

Делеции гена *IKZF1* – независимый прогностический фактор у детей с острым лимфобластным лейкозом из В-линейных предшественников

Г.А. Цаур¹⁻⁴, А.Е. Друй^{2,5}, А.Г. Солодовников^{2,4}, А.М. Попов⁵, А.П. Шапочник⁶,
Л.В. Вахонина^{1,2}, А.А. Власова¹, Т.О. Ригер^{1,2}, Т.Ю. Вержбицкая^{1,2}, Ю.В. Ольшанская⁵,
Е.В. Шориков⁷, О.Р. Аракаев^{1,2}, Л.И. Савельев^{1,2,4}, Л.Г. Фечина¹

¹ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1»; Россия, 620149 Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32;

²ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»; Россия, 620026 Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а;

³ФГАУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина»;
Россия, 620002 Екатеринбург, ул. Мира, 19;

⁴ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России;
Россия, 620030 Екатеринбург, ул. Репина, 3;

⁵ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Саморы Машела, 1;

⁶ГБУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер»; Россия, 460021 Оренбург, проспект Гагарина, 11;

⁷ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы»;
Россия, 119049 Москва, 4-й Добрынинский переулок, 1/9

Контакты: Григорий Анатольевич Цаур tsaur@mail.ru

Целью работы являлась оценка прогностического значения делеций гена *IKZF1* у 141 ребенка с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ). Определение делеций *IKZF1* проводили методом множественной лигазной амплификации зондов. Делеции *IKZF1* были обнаружены у 15 (10,6 %) пациентов, их чаще выявляли у детей старше 10 лет ($p = 0,007$), при инициальном лейкоцитозе выше $30 \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,003$) и наличии транслокации $t(9;22)(q34;q11)$ ($p = 0,003$). Наличие делеций сопровождалось замедленным клиренсом бластных клеток: МЗ-статусом костного мозга на 15-й день индукционной терапии ($p = 0,003$), отсутствием клино-гематологической ремиссии ($p < 0,001$), высоким уровнем минимальной остаточной болезни на 15, 36 и 85-й дни терапии ($p = 0,014$; $p < 0,001$; $p = 0,001$ соответственно). Больные с делециями *IKZF1* имели более низкие показатели бессобытийной выживаемости (БСВ) ($0,30 \pm 0,15$ и $0,89 \pm 0,03$; $p < 0,001$) и общей выживаемости (ОВ) ($0,44 \pm 0,19$ и $0,93 \pm 0,02$; $p < 0,001$) и более высокую кумулятивную вероятность развития рецидива ($0,67 \pm 0,18$ и $0,07 \pm 0,02$; $p < 0,001$). Проведение многофакторного анализа показало, что делеции *IKZF1* являются независимым фактором, снижающим БСВ (относительный риск (ОР) 4,755; 95 % доверительный интервал (ДИ) 1,856–12,185; $p = 0,001$), ОВ (ОР 4,208; 95 % ДИ 1,322–13,393; $p = 0,015$) и увеличивающим риск рецидива (ОР 9,083; 95 % ДИ 3,119–26,451; $p < 0,001$). Наиболее ярко неблагоприятное прогностическое значение делеций *IKZF1* проявилось в группе промежуточного риска ($p < 0,001$), а у больных из групп стандартного и высокого риска наличие делеций не было связано с прогнозом. Большинство делеций *IKZF1* – 12 (80 %) из 15 – было выявлено в группе «другие В-линейные ОЛЛ» ($n = 83$). В этой группе делеции *IKZF1* являлись независимым фактором, снижающим БСВ (ОР 6,172; 95 % ДИ 1,834–20,767; $p = 0,003$) и увеличивающим риск рецидива (ОР 16,303; 95 % ДИ 3,324–79,965; $p = 0,015$). Таким образом, мы показали, что делеции гена *IKZF1* являются независимым фактором, ухудшающим прогноз ВП-ОЛЛ у детей.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, дети, прогноз, факторы риска, делеции гена *IKZF1*

DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-4-32-48

IKZF1 deletions are independent prognostic factor in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia

G.A. Tsaur¹⁻⁴, A.E. Druy^{2,5}, A.G. Solodnikov^{2,4}, A.M. Popov⁵, A.P. Shapochnik⁶, L.V. Vakhonina^{1,2}, A.A. Vlasova¹, T.O. Riger^{1,2},
T. Yu. Verzhbitskaya^{1,2}, Yu. V. Olshanskaya⁵, E. V. Shorikov⁷, O.R. Arakaev^{1,2}, L.I. Saveliev^{1,2,4}, L.G. Fechina¹

¹Regional Children's Clinical Hospital No 1; 32 Serafimy Deryabinoy St., Ekaterinburg 620149, Russia;

²Research Institute of Medical Cell Technologies; 22a Karla Marksa St., Ekaterinburg 620026, Russia;

³Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin; 19 Mira St., Ekaterinburg 620002, Russia;

⁴Ural State Medical University, Ministry of Health of Russia; 3 Repina St., Ekaterinburg 620030, Russia;

⁵Federal Research Centre of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology named after Dmitriy Rogachev;
1 Samory Mashela St., Moscow 117997, Russia;

⁶Orenburg Regional Clinical Oncological Dispensary; 11 Gagarina Prospekt, Orenburg 460021, Russia;

⁷Morozov Pediatric City Clinical Hospital, Moscow Healthcare Department; 1/9 4th Dobryninskiy Pereulok, Moscow 119049, Russia

We assessed the prognostic significance of *IKZF1* gene deletions in 141 pediatric patients with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (BCP-ALL) on Russian multicenter trial in pediatric clinics of Ekaterinburg and Orenburg. *IKZF1* deletions were estimated by multiplex ligation-dependent probe amplification. *IKZF1* deletions were revealed in 15 (10.6 %) patients. *IKZF1* deletions were associated with age older

than 10 years ($p = 0.007$), initial white blood cell count higher than $30 \times 10^9/l$ ($p = 0.003$), $t(9;22)(q34;q11)$ ($p = 0.003$) and delayed blast clearance: M3 status of bone marrow at day 15 of remission induction ($p = 0.003$), lack of hematological remission at day 36 ($p < 0.001$) and high levels of minimal residual disease at days 15, 36 and 85 ($p = 0.014$; $p < 0.001$; $p = 0.001$ correspondingly). Patients with *IKZF1* deletions had significantly lower event-free survival (EFS) (0.30 ± 0.15 vs 0.89 ± 0.03 ; $p < 0.001$) and overall survival (OS) (0.44 ± 0.19 vs 0.93 ± 0.02 ; $p < 0.001$), while cumulative incidence of relapse was higher (0.67 ± 0.18 vs 0.07 ± 0.02 ; $p < 0.001$). In the multivariate analysis *IKZF1* deletions were associated with decreased EFS (hazard ratio (HR) 4.755; 95 % confidence interval (CI) 1.856–12.185; $p = 0.001$), and OS (HR 4.208; 95 % CI 1.322–13.393; $p = 0.015$), but increased relapse risk (HR 9.083; 95 % CI 3.119–26.451; $p < 0.001$). *IKZF1* deletions retained their prognostic significance in the intermediate risk group patients ($p < 0.001$), but not in standard or high-risk groups. Majority of *IKZF1* deletions – 12 (80 %) of 15 – were revealed in the “B-other” group ($n = 83$). In this cohort of patients *IKZF1* deletions led to inferior EFS (HR 6.172; 95 % CI 1.834–20.767; $p = 0.003$) and higher relapse rate (HR 16.303; 95 % CI 3.324–79.965; $p = 0.015$). Thus, our results showed that *IKZF1* deletions are independent risk factor in BCP-ALL patients.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, children, prognosis, risk factors, *IKZF1* deletions

Введение

Использование интенсивной программной полихимиотерапии значительно улучшило прогноз течения острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) у детей. На сегодняшний день общая выживаемость (ОВ) пациентов превышает 90 %, а бессобытийная выживаемость (БСВ) – 80 %. В то же время остаются отдельные группы больных, эффективность терапии в которых значительно ниже. Поиск и тщательная характеристика этих прогностически неблагоприятных групп необходимы для корректной стратификации, своевременного планирования трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и использования новых таргетных препаратов.

Одной из таких групп с неблагоприятным исходом ОЛЛ являются больные с делециями в гене *IKZF1*, расположенном в хромосомном районе 7p12.2. Ген *IKZF1*, состоящий из 8 экзонов, кодирует белок из 519 аминокислот, часто обозначаемый как IKAROS. Экзон 1 не транслируется, но, возможно, вместе с промоторным регионом регулирует транскрипцию гена [1]. Экзоны 4–6 кодируют 4 N-концевых цинковых пальца, которые необходимы для связывания с ДНК, а экзон 8 – 2 C-концевых цинковых пальца, которые необходимы IKAROS для димеризации, а также для связывания с другими членами своего семейства белков [2, 3] (рис. 1а, б). Данное семейство состоит из 5 белков, которые получили свои обозначения на основе имен персонажей греческой мифологии (табл. 1). Описано 9 изоформ белка IKAROS, синтезирующихся преимущественно вследствие альтернативного сплайсинга. Исключение составляет только изоформа б, в подавляющем большинстве случаев образующаяся при делеции экзонов 4–7 гена *IKZF1* [1]. В норме IKAROS является транскрипционным фактором, и при этом он способствует дифференцировке лимфоидных клеток на самых ранних этапах лимфопоэза, блокирует их пролиферацию и контролирует миграционные свойства гемопоэтических клеток [8, 9].

