GA Tsaur[1,2,3], C Meyer[4], TO Riger[1,2], AM Kustanovich[5], EV Fleischman[6], YuV Ol'shanskaya[7], AM Popov[7], OI Sokova[6], EA Matveeva[7], OV Nikulina[1,2], AE Drui[1,2], OR Arakaev[1,2], OV Streneva[1,2], SA Rumyantsev[7], EV Shorikov[1,2], AG Solodovnikov[2], LI Savel'ev[1,2], R Marschalek[4], LG Fechina[1]

[1] Regional Children's Clinical Hospital No. 1, 32 Serafimy Deryabinoi str., Ekaterinburg, Russian Federation, 620149

[2] Research Institute of Medical Cell Technologies, 22a K. Marksa str., Ekaterinburg, Russian Federation, 620026

[3] First President of Russia B.N. Yeltsin Ural Federal University , 19 Mira str., Ekaterinburg, Russian Federation, 620002

[4] Diagnostic Center of Acute Leukemia, Institute of Pharmaceutical Biology/ZAFES, Goethe-University of Frankfurt, N230, Max-von-Laue Str. 9, Frankfurt am Main Deutschland, 60438

[5] Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, 43 Frunzenskaya str., Borovlyany, Minsk District, Belarus, 223053

[6] N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478

[7] Dmitrii Rogachev Federal Scientific Clinical Centre of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, 1 Samory Mashela str., Moscow, Russian Federation, 117198

РЕФЕРАТ

Цель. Оценить влияние локализации точки разрыва в геномной ДНК гена *MLL* на прогноз острых лейкозов (ОЛ) у детей первого года жизни.

Методы. В исследование было включено 68 детей первого года жизни (29 мальчиков и 39 девочек с медианой возраста 4,8 мес.) с *MLL*-позитивными острыми лимфобластными лейкозами (ОЛЛ) (n = 46), острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) (n = 20) и ОЛ смешанной линейности (n = 2).

Результаты. Бессобытийная 5-летняя выживаемость (БСВ) детей первого года жизни с ОЛЛ, включенных в исследование MLL-Baby, с точкой разрыва в интроне 11 ДНК гена *MLL* (n = 29) была статистически значимо ниже, чем у пациентов с локализацией точек разрыва, начиная с интрона 7 по экзон 11 (n = 17; 0,16 ± 0,07 и 0,38 ± 0,14; p = 0,039), а кумулятивная вероятность развития рецидива была значительно выше в группе с точкой разрыва в

ABSTRACT

Aim. To evaluate the relation between genomic DNA breakpoints in *MLL* and translocation partner genes (TPG) and clinical parameters of infant AL.

Methods. 68 infants (29 boys and 39 girls with median age of 4.8 mo) with *MLL*-rearranged acute lymphoblastic leukemia (ALL) (n = 46), acute myeloid leukemia (AML) (n = 20) and mixed phenotype acute leukemia (MPAL) (n = 2) were included in the current study.

Results. 5-year EFS was significantly lower in patients with breakpoints in intron 11 (n = 29) in comparison to patients with breakpoint localized from intron 7 to exon 11 (n = 17) (0.16 ± 0.07 *vs* 0.38 ± 0.14, p = 0.039). While cumulative incidence of relapse was remarkably higher in the first group of patients (0.74 ± 0.09 *vs* 0.52 ± 0.17, p = 0.045). Although in Cox regression model including breakpoint location in intron 11 together with age, immunophenotype, initial white

© 2016 практическая медицина

интроне 11 (0,74 ± 0,09 и 0,52 ± 0,17; p = 0,045). В то же время многофакторный анализ показал, что единственным значимым фактором, связанным с неблагоприятным прогнозом, остается сохранение минимальной остаточной болезни (МОБ) в точке наблюдения 4 протокола MLL-Baby (отношение опасности 5,994; 95%-й доверительный интервал 2,209–16,263; p < 0,001). У 22 пациентов с ОМЛ связи между прогнозом и локализацией точки разрыва в ДНК гена *MLL* не выявлено.

Заключение. Наличие точки разрыва в интроне 11 гена *MLL* у детей первого года жизни с ОЛЛ, получавших лечение по протоколу MLL-Baby, приводило к статистически значимо более низким показателям БСВ и более высокой кумулятивной вероятности развития рецидива. Однако в многофакторной модели риска это нивелировалось сохранением МОБ в точке наблюдения 4. У детей первого года жизни с ОМЛ взаимосвязи между локализацией точки разрыва в ДНК гена *MLL* и прогнозом не выявлено.

Ключевые слова: острые лейкозы, дети первого года жизни, перестройки 11q23/*MLL*, MLL-Baby, исходы терапии.

blood cell count, initial CNS involvement, type of *MLL* rearrangements, absolute blast number at day 8 of dexamethasone profase, minimal residual disease (MRD) at time point 4 (TP4) of MLL-Baby protocol, the only significant covariate was the presence of MRD at TP4 (HR 5.994, 95% CI 2.209–16.263, p < 0.001). In 22 AML patients there was not any correlation between breakpoint location and treatment outcome.

Conclusion. Breakpoints in intron 11 of *MLL* gene led to significantly worse outcome in infants with ALL, treated by MLL-Baby protocol, although this parameter was overcome by MRD-positivity at TP4. The latter was the only independent covariate in multivariate analysis. Our data provide additional information of molecular genetic features of *MLL*-rearranged infant AL.

Keywords: acute leukemia, infants, 11q23/*MLL* rearrangements, MLL-Baby, treatment outcome.

Получено: 14 сентября 2015 г.
Принято в печать: 20 октября 2015 г.

Received: September 14, 2015
Accepted: October 20, 2015

Для переписки: Григорий Анатольевич Цаур, канд. мед. наук, ул. Серафимы Дерябиной, д. 32, Екатеринбург, Российская Федерация, 620149; тел.: +7(343)216-25-17; e-mail: tsaur@mail.ru

For correspondence: Grigorii Anatol'evich Tsaur, PhD, 32 Serafimy Deryabinoi str., Ekaterinburg, Russian Federation, 620149; Tel.: +7(343)216-25-17; e-mail: tsaur@mail.ru

Для цитирования: Цаур Г.А., Мейер К., Ригер Т.О. и др. Острые лейкозы у детей первого года жизни: прогностическое значение локализации точки разрыва в ДНК гена MLL. Клиническая онкогематология. 2016;9(1):22–9.