У больных ОЛЛ из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ) описано около 30 точечных мутаций в гене *IKZF1* [10–14], однако наиболее частым генетическим событием в нем являются делеции. Делеции могут

затрагивать как весь ген *IKZF1*, так и отдельные его экзоны (так называемые фокальные делеции). Наиболее часто встречаются делеции экзонов 4–7, реже тотальные делеции гена (экзоны 1–8), еще реже делеции экзонов 2–7, 4–8, 2–3, 2–8 (даны в порядке убывания частоты) [10, 15–17] (рис. 1в).

Впервые связь делеций с прогнозом ВП-ОЛЛ была описана 2 исследовательскими группами в 2007 г. [18, 19]. После этого возник большой интерес к данной проблематике, и делеции в гене *IKZF1* были описаны не только при ВП-ОЛЛ у детей и взрослых. Было показано, что они выявляются у подавляющего большинства больных Ph-позитивным ОЛЛ [6, 15, 20], а также более чем в половине случаев лимфоидного бластного криза при хроническом миелоидном лейкозе [15, 21], в 40 % случаев при *BCR-ABL1*-подобном профиле экспрессии генов [22] и примерно у трети больных ОЛЛ и болезнью Дауна [23]. Во всех этих случаях делеции *IKZF1* являются независимым прогностическим фактором, связанным с неблагоприятным прогнозом заболевания. Также изредка делеции *IKZF1* встречаются при Т-линейных ОЛЛ [24], вторичном остром миелоидном лейкозе [25], однако в этих случаях их прогностическая роль остается неясной.

Таблица 1. Структура семейства белков, к которому относится IKAROS (по данным [4–6])

Название белка	Размер белка (число аминокислот)*	Название гена	Локализация гена	Число экзонов*
IKAROS (IKZF1)	519	<i>IKZF1</i>	7p12.2	8
HELIOS (IKZF2)	526	<i>IKZF2</i>	2q34	9
AIOLOS (IKZF3)	509	<i>IKZF3</i>	17q12–21.1	8
EOS (IKZF4)	585	<i>IKZF4</i>	12q13.2	12
PEGASUS (IKZF5)	419	<i>IKZF5</i>	10q26.13	5

*Размер белка и количество экзонов в гене приведены по данным [7].

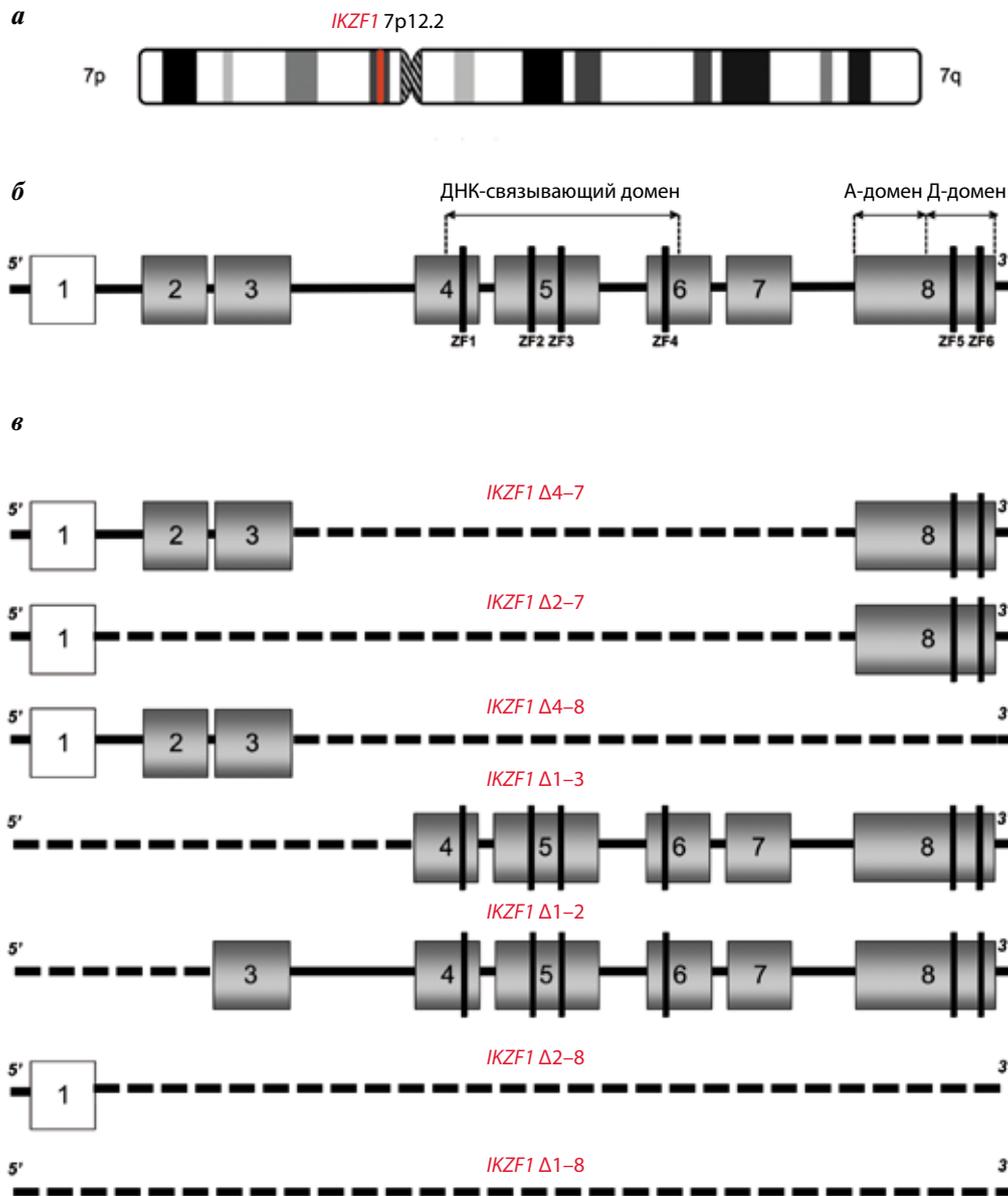


Рис. 1. Локализация и структура гена *IKZF1*: а – схема расположения гена *IKZF1* в хромосомном районе 7p12.2; б – структура гена *IKZF1* с указанием кодирующих (2–8) и некодирующего (1) экзонов (ZF – цинковые пальцы); в – структура различных изоформ *IKZF1* в зависимости от типа делеции

Взаимосвязь между делециями гена *IKZF1* и прогнозом ВП-ОЛЛ у детей была показана многими исследовательскими группами (AIEOP, BFM, COG, DCOG, NOPHO) [11, 24, 26–28], однако в нашей стране, где в большинстве педиатрических клиник применяют протоколы группы «Москва–Берлин» (МВ), подобное исследование ранее не проводили.

Цель исследования – оценить прогностическое значение делеций гена *IKZF1* у детей с ВП-ОЛЛ, получающих лечение по протоколу ALL-МВ 2008.

Материалы и методы

В исследование был включен 141 пациент с ВП-ОЛЛ, получавший лечение по протоколу ALL-МВ 2008 в отделе детской онкологии и гематологии Областной детской клинической больницы № 1 г. Екатеринбурга ($n = 120$)

и детском онкологическом отделении Оренбургского областного клинического онкологического диспансера ($n = 21$) с апреля 2008 г. по октябрь 2013 г. Критериями включения в данное исследование были диагноз ВП-ОЛЛ, возраст от 1 года до 16 лет, а также наличие ДНК, выделенной из бластных клеток, взятых во время установления диагноза. В исследуемой группе было 75 (53,2 %) мальчиков и 66 (46,8 %) девочек в возрасте от 1,1 года до 16 лет (медиана 3,15 года). Медиана времени наблюдения составила 4,2 года. Диагноз ОЛЛ устанавливали на основании стандартных морфологических показателей [29] и данных иммунофенотипирования согласно критериям European Group for the Immunological Characterization of Leukemias [30, 31]. При проведении цитогенетического исследования применяли краткосрочное культивирование клеток

в течение 24 ч. Дифференциальную окраску хромосом на G-полосы проводили красителем Гимза после предварительной обработки препаратов трипсином. В большинстве случаев анализировали не менее 11 метафазных пластинок. Анализ хромосом выполняли в соответствии с международной номенклатурой хромосом человека, принятой на момент выполнения стандартного цитогенетического исследования [32–34]. В ходе данной работы все кариотипы были повторно оценены с учетом рекомендаций International System for Human Cytogenetic Nomenclature 2013 [34]. У 2 (1,4 %) детей диагностирована болезнь Дауна. Все больные ВП-ОЛЛ также обследованы методом обратнo-транскриптазной полимеразной цепной реакции (ПЦР). При этом химерный транскрипт *BCR-ABL1* выявлен в 2 (1,4 %) случаях, *ETV6-RUNX1* – в 32 (22,7 %), *TCF3-PBX1* – в 5 (3,5 %), *MLL-MLLT3* – в 1 (0,7 %) случае, а химерные транскрипты *MLL-AF4* и *MLL-MLLT1* не были обнаружены в исследуемой группе. Методика определения химерных транскриптов в целом идентична описанной нами ранее [35, 36].

Исходя из критериев стратификации протокола ALL-MB 2008 [37] в группу стандартного риска были включены 62 (44,0 %) больных, промежуточного риска – 64 (45,4 %), высокого риска – 15 (10,6 %) пациентов.