DOI: 10.21320/2500-2139-2016-9-1-22-29

For citation: Tsaur GA, Meyer C, Riger TO, et al. Relation between Genomic DNA Breakpoints in MLL Gene and Treatment Outcome in Infants with Acute Leukemia. Clinical oncohematology. 2016;9(1):22–9 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2016-9-1-22-29

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на значительный прогресс, достигнутый в лечении острых лейкозов (ОЛ) у детей, и в первую очередь острых лимфобластных лейкозов (ОЛЛ), все еще остаются отдельные цитогенетические и молекулярно-генетические подгруппы, в которых эффективность терапии не столь высока. К цитогенетической подгруппе следует отнести транслокацию t(17;19)(q22;p13), перестройки хромосомного района 11q23, аберрации 17p, низкодиплоидный/околотриплоидный кариотип, внутрихромосомную амплификацию хромосомы 21 при ОЛЛ у детей [1–3], транслокации t(5;11)(q35;p15.5), t(6;9)(p23;q34), t(7;12)(q36;p13), inv(3)(q21q26.2)/t(3;3)(q21;q26.2), комплексный и, возможно, моносомный кариотипы при острых миелоидных лейкозах (ОМЛ) у детей [4]. Молекулярно-генетическая подгруппа, связанная с неблагоприятным прогнозом, включает делеции в гене *IKZF1*, *BCR-ABL*-подобный профиль экспрессии генов при ОЛЛ, внутренние тандемные повторы в гене *FLT3* при ОМЛ и др. [5–8].

Наряду с этим существует отдельная возрастная группа — дети первого года жизни, у которых прогноз при ОЛ значительно хуже. Связывается это с несколькими факторами: высокой агрессивностью опухолевых бластных клеток, высоким лейкоцитозом в дебюте заболевания, значительной экстрамедуллярной опухолевой массой, большой долей пациентов с наличием перестроек хромосомного района 11q23 с вовлечением гена *MLL*, плохим ответом на стандартную химиотерапию [9–11]. В настоящее время активно изучаются различные клинико-лабораторные, цитогенетические и молекулярно-генетические предикторы плохого прогноза ОЛ у детей первого года жизни. Они включают возраст и уровень лейкоцитов при установлении диагноза, инициальный нейролейкоз, наличие и тип перестройки 11q23/*MLL*, гиперэкспрессию отдельных генов (*FLT3*, *Evi1* и др.) и специфические профили экспрессии групп генов, ранний ответ на терапию, сохранение минимальной остаточной болезни (МОБ) [12–20].

Относительно недавно было показано, что общая выживаемость пациентов с *MLL*-позитивными ОЛ в возрасте младше 24 мес., у которых точка разрыва в ДНК гена *MLL* локализовалась в интроне 11, была статистически значимо ниже по сравнению с пациентами, у которых точка разрыва находилась в регионе между интронами 7 и 11 [21]. Это связывают с различиями в структуре белка MLL, в частности PHD-доменов (рис. 1) при различной локализации точек разрыва в гене *MLL* [22]. Однако в упомянутой выше работе M. Emerenciano и соавт. исследование проводилось в смешанной группе пациентов с ОЛЛ и ОМЛ [21], что не позволяет сделать вывод о роли локализации точек разрыва при ОЛЛ и ОМЛ по отдельности. Кроме того, вызывает сомнения

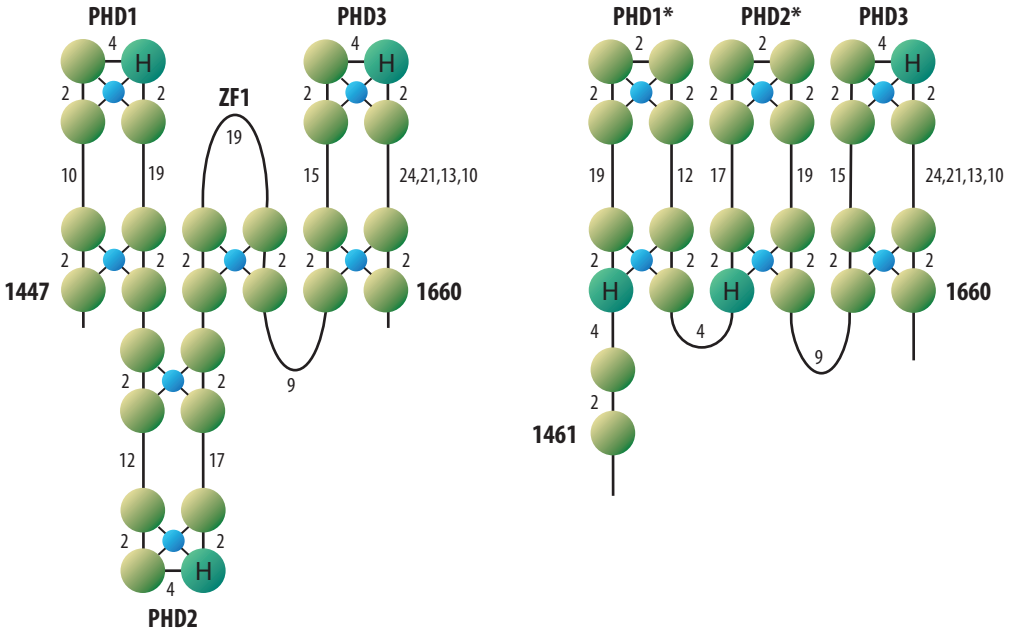

Рис. 1. Различия в структуре PHD-доменов белка MLL в зависимости от локализации точки разрыва в ДНК гена *MLL*. Светло-зеленым цветом обозначен цистеин, темно-зеленым — гистидин, голубым — ионы цинка. Слева — структура PHD-доменов при отсутствии перестроек гена *MLL*, а также при наличии перестроек с точками разрывов в интронах 9 и 10. Между 2-м и 3-м PHD-доменом находится цинковый палец (ZF1). Справа — структура PHD-доменов при наличии перестройки гена *MLL* с точкой разрыва в интроне 11. Утрачивается часть аминокислот, участвующая в образовании PHD-доменов 1 и 2, а также цинковый палец (цит. по [22])

Fig. 1. Differences in structures of PHD-domains of the MLL protein depending on the DNA breakpoints in MLL. Cysteine is marked with light green color, histidine with dark green, and zinc ions with blue. On the left: the structure of PHD-domains without *MLL*-rearrangements, as well as with rearrangements with breakpoints in introns 9 and 10. Zinc finger (ZF1) is located between the 2nd and 3rd PHD-domains. On the right: the structure of PHD-domains with *MLL*-rearrangements with a breakpoints in intron 11. A number of amino acids participating in formation of PHD-domains 1 and 2 and the zinc finger are lost (cited according to [22])

правомочность объединения в одну группу пациентов старше и младше 12 мес.

Цель работы — оценка влияния локализации точки разрыва в геномной ДНК гена *MLL* на прогноз ОЛ у детей первого года жизни.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 68 детей первого года жизни (29 мальчиков и 39 девочек; медиана возраста 4,8 мес.) с *MLL*-позитивными ОЛЛ (n = 46), ОМЛ (n = 20) и ОЛ смешанной линейности (n = 2). Диагноз ОЛЛ устанавливался на основании стандартных морфологических показателей [23] и данных иммунофенотипирования, согласно критериям группы EGIL [24, 25], ОМЛ — на основании морфологических критериев Франко-американо-британской (FAB) классификации [23], а ОЛ смешанной линейности — по данным иммунофенотипирования [26]. В последнюю группу был включен 1 пациент с острым недифференцированным лейкозом и 1 — с острым билинейным лейкозом. Пациенты с ОЛ смешанной линейности для анализа были включены в группу ОМЛ. Исходные данные пациентов представлены в табл. 1. Больные получали лечение по одному из следующих протоколов: MLL-Baby (n = 46), AML-BFM-98 (n = 7), AML-BFM-2004 (n = 8), ОМЛ-ММ-2000 (n = 2), НИИ ДОГ ОМЛ-2007 (n = 5) в детских онкогематологических клиниках Российской Федерации и Республики Беларусь. Информированное согласие на проведение диагностических и лечебных процедур было получено от родителей всех пациентов.

Перестройки 11q23/*MLL* определяли при установлении диагноза ОЛ с помощью стандартного цитогенетического исследования, а также методами гнездной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией и флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) [27–29]. Локализация точек разрыва в геномной ДНК гена *MLL* и генов-партнеров была определена методом длинной инвертированной ПЦР по ранее описанной методике [30, 31]. Нумерация экзонов и интронов гена *MLL* дана по работе I. Nilson и соавт. [32].

Оценку МОБ проводили в образцах костного мозга по ранее описанным методикам [33–35] в точках наблюдения (ТН), определенных протоколом MLL-Baby: ТН1–ТН2, соответствующие 15-му и 36-му дням индукционной терапии; ТН3–ТН7 — после каждого курса ATRA (рис. 2). Пациенты с наличием t(4;11)(q21;q23)/*MLL-AF4* получали терапию для группы высокого риска. Пациенты с любыми другими перестройками 11q23/*MLL*, достигшие к 36-му дню гематологической ремиссии, были отнесены к группе промежуточного риска [36, 37].

Для статистической обработки данных использовалось программное обеспечение Statistica 8.0, SPSS 18.0, SAS. При сравнении групп больных по качественным признакам применяли точный критерий Фишера и χ^2. При сравнении двух групп больных по количественным признакам использовали критерий Манна–Уитни. Результаты терапии оценивались по кривым бессобытийной выживаемости (БСВ), построенным по методу Каплана–Мейера, а также по кумулятивной вероятности развития рецидива. Для сравнения кривых использовались непараметрические лог-ранговый критерий и критерий

Таблица 1. Исходные характеристики больных, включенных в исследование

Показатель	ОЛЛ (*n* = 46)		ОМЛ (*n* = 22*)	
	абс.	%	абс.	%
Медиана (диапазон) возраста, мес.	3,63 (0,03–11,60)		8,00 (0,13–11,93)	
Мальчики/девочки	17/29	37,0/63,0	12/10	54,5/45,5
Медиана (диапазон) исходного лейкоцитоза , $\times 10^9$/л	144,5 (2,9–1068,0)		62,3 (1,8–250,0)	
Исходное поражение ЦНС	25	54,3	8	36,4
Иммунофенотип				
BI-ОЛЛ	33	71,7	—	
BII-ОЛЛ	8	17,4		
BIII-ОЛЛ	4	8,7		
BIV-ОЛЛ	1	2,2		
FAB-вариант				
M1	—		1	4,5
M2			3	13,6
M4			5	22,7
M5			10	45,5
M7			1	4,5
Другой			2	9,1
Тип перестройки 11q23/*MLL*				
t(1;11)(p32;q23)/*MLL-EPS15*	4	8,7	—	—
t(2;11)(q12;q23)/*MLL-AFF3*	1	2,2	—	—
t(4;11)(q21;q23)/*MLL-AF4*	25	54,3	1	4,5
t(9;11)(p22;q23)/*MLL-MLLT3*	7	15,2	6	27,3
t(11;19)(q23;p13.3)/*MLL-MLLT1*	9	19,6	1	4,5
t(1;11)(q21;q23)/*MLL-MLLT11*	—	—	2	9,1
t(10;11)(p12;q23)/*MLL-MLLT10*	—	—	6	27,3
t(10;11)(p12;q23)/*MLL-ABI1*	—	—	1	4,5
t(11;17)(q23;q25)/*MLL-SEPT9*	—	—	1	4,5
t(11;19)(q23;p13)/*MLL-MYO1F*	—	—	1	4,5
t(X;11)(q24;q23)/*MLL-SEPT6*	—	—	1	4,5

В графах «Иммунофенотип» и «FAB-вариант» прочерк означает, что данный критерий неприменим. В графе «Тип перестройки 11q23/*MLL*» прочерк означает, что данная транслокация не обнаружена.
* В группу ОМЛ включен 1 пациент с острым недифференцированным лейкозом и транслокацией t(10;11)(p12;q23)/*MLL-MLLT10* и 1 — с острым бифенотипическим лейкозом и транслокацией t(11;19)(q23;p13.3)/*MLL-MLLT1*.