Группу риска по критериям Национального института рака США (National Cancer Institute, NCI) [38] рассчитывали исходя из возраста на момент диагностики и величины инициального лейкоцитоза. Для включения в группу низкого риска необходимо одновременное наличие 2 условий: лейкоцитоз ниже $50 \times 10^9/\text{л}$ и возраст старше 1 года, но младше 10 лет. К группе низкого риска отнесено 95 (67,4 %) пациентов. В группу высокого риска были включены 46 (32,6 %) больных с лейкоцитозом выше $50 \times 10^9/\text{л}$ и/или в возрасте 10 лет и старше.

Деление на группы цитогенетического риска проводили согласно рекомендациям A.V. Moorman и соавт. [39]. Группа низкого цитогенетического риска включала 48 (34,0 %) больных с транслокацией $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$ или высокой гипердиплоидией (51–65 хромосом). Для включения в группу высокого цитогенетического риска ($n = 3$; 2,1 %) необходимо наличие одной из следующих генетических аберраций: транслокации $t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1$, $t(17;19)(q23;p13)/TCF3-HLF$, перестройки $11q23/MLL$, околотаплоидный кариотип (менее 30 хромосом), низкая гиподиплоидия/околотаплоидный кариотип (30–39/66–78 хромосом), внутривхромосомная амплификация 21 (iAMP21). Группа промежуточного риска ($n = 90$; 63,8 %) включала любые другие хромосомные аномалии, а также нормальный кариотип.

Группу «другие В-линейные ОЛЛ» ($n = 83$; 58,9 %) выделяли после исключения всех неслучайных количественных (высокая гипердиплоидия, гиподиплоидия) и структурных ($t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$,

$t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1$, $t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1$, перестройки $11q23/MLL$) цитогенетических аберраций.

Определение минимальной остаточной болезни (МОБ) методом проточной цитометрии проводили по ранее описанной методике [40, 41] с выделением групп риска по результатам оценки на 15, 36 и 85-й дни (а для группы высокого риска – после 1-го блока высокодозной химиотерапии) [42]. Оценку МОБ на 15-й день выполнили у 116, на 36-й день – у 119, на 85-й день – у 118 больных.

Выявление делеций в гене *IKZF1* проводили методом множественной лигазной амплификации зондов (MLPA) с использованием наборов SALSA MLPA P335 ALL-IKZF1 и SALSA MLPA P202 IKZF1 (IKAROS) (оба – MRC-Holland, Нидерланды) согласно инструкции производителя. На 1-м этапе все образцы ДНК исследовали с помощью набора SALSA MLPA P335 ALL-IKZF1. Данный набор содержит по 1 зонду для каждого из 8 экзонов гена *IKZF1*, 7 зондов для гена *PAX5*, 6 зондов для гена *ETV6*, 5 зондов для гена *RBI*, по 4 зонда для гена *BTG1* и нижерасположенного региона, 4 зонда для гена *EBF1*, 3 зонда для *CDKN2A/B* и 5 зондов для региона PAR1, в который входят гены *SHOX*, *CRLF2*, *CSF2RA*, *IL3RA*, *P2RY8*. Образцы, в которых выявлены делеции *IKZF1*, повторно тестировали с помощью набора SALSA MLPA P202 IKZF1 (IKAROS). Набор P202 содержит по 2 зонда к каждому экзону *IKZF1*. Делецию *IKZF1* считали обнаруженной при согласованном выявлении обоими наборами. Фрагментный анализ выполняли на генетическом анализаторе ABI Prism 3130 (Applied Biosystems, Япония).

Полученные данные анализировали с применением программного обеспечения Coffalyser.Net (MRC-Holland, Нидерланды). Пики, выявляемые в ходе фрагментного анализа, нормализовали по отношению к 5 контрольным ДНК, полученным от здоровых доноров. Относительную высоту пиков от 0,75 до 1,25 по отношению к контрольным ДНК расценивали как нормальное количество, соответствующее диплоидному набору. Значения менее 0,75 и более 1,25 соответствовали делеции или увеличению числа копий соответственно. Значения менее 0,25 расценивали как биаллельную делецию.

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение SAS, Statistica 8.0 и R-statistics. При сравнении по качественным признакам использовали критерий χ^2 с поправкой Йетса, при сравнении по количественным признакам – критерий Манна–Уитни. Результаты терапии оценивали по кривым БСВ и ОВ, построенным по методу Каплана–Майера, а также по кумулятивной вероятности развития рецидива (КВР). Для сравнения кривых использовали непараметрические критерий log-rank (для БСВ и ОВ) и критерий Грея (для КВР). При расчете БСВ под событиями понимали рецидив, смерть вследствие любой причины как первое событие, выход из-под наблюдения. Стандартную ошибку рассчитывали

по формуле Гринвуда. Расчет относительного риска (ОР) с 95 % доверительным интервалом (ДИ) был проведен по методу пропорционального риска Кокса в однофакторной и многофакторной моделях. Многофакторный анализ проведен для значимых в однофакторном анализе показателей в зависимости от их значимости на основании величин p и ОР методом последовательного исключения. Параметры сравнивали с использованием теста Вальда. Все различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Делеции в гене *IKZF1* выявлены у 15 (10,6 %) пациентов. Делеция всего гена обнаружена в 3 (20 %) случаях, самые частые из фокальных делеций – делеции экзонов 4–7 и экзонов 2–7 – обнаружены в 4 (26,7 %) случаях каждая. Более подробно типы выявленных делеций представлены в табл. 2. Все обнаруженные делеции являлись моноаллельными.

Связь делеций *IKZF1* с различными инициальными факторами, а также с показателями ответа на терапию приведена в табл. 3. Из нее видно, что больные, у которых обнаружены делеции *IKZF1*, были старше остальных (медиана возраста 9,7 и 3,2 года соответственно; $p = 0,007$), они чаще относились к группе высокого риска при лечении по протоколу ALL-MB 2008 (53,3 и 5,6 % соответственно; $p < 0,001$) и группе высокого риска по NCI (66,7 и 28,6 % соответственно; $p = 0,007$). У больных с делециями *IKZF1* чаще выявляли инициальный лейкоцитоз выше $30 \times 10^9/\text{л}$ (60,0 и 21,3 % соответственно; $p = 0,007$) и транслокацию $t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1$ (13,3 и 0 % соответственно; $p = 0,003$). Наличие делеций *IKZF1* сопровождалось замедленным клиренсом бластных клеток: МЗ-статус костного мозга на 15-й день индукционной терапии регистрировали чаще, чем у больных без делеций (40,0 и 9,4 % соответственно; $p = 0,003$), также чаще выявляли высокий уровень МОБ на 15, 36 и 85-й дни терапии ($p = 0,014$; $p < 0,001$; $p = 0,001$ соответственно). Кроме того, при наличии делеций *IKZF1* 4 (26,7 %) пациента не достигли клинико-гематологической ремиссии к 36-му дню индукционной терапии, что встречалось статистически значимо чаще, чем в группе без делеций (2,4 %; $p < 0,001$).

Больные с делециями гена *IKZF1* имели статистически значимо более низкую БСВ по сравнению с пациентами без делеций ($0,30 \pm 0,15$ и $0,89 \pm 0,03$ соответственно; $p < 0,001$), что в первую очередь было обусловлено более высокой КВР в этой группе ($0,67 \pm 0,18$ и $0,07 \pm 0,02$ соответственно; $p < 0,001$). ОВ была статистически значимо ниже у больных с наличием делеций *IKZF1* по сравнению с теми, у кого делеции не были выявлены ($0,44 \pm 0,19$ и $0,93 \pm 0,02$ соответственно; $p < 0,001$) (рис. 2).

Однофакторный анализ всех инициальных переменных и показателей ответа на терапию (без учета данных определения МОБ) показал, что прогности-

чески неблагоприятными факторами, влияющими на возникновение неблагоприятных событий у больных ОЛЛ, получавших лечение по протоколу ALL-MB 2008, кроме делеций *IKZF1* являлись группа высокого риска при лечении по данному протоколу ($p < 0,001$), группа высокого риска по NCI ($p = 0,001$), группа высокого цитогенетического риска ($p = 0,032$), возраст старше 10 лет ($p = 0,008$), инициальный лейкоцитоз как выше $30 \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,001$), так и выше $50 \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,001$), число бластных клеток более 1000 на 8-й день индукционной терапии ($p = 0,033$), МЗ-статус костного мозга на 15-й день индукционной терапии ($p < 0,001$), отсутствие клинико-гематологической ремиссии на 36-й день ($p < 0,001$). В то же время проведение многофакторного анализа выявило только 3 прогностически значимых показателя в исследуемой группе: делеции *IKZF1*, инициальный лейкоцитоз выше $30 \times 10^9/\text{л}$ и более 25 % бластных клеток на 15-й день терапии (табл. 4). Идентичные показатели оказались прогностически важными в многофакторном анализе и в тех случаях, когда в качестве неблагоприятного события рассматривались только рецидивы (табл. 5) или смерть от любых причин (табл. 6).

Различия в прогнозе между больными с делециями *IKZF1* и без них сохранялись для группы промежуточного риска при лечении по протоколу ALL-MB 2008 (БСВ $0,26 \pm 0,22$ и $0,90 \pm 0,05$; $p < 0,001$; КВР $0,73 \pm 0,30$ и $0,08 \pm 0,05$; $p < 0,001$) (рис. 3), но не достигли статистической значимости у больных из группы высокого риска (БСВ $0,25 \pm 0,15$ и $0,57 \pm 0,19$; $p = 0,467$; КВР $0,71 \pm 0,19$ и $0,20 \pm 0,18$; $p = 0,179$) (рис. 4). Интересно отметить, что в группу стандартного риска протокола ALL-MB 2008 было отнесено всего 2 пациента с делециями *IKZF1*, и оба они находятся в 1-й продолжающейся ремиссии.