Грея, соответственно. Расчет отношения опасности (ОО) с 95%-м доверительным интервалом (95% ДИ) был выполнен по методу Кокса в однофакторной и многофакторной моделях. Все различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Локализация точек разрыва в ДНК гена *MLL* при разных вариантах ОЛ и типах генов-партнеров приведена на рис. 3. Наиболее частой локализацией точек разрыва в ДНК гена *MLL* был интрон 11, на долю которого приходилось 29 (63 %) из 46 случаев *MLL*-позитивного ОЛЛ у детей первого года жизни. Другие зоны разрывов выявлялись значительно реже. При ОМЛ в исследуемой возрастной группе самой частой зоной разрывов был интрон 9 — у 9 (40,9 %) из 22 больных. Реже разрывы в ДНК гена *MLL* происходили в интронах 9 и 10 — по 5 (22,7 %) случаев.

При оценке прогностического значения локализации точек разрыва в ДНК гена *MLL* у 46 детей первого года жизни с ОЛЛ, включенных в исследование MLL-Baby, было показано, что 5-летняя БСВ у пациентов с точкой разрыва в интроне 11 ($n = 29$) была статистически значимо ниже, чем у пациентов с локализацией точек разрыва, начиная с интрона 7 по экзон 11 ($n = 17$) ($0,16 \pm 0,07$ и $0,38 \pm 0,14$; $p = 0,039$). Одновременно с этим кумулятивная вероятность развития рецидива была значительно выше в группе с точкой разрыва в интроне 11 ($0,74 \pm 0,09$ и $0,52 \pm 0,17$; $p = 0,045$). Медиана времени наблюдения составила 36 мес. (диапазон 20–94 мес.) (рис. 4). В то же время при проведении многофакторного регрессионного анализа по методу Кокса с включением в модель точки разрыва в интроне 11, возраста, иммунофенотипа, исходного лейкоцитоза, исходного нейролейкоза, типа перестройки гена *MLL*, абсолютного числа бластных клеток на 8-й день профазы и МОБ в ТН4 было показано, что единственным значимым фактором, связанным с не-

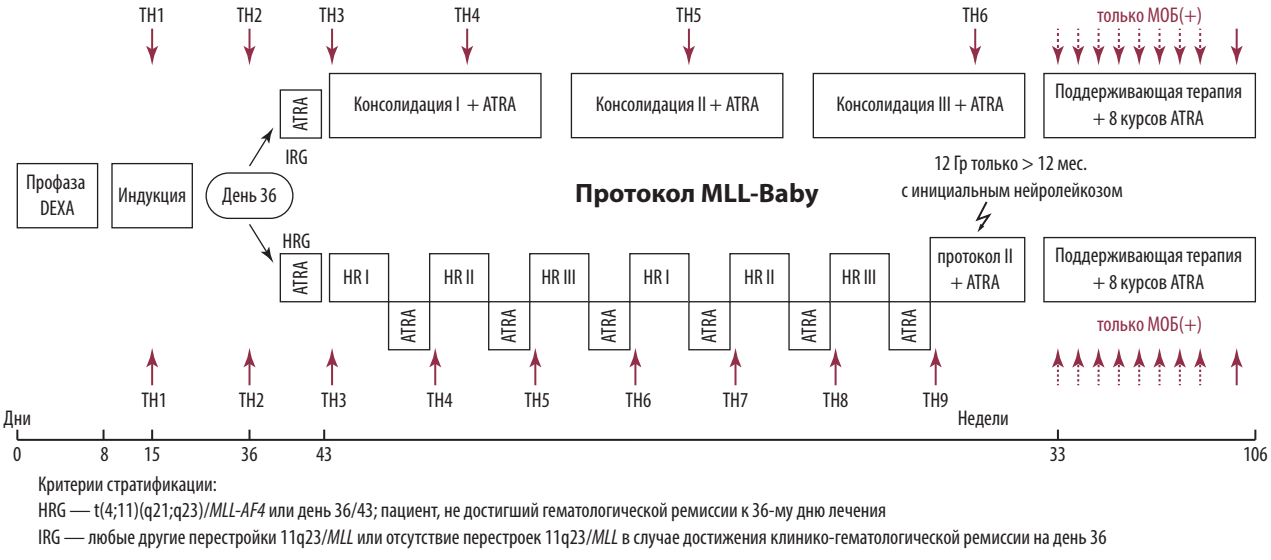

Рис. 2. Дизайн протокола MLL-Baby с указанием точек наблюдения (ТН), в которых проводилась оценка минимальной остаточной болезни (МОБ)
ATRA — полностью транс-ретиноевая кислота; DEXA — дексаметазон.

Fig. 2. Design of the MLL-Baby protocol with indication of time points (TH) where evaluation of the minimal residual disease (МОБ) was performed
ATRA — all-trans-retinoid acid; DEXA — dexamethasone.

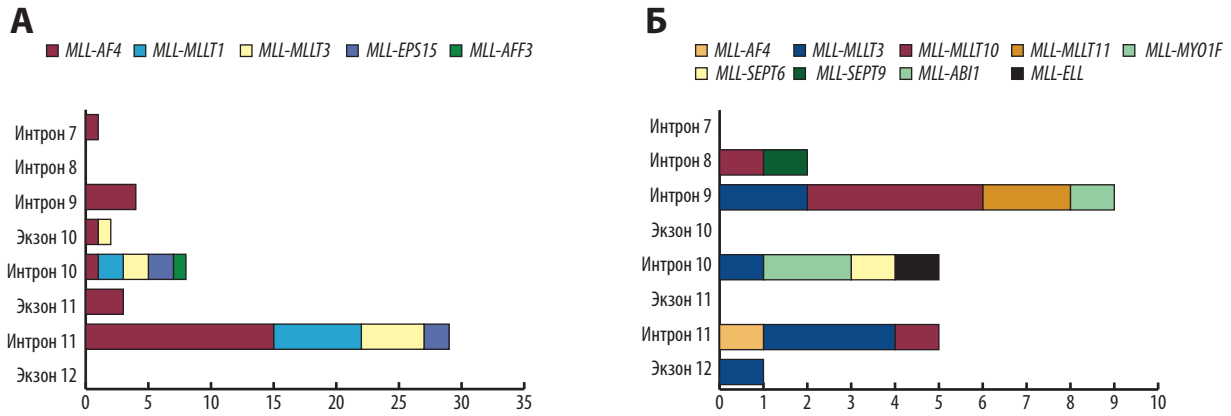

Рис. 3. Зоны разрыва в ДНК гена *MLL* при образовании химерных генов у больных ОЛЛ (*А*) и ОМЛ (*Б*)