Отдельно был проведен анализ влияния делеций *IKZF1* на результаты терапии среди 83 больных из группы «другие В-линейные ОЛЛ». Большинство делеций – 12 (80 %) из 15 – были выявлены именно в этой группе. Частота выявления делеций *IKZF1* среди «других В-линейных ОЛЛ» составила 14,5 %. Так же как и в общей группе больных, делеции *IKZF1* приводили к более низкой БСВ ($0,24 \pm 0,18$ и $0,88 \pm 0,04$ соответственно;

Таблица 2. Виды делеций гена *IKZF1*, выявленные методом множественной лигазной амплификации зондов

Вид делеции <i>IKZF1</i>	Абс.	%
Полная делеция гена (экзоны 1–8)	3	20,0
Частичная делеция гена, в том числе:	12	80,0
экзонов 4–7	4	26,7
экзонов 2–7	4	26,7
экзонов 4–8	2	13,3
экзонов 2–3	1	6,7
экзонов 1–5	1	6,7
Всего	15	100

Таблица 3. Инициальная характеристика и ответ на терапию пациентов с наличием и отсутствием делеций *IKZF1*

Показатель	Делеция <i>IKZF1</i> (n = 15)	Отсутствие делеции <i>IKZF1</i> (n = 126)	p
Возраст, медиана (диапазон), лет	9,7 (1,2–15,4)	3,2 (1,1–16,0)	0,007
Мальчики/девочки, n (%)	8 (53,3)/7 (46,7)	67 (53,2)/59 (46,8)	0,817
Группа риска по ALL-MB 2008, n (%): стандартная (n = 62) промежуточная (n = 64) высокая (n = 15)	2 (13,3) 5 (33,3) 8 (53,3)	60 (47,6) 59 (46,8) 7 (5,6)	< 0,001
Группа риска по NCI, n (%): низкая (n = 95) высокая (n = 46)	5 (33,3) 10 (66,7)	90 (71,4) 36 (28,6)	0,007
Инициальный лейкоцитоз > 30 × 10 ⁹ /л, n (%)	9 (60,0)	27 (21,4)	0,003
Инициальный лейкоцитоз > 50 × 10 ⁹ /л, n (%)	6 (40,0)	22 (17,3)	0,081
Размер селезенки на 4 см и более ниже реберной дуги, n (%)	6 (40,0)	52 (41,3)	0,836
Наличие нейрорлейкоза, n (%)	3 (20,0)	20 (15,9)	0,958
Наличие t(12;21)(p13;q22)/ <i>ETV6-RUNX1</i> , n (%)	0	32 (25,4)	0,060
Наличие t(9;22)(q34;q11)/ <i>BCR-ABL1</i> , n (%)	2 (13,3)	0	0,003
Наличие t(1;19)(q23;p13)/ <i>TCF3-PBX1</i> , n (%)	1 (6,7)	4 (3,1)	0,967
Наличие перестроек 11q23/ <i>MLL</i>	0	1 (0,8)	0,198
Группа цитогенетического риска, n (%): низкая (n = 48) промежуточная (n = 91) высокая (n = 3)	0 13 (86,7) 2 (13,3)	48 (38,1) 77 (61,1) 1 (0,8)	< 0,001
Более 1000 бластов в 1 мкл периферической крови на 8-й день терапии, n (%)	2 (13,3)	6 (4,8)	0,438
M3-статус костного мозга на 15-й день терапии, n (%)	6 (40,0)	12 (9,5)	0,003
Отсутствие ремиссии на 36-й день терапии, n (%)	4 (26,7)	3 (2,4)	< 0,001
МОБ на 15-й день терапии, n (%)*: < 0,1 % 0,1–10 % ≥ 10 %	2 (18,2) 4 (36,4) 5 (45,4)	42 (40,0) 50 (47,6) 13 (12,4)	0,014
МОБ на 36-й день терапии, n (%): < 0,1 % ≥ 0,1 %	4 (33,3) 8 (66,7)	93 (86,9) 14 (13,1)	< 0,001
МОБ на 85-й день терапии, n (%): < 0,01 % ≥ 0,01 %	7 (58,3) 5 (41,7)	99 (93,4) 7 (6,6)	0,001

Примечание. МОБ – минимальная остаточная болезнь. *Определение МОБ на 15, 36 и 85-й дни терапии проведено только у части пациентов (подробно см. в разделе «Материалы и методы»).

Здесь и в табл. 4–10: жирным шрифтом выделены статистически значимые различия ($p < 0,05$).

$p < 0,001$) и более высокой КВР ($0,73 \pm 0,27$ и $0,06 \pm 0,03$ соответственно; $p < 0,001$) (рис. 5). В этой группе больных делеция *IKZF1* являлись независимым фактором, снижающим БСВ (ОР 6,172; 95 % ДИ 1,834–20,767; $p = 0,003$) (табл. 7) и увеличивающим риск рецидива (ОР 16,303; 95 % ДИ 3,324–79,965; $p = 0,015$) (табл. 8), но не влияющим на риск смерти (ОР 1,386; 95 % ДИ 0,192–10,004; $p = 0,746$) (табл. 9).

Важно отметить, что даже при включении в многофакторную модель такого мощного показателя, как МОБ, делеция *IKZF1* сохраняли свое независимое прогно-

тическое значение по влиянию на БСВ, ОВ и риск рецидива (табл. 10). А внутри группы больных с делециями *IKZF1*, несмотря на малое количество наблюдений, результаты определения МОБ на 36-й и 85-й дни терапии позволили разделить больных на группы с разным прогнозом. Так, при величине МОБ менее 0,1 % на 36-й день БСВ пациентов с делециями *IKZF1* составила $0,67 \pm 0,27$, тогда как при более высокой МОБ – 0 ($p = 0,046$). А при любом положительном результате на 85-й день БСВ пациентов с делециями *IKZF1* также была существенно ниже по сравнению

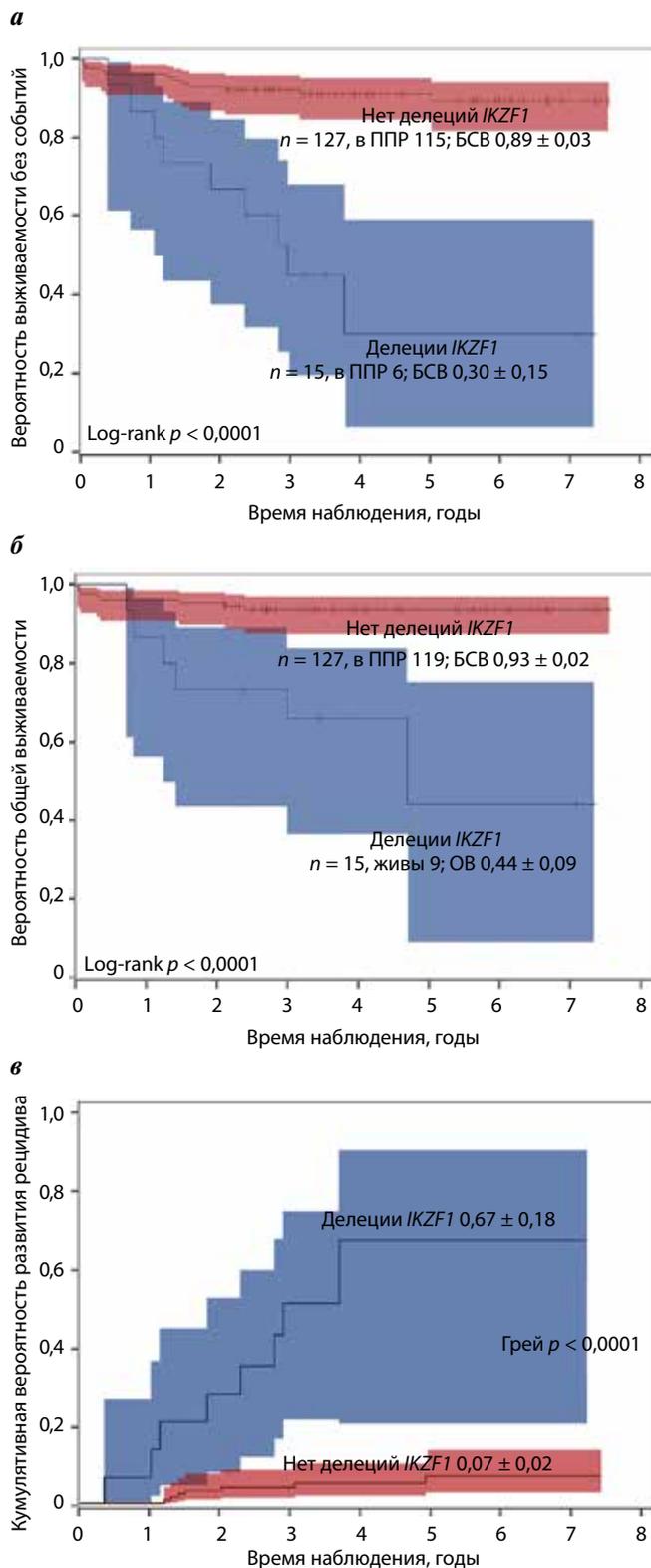


Рис. 2. Прогностическое значение делеций *IKZF1* в общей группе пациентов: а – бессобытийная выживаемость (БСВ) в зависимости от наличия делеций *IKZF1*; б – общая выживаемость в зависимости от наличия делеций *IKZF1*; в – кумулятивная вероятность развития рецидива. Медиана времени наблюдения 4,2 года. Здесь и на рис. 3–5: ППР – полная продолжающаяся ремиссия

с МОБ-негативными пациентами этой же группы (0 и $0,69 \pm 0,19$ соответственно; $p = 0,036$).

Обсуждение

Для выявления делеций *IKZF1* можно использовать разные методики: исследование спектра однонуклеотидных полиморфизмов (SNP array) [19], микроматричный анализ на чипах высокой плотности [26], прямое секвенирование [11], MLPA [43], ПЦП с детекцией методом капиллярного электрофореза [44]. Проведенные сравнительные исследования показали сходные результаты при использовании разных методов [11, 24]. Мы применили метод MLPA, который ранее хорошо зарекомендовал себя для выявления делеций *IKZF1* [24, 27, 43]. Он технически легко выполним и не требует специального оборудования, кроме амплификатора для ПЦП и оборудования для капиллярного электрофореза (в нашем случае – генетического анализатора ABI Prism 3130).

Выявленная нами частота делеций *IKZF1* у больных ВП-ОЛЛ (10,6 %) оказалась несколько ниже, чем данные, полученные в Швеции (15,0 %) [45], Нидерландах (13,7 %) [11], Италии (13,2 %) [27] и Германии (12,1 %) [24], но близка к результатам, опубликованным исследователями из Тайваня (10,7 %) [44]. В то же время у детей с ОЛЛ в Чехии была получена даже более низкая частота распространенности делеций *IKZF1* (6,8 %) [46]. Скорее всего, выявленные различия связаны с географическими особенностями вследствие разного этнического состава населения.

Опубликованные данные о спектре делеций *IKZF1* показали, что наиболее частыми являются делеции экзонов 4–7 и всего гена (экзоны 1–8), на долю которых суммарно приходится около 70 % всех делеций [17, 24, 27]. Наши данные показали несколько меньшую относительную частоту этих наиболее частых вариантов, которые суммарно были выявлены у 47 % больных. У наших пациентов 2 самыми частыми вариантами были делеции экзонов 2–7 и 4–7, обнаруженные в 26,7 % случаев каждая, а делеция всего гена встречалась несколько реже – у 20,0 % пациентов. Причиной полученных различий может быть относительно небольшое число выявленных нами случаев с делецией *IKZF1*. Однако этот вопрос требует отдельного изучения на большей выборке больных.

Неоднократно в рамках разных терапевтических протоколов показано, что делеции гена *IKZF1* независимо от их типа и количества вовлеченных экзонов [13] являются фактором, ассоциированным с неблагоприятным исходом при *BCR-ABL1*-негативном ВП-ОЛЛ у детей [10, 11, 24, 26, 27, 45]. Наши данные подтвердили эти более ранние находки. Для детей, получавших лечение по протоколу ALL-MB 2008, наличие делеций в гене *IKZF1* являлось независимым прогностическим фактором, существенно снижающим показатели БСВ и ОБ, в первую очередь за счет повышения вероятности рецидива.

На сегодняшний день особый интерес для исследователей представляет группа «другие В-линейные ОЛЛ», что связано, с одной стороны, с отсутствием

Таблица 4. Анализ прогностических показателей, влияющих на возникновение неблагоприятных событий у пациентов с острым лимфобластным лейкозом из В-линейных предшественников

Показатель	Число пациентов	Число событий	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
			относительный риск	95 % доверительный интервал	p	относительный риск	95 % доверительный интервал	p
<i>Пол</i>								
Мужской	75	9	Референтное	–	0,373			
Женский	66	11	1,493	0,618–3,609				
<i>Возраст</i>								
Младше 10 лет	115	12	Референтное	–	0,008	Референтное	–	0,479
Старше 10 лет	26	8	3,348	1,368–8,195		1,628	0,422–6,280	
<i>Инициальный лейкоцитоз</i>								
Менее $30 \times 10^9/\text{л}$	105	9	Референтное	–	0,001	Референтное	–	0,010
Более $30 \times 10^9/\text{л}$	36	11	4,688	1,921–11,436		3,493	1,349–9,042	
<i>Нейролейкоз</i>								
Нет	118	15	Референтное	–	0,255			
Есть	23	5	1,800	0,654–4,957				
<i>Размер селезенки ниже реберной дуги</i>								
Менее 4 см	83	11	Референтное	–	0,652			
4 см и более	58	9	1,225	0,507–2,957				
<i>Группа цитогенетического риска</i>								
Низкая	48	4	Референтное	–	0,040	Референтное	–	0,996
Промежуточная	90	14						
Высокая	3	2	2,699	1,047–6,956		1,003	0,290–3,471	
<i>Группа риска по протоколу ALL-MB 2008</i>								
Стандартная	62	4	Референтное	–	< 0,001	Референтное	–	0,595
Промежуточная	64	7						
Высокая	15	9	4,556	2,296–9,044		1,351	0,518–3,520	
<i>Группа риска по NCI</i>								
Низкая	95	7	Референтное	–	0,001	Референтное	–	0,953
Высокая	46	13	4,782	1,900–12,039		0,963	0,275–3,378	
<i>Количество бластов в 1 мкл периферической крови на 8-й день терапии</i>								
Менее 1000	133	17	Референтное	–	0,033	Референтное	–	0,727
Более 1000	8	3	3,833	1,117–13,156		0,794	0,184–3,418	
<i>Статус костного мозга на 15-й день терапии</i>								
M1	106	7	Референтное	–	< 0,001	Референтное	–	< 0,001
M2	17	3						
M3	18	10	3,522	2,141–5,795		2,873	1,708–4,830	
<i>Достижение ремиссии к 36-му дню терапии</i>								
Есть	134	16	Референтное	–	< 0,001	Референтное	–	0,675
Нет	7	4	7,259	2,406–21,904		0,749	0,194–2,890	
<i>Делеции в гене IKZF1</i>								
Нет	126	11	Референтное	–	< 0,001	Референтное	–	0,001
Есть	15	9	9,017	3,702–21,965		4,755	1,856–12,185	

Таблица 5. Анализ прогностических показателей, влияющих на возникновение рецидивов у пациентов с острым лимфобластным лейкозом из В-линейных предшественников

Показатель	Число пациентов	Число рецидивов	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
			относительный риск	95 % доверительный интервал	p	относительный риск	95 % доверительный интервал	p
Пол								
Мужской	75	6	Референтное	—	0,230			
Женский	66	9	1,886	0,670–5,311				
Возраст								
Младше 10 лет	115	10	Референтное	—	0,083			
Старше 10 лет	26	5	2,586	0,883–7,568				
Инициальный лейкоцитоз								
Менее $30 \times 10^9/\text{л}$	105	7	Референтное	—	0,003	Референтное	—	0,006
Более $30 \times 10^9/\text{л}$	36	8	4,780	1,711–13,351		4,975	1,593–15,542	
Нейролейкоз								
Нет	118	10	Референтное	—	0,064			
Есть	23	5	2,758	0,941–8,079				
Размер селезенки ниже реберной дуги								
Менее 4 см	83	9	Референтное	—	0,988			
4 см и более	58	6	1,008	0,359–2,833				
Группа цитогенетического риска								
Низкая	48	3	Референтное	—	0,038	Референтное	—	0,870
Промежуточная	90	10						
Высокая	3	2	3,247	1,066–9,892		1,130	0,262–4,873	
Группа риска по протоколу ALL-MB 2008								
Стандартная	62	3	Референтное	—	< 0,001	Референтное	—	0,999
Промежуточная	64	6						
Высокая	15	6	4,414	1,996–9,758		1,001	0,271–2,806	
Группа риска по NCI								
Низкая	95	6	Референтное	—	0,008	Референтное	—	0,536
Высокая	46	9	4,101	1,453–11,575		0,621	0,137–4,547	
Количество бластов в 1 мкл периферической крови на 8-й день терапии								
Менее 1000	133	12	Референтное	—	0,006	Референтное	—	0,336
Более 1000	8	3	6,008	1,683–21,449		2,125	0,458–9,868	
Статус костного мозга на 15-й день терапии								
M1	106	5	Референтное	—	< 0,001	Референтное	—	< 0,001
M2	17	3						
M3	18	7	3,656	2,057–6,497		3,311	1,796–6,103	
Достижение ремиссии к 36-му дню терапии								
Есть	134	13	Референтное	—	0,030	Референтное	—	0,367
Нет	7	2	5,217	1,172–23,218		0,446	0,076–2,575	
Делеции в гене IKZF1								
Нет	126	7	Референтное	—	< 0,001	Референтное	—	< 0,001
Есть	15	8	13,942	4,999–38,885		9,083	3,119–26,451	

Таблица 6. Анализ прогностических показателей, влияющих на риск смерти у пациентов с острым лимфобластным лейкозом из В-линейных предшественников