Fig. 3. Genomic DNA breakpoints in MLL at formation of fusion genes in patients with ALL (*A*) and AML (*Б*)

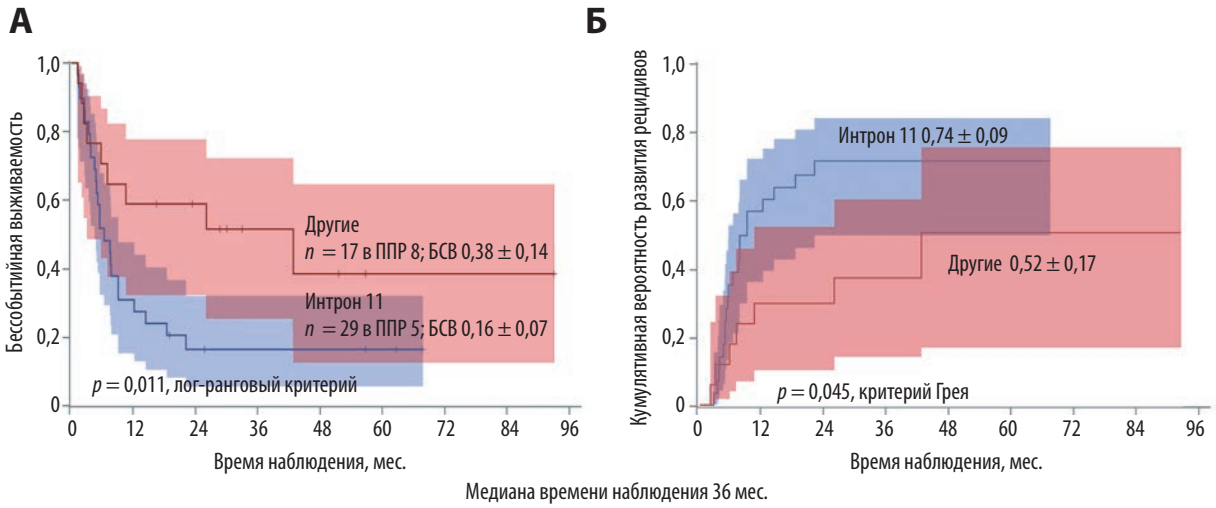

Рис. 4. Прогностическое значение локализации точки разрыва в ДНК гена *MLL* у детей первого года жизни с ОЛЛ, получающих терапию по протоколу MLL-Baby. Кривые бессобытийной выживаемости (*А*) и кумулятивной вероятности развития рецидива (*Б*)
БСВ — бессобытийная выживаемость; ППР — полная продолжающаяся ремиссия.

Fig. 4. Prognostic significance of the genomic DNA breakpoints in *MLL* in infants with ALL treated according to the MLL-Baby protocol. Probability of event-free survival (*A*) Cumulative incidence of relapse (*Б*)
БСВ — event-free survival; ППР — continuous complete remission.

благоприятным прогнозом, остается сохранение МОБ в ТН4 (ОО 5,994; 95% ДИ 2,209–16,263; $p < 0,001$) (табл. 2). В многофакторный анализ было включено 42 из 46 пациентов, т. к. у 4 больных МОБ в ТН4 не определялась.

У 22 больных ОМЛ связи между прогнозом и локализацией точки разрыва в ДНК гена *MLL* не выявлено. БСВ и кумулятивная вероятность развития рецидива у пациентов с точкой разрыва в интроне 11 ($n = 5$) статистически значимо не отличались от таковых при других локализациях точек разрыва ($n = 17$) (БСВ 0,40 ± 0,21 и 0,40 ± 0,13 соответственно, $p = 0,728$; кумулятивная вероятность развития рецидива 0,66 ± 0,37 и 0,39 ± 0,09 соответственно; $p = 0,180$). Медиана времени наблюдения составила 22 мес. (диапазон 8–53 мес.) (рис. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ

ОЛ, ассоциированные с перестройками гена *MLL*, являются одной из немногих подгрупп, в которой результаты терапии до настоящего времени остаются неудовлетворительными [12, 16]. Поэтому именно у этих пациентов чрезвычайно актуально выявление прогностически значимых параметров, позволяющих выделять подгруппы с различной вероятностью неудачи терапии. Ранее M. Emerenciano и соавт. было продемонстрировано, что локализация точки разрыва в интроне 11 гена *MLL* ухудшает прогноз при ОЛЛ с перестройками 11q23/*MLL* [21]. В настоящей работе мы по отдельности проанализировали исходы лечения пациентов как с ОЛЛ, так и с ОМЛ. Была убедительно показана зависимость локализации точки разрыва в интроне 11 с неудовлетворительными результатами терапии по протоколу MLL-Baby у детей первого года жизни с ОЛЛ. Кроме того, продемонстрировано отсутствие связи между расположением точек разрыва в ДНК гена *MLL* и прогнозом ОМЛ у детей исследуемой возрастной группы. Полученная нами относительная частота обнаружения различных перестроек *MLL* совпадает как с нашими ранее опубликованными более крупными наблюдениями [38], так и с данными международных групп [12, 16, 39], что позволяет говорить о достаточной репрезентативности собственных данных.

В то же время при проведении многофакторного анализа стало ясно, что локализация точки разрыва гена

Таблица 2. Анализ прогностических показателей, влияющих на возникновение неблагоприятных событий у 42 пациентов первого года жизни с ОЛЛ, включенных в исследование MLL-Baby

Показатель	Число пациентов	События	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
			Отношение опасности	95% ДИ	*p*	Отношение опасности	95% ДИ	*p*
Возраст								
> 6 мес.	14	7	Референсное	—	0,108	Референсное	—	0,270
< 6 мес.	28	23	2,010	0,857–4,174		1,777	0,640–4,936	
CD10-негативный иммунофенотип								
Нет	9	6	Референсное	—	0,681	Референсное	—	0,812
Есть	33	24	1,207	0,493–2,957		1,087	0,544–2,173	
Наличие *MLL-AF4*								
Нет	20	13	Референсное	—	0,067	Референсное	—	0,242
Есть	22	17	1,976	0,953–4,096		1,984	0,630–6,253	
Исходный лейкоцитоз, $\times 10^9$/л								
<100	20	12	Референсное	—	0,148	Референсное	—	0,243
≥ 100	22	18	1,722	0,824–3,5984		1,733	0,688–4,361	
Исходное поражение ЦНС								
Нет	19	11	Референсное	—	0,169	Референсное	—	0,405
Есть	23	19	1,699	0,799–3,612		1,430	0,616–3,319	
Число бластных клеток в 1 мкл крови на 8-й день терапии дексаметазоном								
< 1000	32	22	Референсное	—	0,399	Референсное	—	0,173
≥ 1000	10	8	1,417	0,630–3,188		2,018	0,736–5,539	
Выявление МОБ в ТН4								
Отсутствие	17	6	Референсное	—	< 0,001	Референсное	—	< 0,001
Наличие	25	24	6,189	2,462–15,540		5,994	2,209–16,263	
Точка разрыва в интроне 11 гена *MLL*								
Нет	27	22	Референсное	—	0,046	Референсное	—	0,090
Есть	15	8	2,174	1,156–4,965		2,554	0,856–7,542	

Из анализа исключены 4 пациента (МОБ в ТН4 не определялась).
Прочерк означает, что данный критерий (95% ДИ) неприменим.

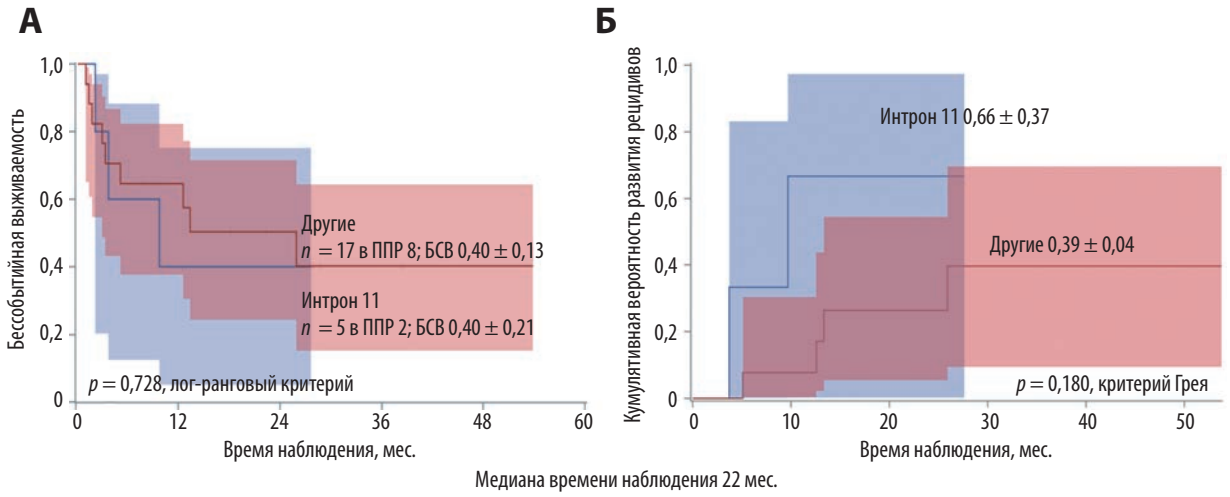

Рис. 5. Прогностическое значение локализации точки разрыва в ДНК гена *MLL* у детей первого года жизни с ОМЛ. Кривые бессобытийной выживаемости (*А*) и кумулятивной вероятности развития рецидива (*Б*)
БСВ — бессобытийная выживаемость; ППР — полная продолжающаяся ремиссия.

Fig. 5. Prognostic significance of the genomic DNA breakpoints in *MLL* in infants with AML. Probability of event-free survival curves (*A*) Cumulative incidence of relapse (*Б*)
БСВ — event-free survival; ППР — continuous complete remission.

MLL не является независимым прогностическим фактором, а ее влияние на исход терапии ОЛЛ нивелируется результатами определения МОБ. Таким образом, можно говорить о том, что ответ опухоли на терапию *in vivo* служит одним из самых мощных факторов, влияющих на прогноз, более значимым, чем большинство исходных факторов риска [40–42]. Даже тип перестройки гена *MLL* и структура химерного гена, во многом определяющие биологические особенности опухолевых клеток, не несут такой важной прогностической информации, как длительная персистенция МОБ. В этом полученные нами результаты хорошо согласуются с ранее опубликованными собственными данными [43] и результатами, полученными другими исследовательскими группами.

В то же время исследование структуры химерного гена крайне важно для разработки методики обнаружения

остаточных опухолевых клеток на основе определения количества химерного гена [14, 44]. Это является наиболее точным количественным методом оценки МОБ. В связи с этим, несмотря на неоднозначную трактовку перспектив применения результатов длинной инвертированной ПЦР для стратификации пациентов, это исследование крайне важно для последующего определения МОБ и должно проводиться всем больным ОЛЛ, связанным с перестройками 11q23/*MLL*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У детей первого года жизни с ОЛЛ и наличием точки разрыва в интроне 11 гена *MLL*, получавших лечение по протоколу MLL-Baby, отмечались статистически значимо более низкие показатели БСВ и более высокая кумулятивная вероятность развития рецидива. Однако в многофакторной модели риска эти результаты нивелировались сохранением МОБ в ТН4. У детей первого года жизни с ОМЛ взаимосвязи между локализацией точки разрыва в ДНК гена *MLL* и прогнозом не выявлено. Таким образом, представленные данные дают дополнительную информацию о молекулярно-генетических характеристиках ОЛ, ассоциированных с перестройками гена *MLL*.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов. Е.В. Флейшман, член редакционной коллегии журнала «Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика», не участвовала в рецензировании рукописи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа частично поддержана грантом РНФ № 14-35-00105.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: Г.А. Цаур, К. Мейер, Р. Маршалек, Л.Г. Фечина.

Сбор и обработка данных: Г.А. Цаур, К. Мейер, Т.О. Ригер, А.М. Кустанович, Е.В. Флейшман, Ю.В. Ольшанская, О.И. Сокова, Е.А. Матвеева, О.В. Никулина, А.Е. Друй, О.Р. Аракаев, О.В. Стренева.

Предоставление материалов исследования: К. Мейер, А.М. Кустанович, А.М. Попов, Е.В. Флейшман, Ю.В. Ольшанская, О.И. Сокова, Е.А. Матвеева, О.В. Никулина, А.Е. Друй, О.Р. Аракаев, О.В. Стренева.