Показатель	Число пациентов	Число смертей	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
			относительный риск	95 % доверительный интервал	p	относительный риск	95 % доверительный интервал	p
Пол								
Мужской	75	7	Референтное	—	0,967			
Женский	66	6	1,023	0,343–3,051				
Возраст								
Младше 10 лет	115	6	Референтное	—	0,002	Референтное	—	0,115
Старше 10 лет	26	7	5,657	1,900–16,841		2,631	0,790–8,764	
Инициальный лейкоцитоз								
Менее $30 \times 10^9/\text{л}$	105	5	Референтное	—	0,003	Референтное	—	0,032
Более $30 \times 10^9/\text{л}$	36	8	5,603	1,818–17,266		3,598	1,120–11,564	
Нейролейкоз								
Нет	118	10	Референтное	—	0,476			
Есть	23	3	1,599	0,439–5,821				
Размер селезенки ниже реберной дуги								
Менее 4 см	83	7	Референтное	—	0,630			
4 см и более	58	6	1,308	0,439–3,985				
Группа цитогенетического риска								
Низкая	48	2	Референтное	—	0,021	Референтное	—	0,430
Промежуточная	90	9						
Высокая	3	2	3,933	1,235–12,532		1,844	0,403–8,432	
Группа риска по протоколу ALL-MB 2008								
Стандартная	62	3	Референтное	—	< 0,001	Референтное	—	0,543
Промежуточная	64	3						
Высокая	15	7	4,631	2,003–10,706		0,665	0,178–2,480	
Группа риска по NCI								
Низкая	95	3	Референтное	—	0,002	Референтное	—	0,771
Высокая	46	10	8,002	2,200–29,228		0,695	0,060–8,036	
Количество бластов в 1 мкл периферической крови на 8-й день терапии								
Менее 1000	133	11	Референтное	—	0,091			
Более 1000	8	2	3,688	0,810–16,782				
Статус костного мозга на 15-й день терапии								
M1	106	5	Референтное	—	< 0,001	Референтное	—	0,007
M2	17	1						
M3	18	7	3,430	1,846–6,371		2,500	1,183–4,870	
Достижение ремиссии к 36-му дню терапии								
Есть	134	9	Референтное	—	< 0,001	Референтное	—	0,432
Нет	7	4	11,736	3,575–38,525		1,892	0,386–9,286	
Делеции в гене IKZF1								
Нет	126	7	Референтное	—	< 0,001	Референтное	—	0,015
Есть	15	6	8,280	2,768–24,770		4,208	1,322–13,393	

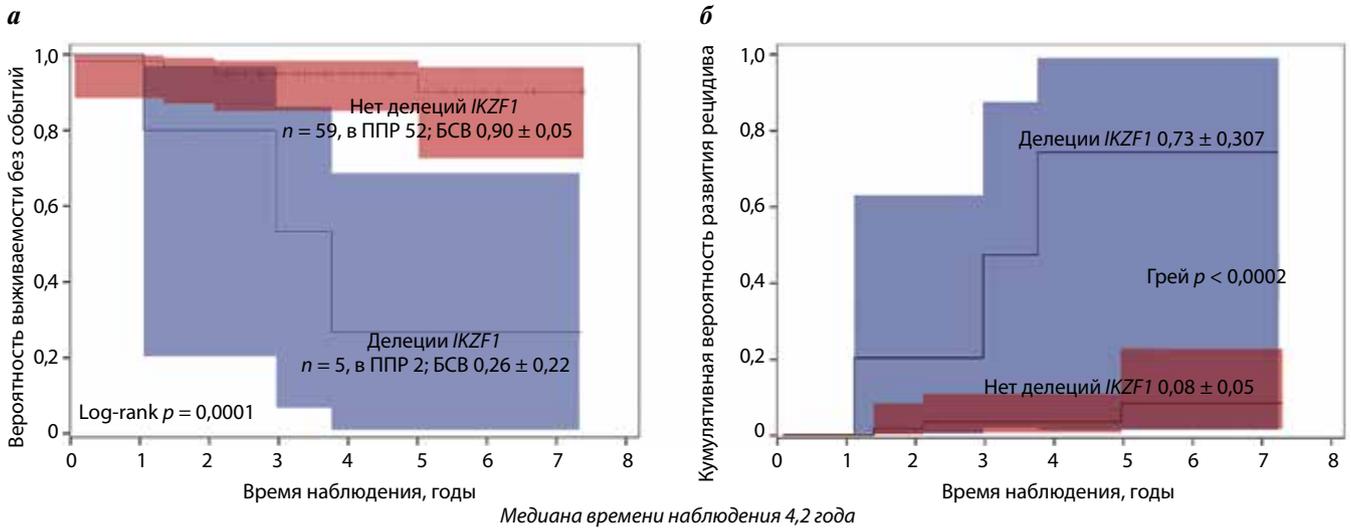


Рис. 3. Прогностическое значение делеций IKZF1 в группе промежуточного риска: а – бессобытийная выживаемость (БСВ) в зависимости от наличия делеций IKZF1; б – кумулятивная вероятность развития рецидива

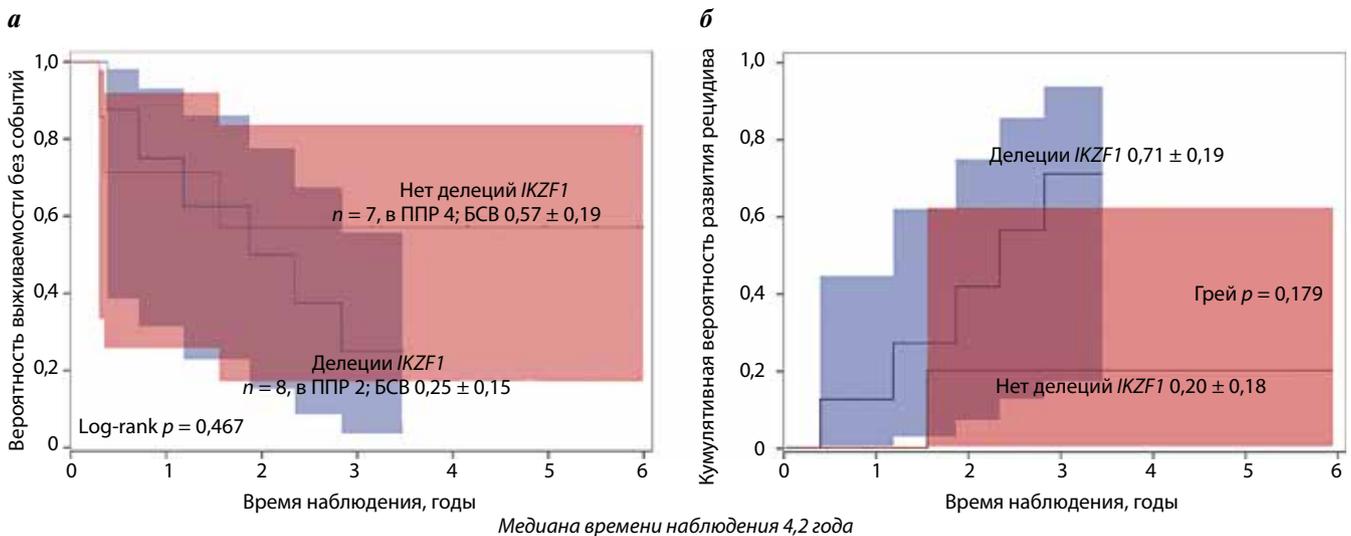


Рис. 4. Прогностическое значение делеций IKZF1 в группе высокого риска: а – бессобытийная выживаемость (БСВ) в зависимости от наличия делеций IKZF1; б – кумулятивная вероятность развития рецидива

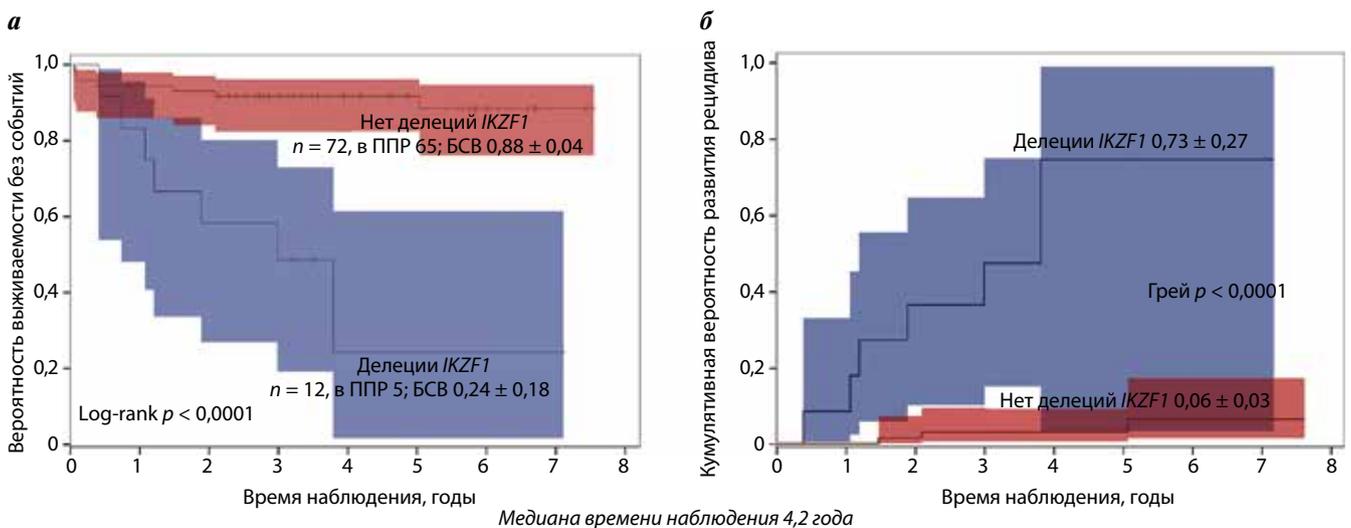


Рис. 5. Прогностическое значение делеций IKZF1 в группе «другие В-линейные острые лимфобластные лейкозы»: а – бессобытийная выживаемость (БСВ) в зависимости от наличия делеций IKZF1; б – кумулятивная вероятность развития рецидива