Анализ и интерпретация данных: Г.А. Цаур, А.М. Попов, А.Г. Солодовников, Е.В. Шориков.

Подготовка рукописи: Г.А. Цаур, А.М. Попов, С.А. Румянцев, Л.И. Савельев, Л.Г. Фечина.

Окончательное одобрение рукописи: все авторы.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Moorman A, Richards S, Robinson H, et al. Prognosis of children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) and intrachromosomal amplification of chromosome 21 (iAMP21). Blood. 2007;109(6):2327–30. doi: 10.1182/blood-2006-08-040436.

2. Moorman A, Ensor H, Richards S, et al. Prognostic effect of chromosomal abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results from the UK Medical Research Council ALL97/99 randomised trial. Lancet Oncol. 2010;11(5):429–38. doi: 10.1016/s1470-2045(10)70066-8.

3. Fischer U, Forster M, Rinaldi A, et al. Genomics and drug profiling of fatal TCF3-HLF–positive acute lymphoblastic leukemia identifies recurrent mutation patterns and therapeutic options. Nat Genet. 2015;47(9):1020–9. doi: 10.1038/ng.3362.

4. Creutzig U, van den Heuvel-Eibrink M, Gibson B, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: recommendations from an international expert panel. Blood. 2012;120(16):3187–205. doi: 10.1182/blood-2012-03-362608.

5. Kuiper R, Waanders E, van der Velden V, et al. IKZF1 deletions predict relapse in uniformly treated pediatric precursor B-ALL. Leukemia. 2010;24(7):1258–64. doi: 10.1038/leu.2010.87.

6. 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(3):428–32. doi: 10.3324/haematol.2011.056135.

7. den Boer M, van Slegtenhorst M, de Menezes R, et al. A subtype of childhood acute lymphoblastic leukaemia with poor treatment outcome: a genome-wide classification study. Lancet Oncol. 2009;10(2):125–34. doi: 10.1016/s1470-2045(08)70339-5.

8. Iwai T, Yokota S, Nakao M, et al. Internal tandem duplication of the FLT3 gene and clinical evaluation in childhood acute myeloid leukemia. The Children's Cancer and Leukemia Study Group, Japan. Leukemia. 1999;13(1):38–43. doi: 10.1038/sj.leu.2401241.

9. Reaman G. Biology and treatment of infant leukemias. In: Pui C-H, ed. Treatment of acute leukemias: new directions for clinical research. Totowa: Humana Press; 2003. pp. 75–83.

10. Pieters R. Biology and treatment of infant leukemias. In: Pui C-H, ed. Treatment of acute leukemias: new directions for clinical research. Totowa: Humana Press; 2003. pp. 61–73.

11. Pieters R. Infant acute lymphoblastic leukemia: Lessons learned and future directions. Curr Hematol Malig Rep. 2009;4(3):167–74. doi: 10.1007/s11899-009-0023-4.

12. Pieters R, Schrappe M, de Lorenzo P, et al. A treatment protocol for infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukaemia (Interfant-99): an observational study and a multicentre randomised trial. The Lancet. 2007;370:240–50. doi: 10.1016/s0140-6736(07)61126-x.

13. Popov A, Buldini B, de Lorenzo P, et al. Identification of low risk group in infants with acute lymphoblastic leukemia by flow cytometric minimal residual disease measurement at day 15 of Interfant-99 and Interfant-06 protocols treatment. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts). 2013;122(21): Abstract 1333.

14. van der Velden V, Corral L, Valsecchi M-G, et al. Prognostic significance of minimal residual disease in infants with acute lymphoblastic leukemia treated within the Interfant-99 protocol. Leukemia. 2009;23(6):1073–9. doi: 10.1038/leu.2009.17.

15. Pui C-H, Raimondi S, Srivastava D, et al. Prognostic factors in infants with acute myeloid leukemia. Leukemia. 2000;14(4):684–7. doi: 10.1038/sj.leu.2401725.

16. Tomizawa D, Koh K, Sato T, et al. Outcome of risk-based therapy for infant acute lymphoblastic leukemia with or without an MLL gene rearrangement, with emphasis on late effects: a final report of two consecutive studies, MLL96 and MLL98, of the Japan Infant Leukemia Study Group. Leukemia. 2007;22(11):2258–63. doi: 10.1038/sj.leu.2404903.

17. Stam R, Schneider P, de Lorenzo P, et al. Prognostic significance of high-level FLT3 expression in MLL-rearranged infant acute lymphoblastic leukemia. Blood. 2007;110(7):2774–5. doi: 10.1182/blood-2007-05-091934.

18. Ho P, Alonzo T, Gerbing R, et al. High EVI1 expression is associated with MLL rearrangements and predicts decreased survival in paediatric acute myeloid leukaemia: a report from the children's oncology group. Br J Haematol. 2013;162(5):670–7. doi: 10.1111/bjh.12444.

19. Stam R, Schneider P, Hagelstein J, et al. Gene expression profiling–based dissection of MLL translocated and MLL germ-line acute lymphoblastic leukemia in infants. Blood. 2010;115(14):2835–44. doi: 10.1182/blood-2009-07-233049.

20. Zangrando A, Dell'orto M, te Kronnie G, Basso G. MLL rearrangements in pediatric acute lymphoblastic and myeloblastic leukemias: MLL specific and lineage specific signatures. BMC Med Genom. 2009;2:36. doi: 10.1186/1755-8794-2-36.

21. Emerenciano M, Meyer C, Mansur M, et al. The distribution of MLL breakpoints correlates with outcome in infant acute leukaemia. Br J Haematol. 2013;161(2):224–36. doi: 10.1111/bjh.12250.

22. Roessler T, Marschalek R. An alternative splice process renders the MLL protein either into a transcriptional activator or repressor. Pharmazie. 2013;86:601–7. doi: 10.1055/s-0033-1343653.

23. Bennett J, Catovsky D, Daniel M, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. Br J Haematol. 1976;33(4):451–8. doi: 10.1111/j.1365-2141.1976.tb03563.x.

24. 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(10):1783–6.

25. 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(4):567–74. doi: 10.1038/leu.2010.312.

26. Vardiman J, Thiele J, Arber D, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. Blood. 2009;114(5):937–51. doi: 10.1182/blood-2009-03-209262.