Таблица 7. Анализ прогностических показателей, влияющих на возникновение неблагоприятных событий у пациентов группы «другие В-линейные острые лимфобластные лейкозы»

Показатель	Число пациентов	Число событий	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
			относительный риск	95 % доверительный интервал	<i>p</i>	относительный риск	95 % доверительный интервал	<i>p</i>
Пол								
Мужской	46	6	Референтное	–	0,428			
Женский	37	7	1,557	0,521–4,649				
Возраст								
Младше 10 лет	65	7	Референтное	–	0,016	Референтное	–	0,476
Старше 10 лет	18	6	3,833	1,284–11,437		1,646	0,417–6,493	
Инициальный лейкоцитоз								
Менее 30 × 10 ⁹ /л	59	6	Референтное	–	0,025	Референтное	–	0,147
Более 30 × 10 ⁹ /л	24	7	3,501	1,169–10,491		2,415	0,735–7,918	
Нейролейкоз								
Нет	69	9	Референтное	–	0,173			
Есть	14	4	2,268	0,698–7,367				
Размер селезенки ниже реберной дуги								
Менее 4 см	45	6	Референтное	–	0,492			
4 см и более	38	7	1,466	0,492–4,364				
Группа риска по протоколу ALL-MB 2008								
Стандартная	33	2	Референтное	–	0,002	Референтное	–	0,644
Промежуточная	40	6						
Высокая	10	5	3,986	1,675–9,483		1,330	0,397–4,458	
Группа риска по NCI								
Низкая	54	5	Референтное	–	0,022	Референтное	–	0,464
Высокая	29	8	3,737	1,214–11,501		0,480	0,067–3,418	
Количество бластов в 1 мкл периферической крови на 8-й день терапии								
Менее 1000	78	11	Референтное	–	0,099			
Более 1000	5	2	3,563	0,786–16,148				
Статус костного мозга на 15-й день терапии								
M1	60	5	Референтное	–	0,001	Референтное	–	0,019
M2	9	1						
M3	14	7	2,944	1,599–5,416		2,183	1,140–4,182	
Достижение ремиссии к 36-му дню терапии								
Есть	77	9	Референтное	–	< 0,001	Референтное	–	0,903
Нет	6	4	9,538	2,866–31,739		1,109	0,212–5,792	
Делеции в гене IKZF1								
Нет	71	6	Референтное	–	< 0,001	Референтное	–	0,003
Есть	12	7	9,882	3,223–30,299		6,172	1,834–20,767	

Таблица 8. Анализ прогностических показателей, влияющих на риск возникновения рецидивов у пациентов группы «другие В-линейные острые лимфобластные лейкозы»

Показатель	Число пациентов	Число рецидивов	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
			относительный риск	95 % доверительный интервал	<i>p</i>	относительный риск	95 % доверительный интервал	<i>p</i>
Пол								
Мужской	46	3	Референтное	–	0,147			
Женский	37	7	2,799	0,696–11,252				
Возраст								
Младше 10 лет	65	6	Референтное	–	0,220			
Старше 10 лет	18	3	2,384	0,595–9,554				
Инициальный лейкоцитоз								
Менее 30 × 10 ⁹ /л	59	4	Референтное	–	0,037	Референтное	–	0,195
Более 30 × 10 ⁹ /л	24	5	4,101	1,093–15,394		3,092	0,562–17,029	
Нейтролейкоз								
Нет	69	5	Референтное	–	0,034	Референтное	–	0,015
Есть	14	4	4,155	1,115–15,487		6,476	1,448–28,964	
Размер селезенки ниже реберной дуги								
Менее 4 см	45	4	Референтное	–	0,481			
4 см и более	38	5	1,605	0,431–5,981				
Группа риска по протоколу ALL-MB 2008								
Стандартная	33	1	Референтное	–	0,006	Референтное	–	0,838
Промежуточная	40	5						
Высокая	10	3	4,466	1,541–12,941		0,829	0,139–4,962	
Группа риска по NCI								
Низкая	54	4	Референтное	–	0,088			
Высокая	29	5	3,163	0,843–11,871				
Количество бластов в 1 мкл периферической крови на 8-й день терапии								
Менее 1000	78	7	Референтное	–	0,024	Референтное	–	0,858
Более 1000	5	2	6,179	1,276–29,913		0,793	0,062–10,141	
Статус костного мозга на 15-й день терапии								
M1	60	3	Референтное	–	0,001	Референтное	–	0,016
M2	9	1						
M3	14	5	3,465	1,639–7,327		2,786	1,120–6,411	
Достижение ремиссии к 36-му дню терапии								
Есть	77	7	Референтное	–	0,011	Референтное	–	0,443
Нет	6	2	7,817	1,598–38,121		0,434	0,052–3,661	
Делеции в гене IKZF1								
Нет	71	3	Референтное	–	< 0,001	Референтное	–	0,001
Есть	12	6	20,668	4,946–86,361		16,303	3,324–79,965	

Таблица 9. Анализ прогностических показателей, влияющих на риск смерти у пациентов группы «другие В-линейные острые лимфобластные лейкозы»

Показатель	Число пациентов	Число смертей	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
			относительный риск	95 % доверительный интервал	<i>p</i>	относительный риск	95 % доверительный интервал	<i>p</i>
<i>Пол</i>								
Мужской	46	4	Референтное	–	0,770			
Женский	37	4	1,229	0,307–4,917				
<i>Возраст</i>								
Младше 10 лет	65	3	Референтное	–	0,008	Референтное	–	0,098
Старше 10 лет	18	5	6,976	1,664–29,246		3,747	0,785–17,880	
<i>Инициальный лейкоцитоз</i>								
Менее 30 × 10 ⁹ /л	59	3	Референтное	–	0,043	Референтное	–	0,280
Более 30 × 10 ⁹ /л	24	5	4,386	1,046–18,382		2,564	0,465–14,139	
<i>Нейролейкоз</i>								
Нет	69	6	Референтное	–	0,514			
Есть	14	2	1,647	0,332–8,164				
<i>Размер селезенки ниже реберной дуги</i>								
Менее 4 см	45	3	Референтное	–	0,330			
4 см и более	38	5	2,037	0,487–8,527				
<i>Группа риска по протоколу ALL-MB 2008</i>								
Стандартная	33	2	Референтное	–	0,022	Референтное	–	0,424
Промежуточная	40	2						
Высокая	10	4	3,420	1,190–9,833		0,536	0,116–2,470	
<i>Группа риска по NCI</i>								
Низкая	54	2	Референтное	–	0,026	Референтное	–	0,584
Высокая	29	6	6,144	1,239–30,474		0,370	0,011–13,030	
<i>Количество бластов в 1 мкл периферической крови на 8-й день терапии</i>								
Менее 1000	78	6	Референтное	–	0,036	Референтное	–	0,265
Более 1000	5	2	5,530	1,113–27,461		2,622	0,481–14,291	
<i>Статус костного мозга на 15-й день терапии</i>								
M1	60	3	Референтное	–	0,006	Референтное	–	0,802
M2	9	0						
M3	14	5	2,952	1,356–6,428		0,772	0,101–5,887	
<i>Достижение ремиссии к 36-му дню терапии</i>								
Есть	77	4	Референтное	–	< 0,001	Референтное	–	< 0,001
Нет	6	4	17,417	4,277–70,932		14,373	3,293–62,728	
<i>Делеции в гене IKZF1</i>								
Нет	71	4	Референтное	–	0,008	Референтное	–	0,746
Есть	12	4	6,479	1,615–26,001		1,386	0,192–10,004	

Таблица 10. Многофакторный анализ прогностических показателей с учетом делеций *IKZF1* и минимальной остаточной болезни на 15, 36 и 85-й дни терапии у 115 пациентов с острым лимфобластным лейкозом из В-линейных предшественников

Показатель	Относительный риск	95 % доверительный интервал	<i>P</i>
Бессобытийная выживаемость			
Величина МОБ на 15-й день терапии более 10 %	4,327	1,597–11,725	0,004
Величина МОБ на 85-й день терапии более 0,01 %	3,934	1,176–13,161	0,026
Делеции в гене <i>IKZF1</i>	6,966	1,834–20,767	0,003
Риск развития рецидива			
Величина МОБ на 15-й день терапии более 10%	4,632	1,734–12,379	0,002
Делеции в гене <i>IKZF1</i>	8,688	2,551–29,593	0,001
Общая выживаемость			
Величина МОБ на 15-й день терапии более 10%	17,286	2,178–137,174	0,007
Делеции в гене <i>IKZF1</i>	7,228	1,509–34,613	0,013

Примечание. МОБ – минимальная остаточная болезнь.