27. Цаур Г.А., Наседкина Т.В., Попов А.М. и др. Время достижения молекулярной ремиссии как фактор прогноза у детей первого года жизни острым лимфобластным лейкозом. Онкогематология. 2010;2:46–54.

[Tsaur GA, Nasedkina TV, Popov AM, et al. Time to molecular remission as prognostic factor in infant acute lymphoblastic leukemia. Onkogematologiya. 2010;2:46–54. (In Russ)]

28. Цаур Г.А., Флейшман Е.В., Попов А.М. и др. Цитогенетическая и молекулярно-генетическая характеристика острых лейкозов у детей первого года жизни. Клиническая онкогематология. 2011;4(2):134–41.

[Tsaur GA, Fleischman EV, Popov AM, et al. Cytogenetics and molecular genetics of acute leukemias in infants. Klinicheskaya onkogematologiya. 2011;4(2):134–41. (In Russ)]

29. Цаур Г.А., Плеханова О.М., Гиндина Т.Л. и др. Применение метода флуоресцентной гибридизации in situ для выявления перестроек гена MLL при острых лейкозах у детей первого года жизни. Медицинская генетика. 2012;7(121):35–45.

[Tsaur GA, Plekhanova OM, Gindina TL, et al. Use of fluorescence in situ hybridization technique to detect MLL gene rearrangements in acute leukemias in infants. Meditsinskaya genetika. 2012;7(121):35–45. (In Russ)]

30. Meyer C, Schneider B, Reichel M, et al. Diagnostic tool for the identification of MLL rearrangements including unknown partner genes. Proc Natl Acad Sci USA. 2005;102(2):449–54. doi: 10.1073/pnas.0406994102.

31. Цаур Г.А., Meyer C., Попов А.М. и др. Исследование структуры химерных генов с участием гена MLL при острых лейкозах у детей первого года жизни. Гематология и трансфузиология. 2014;59(1):29–37.

[Tsaur GA, Meyer C, Popov AM, et al. Evaluation of structure of chimeric genes involving MLL gene in infant acute leukemia. Gematologiya i transfuziologiya. 2014;59(1):29–37. (In Russ)]

32. Nilson I, Lochner K, Siegler G, et al. Exon/intron structure of ALL1 (MLL) gene involved in translocations to chromosomal region 11q23 and acute leukemias. Br J Haematol. 1996;94(4):966–72. doi: 10.1046/j.1365-2141.1996.d01-1748.x.

33. Gabert J, Beillard E, van der Velden V, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia – A Europe Against Cancer Program. Leukemia. 2003;17(12):2318–57. doi: 10.1038/sj.leu.2403135.

34. Jansen M, van der Velden V, van Dongen J. Efficient and easy detection of MLL-AF4, MLL-AF9 and MLL-ENL fusion gene transcripts by multiplex real-time quantitative RT-PCR in TaqMan and LightCycler. Leukemia. 2005;19(11):2016. doi: 10.1038/sj.leu.2403939.

35. Цаур Г.А., Друй А.Е., Попов А.М. и др. Возможность использования микроструйных биочипов для оценки качества и количества РНК у детей с онкологическими и онкогематологическими заболеваниями. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2011;4:107–11.

[Tsaur GA, Druy AE, Popov AM, et al. Microfluidic biochips for RNA quantity and quality evaluation in children with oncological and oncohematological disorders. Vestnik Ural'skoi meditsinskoi akademicheskoi nauki. 2011;4:107–11. (In Russ)]

36. Fechina L, Shorikov E, Tsaur G, et al. Contribution of all-trans retinoic acid to improved early relapse-free outcome in infant acute lymphoblastic leukemia comparing to the chemotherapy alone. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts). 2007;110(11): Abstract 832A.

37. Fechina L, Shorikov E, Streneva O, et al. Does ATRA confirm to play a role in the better relapse free survival of infants with acute lymphoblastic leukemia? Blood (ASH Annual Meeting Abstracts). 2011;118(21): Abstract 1515.

38. Цаур Г.А., Попов А.М., Алейникова О.В. и др. Характеристика перестроек 11q23 (MLL) у детей первого года жизни с острым лимфобластным лейкозом. Онкогематология. 2011;3:57–64.

[Tsaur GA, Popov AM, Aleinikova OV, et al. Detection of 11q23 (MLL) rearrangements in infant acute lymphoblastic leukemia. Onkogematologiya. 2011;3:57–64. (In Russ)]

39. Reaman GH, Sposto R, Sensel M, et al. Treatment outcome and prognostic factors for infants with acute lymphoblastic leukemia treated on two consecutive trials of the Children's Cancer Group. J Clin Oncol. 1999;17(2):445–55.

40. Conter V, Bartram C, Valsecchi M-G, et al. Molecular response to treatment redefines all prognostic factors in children and adolescents with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results in 3184 patients of the AIEOP-BFMALL 2000 study. Blood. 2010;115(16):3206–14. doi: 10.1182/blood-2009-10-248146.

41. Basso G, Veltroni M, Valsecchi M-G, et al. Risk of relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia is predicted by flow cytometric measurement of residual disease on day 15 bone marrow. J Clin Oncol. 2009;27(31):5168–74. doi: 10.1200/jco.2008.20.8934.

42. Campana D. Minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia. Hematology (Am Soc Hematol Educ Program). 2010;2010:7–12. doi: 10.1182/asheducation-2010.1.7.

43. Цаур Г.А., Попов А.М., Наседкина Т.В. и др. Прогностическое значение минимальной остаточной болезни, определенной путем выявления химерных транскриптов у детей первого года жизни, больных острым лимфобластным лейкозом, получающих терапию по протоколу MLL-Baby. Гематология и трансфузиология. 2012;57(4):12–22.

[Tsaur GA, Popov AM, Nasedkina TV, et al. Prognostic significance of minimal residual disease detected by PCR for fusion gene transcripts in infant acute lymphoblastic leukemia treated by MLL-baby protocol. Gematologiya i transfuziologiya. 2012;57(4):12–22. (In Russ)]

44. Burmeister T, Marschalek R, Schneider B, et al. Monitoring minimal residual disease by quantification of genomic chromosomal breakpoint sequences in acute leukemias with MLL aberrations. Leukemia. 2006;20(3):451–7. doi: 10.1038/sj.leu.2404082.