каких-либо известных прогностических факторов у этой категории больных, а с другой – со значительной долей этих больных среди всех случаев ВП-ОЛЛ. Проводится интенсивный поиск различных маркеров (*BCR-ABL1*-подобный профиль экспрессии генов, делеции генов *PAX5*, *IKZF1*, *RBI*, *ERG*, *CDKN2A/B*, внутрихромосомная амплификация 21), которые помогли бы лучше охарактеризовать эту гетерогенную группу больных. И одним из таких маркеров может являться делеция *IKZF1*. Частота выявления делеций *IKZF1* среди «других В-линейных ОЛЛ» несколько выше, чем в общей группе ВП-ОЛЛ у детей, но и здесь делеции *IKZF1* – важный прогностический фактор, ассоциированный с неблагоприятным исходом [27, 45].

С точки зрения стратификации пациентов наиболее важным оказалось влияние делеций *IKZF1* на прогноз ОЛЛ в группе промежуточного риска при лечении по протоколу ALL-MB 2008. Пациенты без делеций *IKZF1* в группе промежуточного риска имели БСВ, сравнимую с группой стандартного риска, в то время как при наличии делеций исход ОЛЛ был крайне негативным. Таким образом, введение результатов определения данной молекулярно-генетической aberrации в систему стратификации позволит более адекватно выделять группу высокого риска. Важно отметить, что более половины (57,1 %) больных,

не достигших ремиссии к 36-му дню терапии, имели делеции *IKZF1*.

Нами были получены убедительные данные о взаимосвязи делеций *IKZF1* с показателями ответа на терапию по протоколу ALL-MB 2008. Больные с делециями *IKZF1* статистически значимо чаще имели М3-статус костного мозга на 15-й день терапии, высокий уровень МОБ на 15, 36 и 85-й дни терапии. Сходные результаты о связи делеций с высоким уровнем МОБ были получены и другими исследователями [24, 27, 45, 46]. Ранее нами было показано, что, как и в рамках других зарубежных протоколов терапии ОЛЛ, при лечении по протоколу ALL-MB 2008 величина МОБ на разных этапах терапии является одним из наиболее значимых факторов негативного прогноза [38]. Однако даже при наличии такого мощного фактора риска, как МОБ, делеции *IKZF1* сохраняли свое независимое прогностическое значение при ВП-ОЛЛ у детей. Интересно, что внутри групп как с делециями *IKZF1*, так и без них высокий уровень МОБ имел важное прогностическое значение.

Ранее в работе E. Waanders и соавт. [12] было предложено совместно использовать результаты определения МОБ и выявления делеций *IKZF1* для выделения группы высокого риска. Однако в нашем исследовании добавление больных с делециями *IKZF1* к пациентам с высоким уровнем МОБ на 36-й день терапии дополнительно позволило прогнозировать развитие рецидива лишь у 1 больного. Возможно, при увеличении мощности исследования совместное применение 2 критериев высокого риска будет представляться более обоснованным.

Заключение

Таким образом, в ходе проведенного анализа нами показано, что делеции гена *IKZF1* являются независимым фактором, ухудшающим прогноз ВП-ОЛЛ у детей. Наиболее ярко это проявилось в группе промежуточного риска, а также в группе «другие В-линейные ОЛЛ». Больные с делециями *IKZF1* имели более медленный ответ на терапию. Прогностическое значение делеций *IKZF1* сохранялось в разных подгруппах пациентов, выделенных по другим факторам риска. Мы считаем, что тестирование на статус гена *IKZF1* должно быть обязательным для всех детей с ВП-ОЛЛ. В то же время полученные результаты должны быть уточнены в рамках многоцентровой группы терапии ОЛЛ с включением большего числа больных.

Благодарности. Авторы выражают благодарность всем врачам и медицинским сестрам отдела детской онкологии и гематологии ГБУЗ СО ОДКБ № 1.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа поддержана постановлением № 211 Правительства Российской Федерации, контракт № 02.А03.21.0006.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Olsson L., Johansson B. Ikaros and leukaemia. *Br J Haematol* 2015;169(4):479–91. DOI: 10.1111/bjh.13342. PMID: 25753742.
2. Payne K.J., Huang G., Sahakian E. et al. Ikaros isoform x is selectively expressed in myeloid differentiation. *J Immunol* 2003;170(6):3091–8. PMID: 12626565.
3. Francis O.L., Payne J.L., Su R.J., Payne K.J. Regulator of myeloid differentiation and function: the secret life of Ikaros. *World J Biol Chem* 2011;2(6):119–25. DOI: 10.4331/wjbc.v2.i6.119. PMID: 21765977.
4. Morgan B., Sun L., Avitahl N. et al. AioloS, a lymphoid restricted transcription factor that interacts with Ikaros to regulate lymphocyte differentiation. *EMBO J* 1997;16(8):2004–13. DOI: 10.1093/emboj/16.8.2004. PMID: 9155026.
5. Kelley C., Ikeda T., Koipally J. et al. Helios, a novel dimerization partner of Ikaros expressed in the earliest hematopoietic progenitors. *Curr Biol* 1998;8(9):508–15. PMID: 9560339.
6. 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(7):e40934. DOI: 10.1371/journal.pone.0040934. PMID: 22848414.
7. Gene: IKZF1. URL: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?db=core;g=ENSG00000185811;r=7:50304124-50405101 (last access date 02.12.2016).
8. Koipally J., Georgopoulos K. Ikaros interactions with CtBP reveal a repression mechanism that is independent of histone deacetylase activity. *J Biol Chem* 2000;275(26):19594–602. DOI: 10.1074/jbc.M000254200. PMID: 10766745.
9. Joshi I., Yoshida T., Jena N. et al. Loss of Ikaros DNA-binding function confers integrin-dependent survival on pre-B cells and progression to acute lymphoblastic leukemia. *Nat Immunol* 2014;15(3):294–304. DOI: 10.1038/ni.2821. PMID: 24509510.
10. Mullighan C., Su X., Zhang J. et al. Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *New Engl J Med* 2009;360(5):470–80. DOI: 10.1056/NEJMoa0808253. PMID: 19129520.
11. 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. PMID: 20445578.
12. Waanders E., van der Velden V., van der Schoot C. 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(2):254–8. DOI: 10.1038/leu.2010.275. PMID: 21102428.
13. Roberts K., Li Y., Payne-Turner D. et al. Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2014;371(11):1005–15. DOI: 10.1056/NEJMoa1403088. PMID: 25207766.
14. Olsson L., Albitar F., Castor A. et al. Cooperative genetic changes in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with deletions or mutations of IKZF1. *Genes Chromosomes Cancer* 2015;54(5):315–25. DOI: 10.1002/gcc.22245. PMID: 25727050.
15. Mullighan C.G., Miller C.B., Radtke I. et al. BCR-ABL1-lymphoblastic leukaemia is characterized by the deletion of Ikaros. *Nature* 2008;453(7191):110–4. DOI: 10.1038/nature06866. PMID: 18408710.
16. 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(2):302–10. DOI: 10.1038/leu.2013.206. PMID: 23823658.
17. Boer J., van der Veer A., Rizopoulos D. et al. Prognostic value of rare IKZF1 deletion in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: an international collaborative study. *Leukemia* 2016;30(1):32–8. DOI: 10.1038/leu.2015.199. PMID: 26202931.
18. Kuiper R.P., Schoenmakers E.F., van Reijmersdal S.V. et al. High-resolution genomic profiling of childhood ALL reveals novel recurrent genetic lesions affecting pathways involved in lymphocyte differentiation and cell cycle progression. *Leukemia* 2007;21(6):1258–66. DOI: 10.1038/sj.leu.2404691. PMID: 17443227.
19. Mullighan C., Goorha S., Radtke I. et al. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature* 2007;446(7137):758–64. DOI: 10.1038/nature05690. PMID: 17344859.
20. Martinelli G., Iacobucci I., Storlazzi C.T. et al. IKZF1 (Ikaros) 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(31):5202–7. DOI: 10.1200/JCO.2008.21.6408. PMID: 19770381.
21. 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(16):3931–4. PMID: 10463586.
22. 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(15):2622–9. DOI: 10.1182/blood-2012-10-462358. PMID: 23974192.
23. Buitenkamp T., Pieters R., Gallimore N. et al. Outcome in children with Down's syndrome and acute lymphoblastic leukemia: role of IKZF1 deletions and CRLF2 aberrations. *Leukemia* 2012;26(10):2204–11. DOI: 10.1038/leu.2012.84. PMID: 22441210.
24. 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. PMID: 22875627.
25. Jaeger R., Gisslinger H., Passamonti F. et al. Deletions of the transcription factor Ikaros in myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 2010;24(7):1290–8. DOI: 10.1038/leu.2010.99. PMID: 20508609.
26. Chen I.M., Harvey R., Mullighan C. et al. Outcome modeling with CRLF2, IKZF1, JAK, and minimal residual disease in pediatric acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group Study. *Blood* 2012;119(15):3512–22. DOI: 10.1182/blood-2011-11-394221. PMID: 22368272.
27. Palmi C., Valsecchi M.G., Longinotti G. et al. What is the relevance of Ikaros gene deletions as a prognostic marker in pediatric Philadelphia-negative B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia? *Haematologica* 2013;98(8):1226–31. DOI: 10.3324/haematol.2012.075432. PMID: 23585525.
28. Öfverholm I., Tran A.N., Heyman M. et al. Impact of IKZF1 deletions and PAX5 amplifications in pediatric B-cell precursor ALL treated according to NOPHO protocols. *Leukemia* 2013;27(9):1936–9. DOI: 10.1038/leu.2013.92. PMID: 23538749.
29. 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. PMID: 188440.
30. Bene M.C., 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. PMID: 7564526.
31. Béné M.C., Nebe T., Bettelheim P. et al. Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: a consensus

- proposal of the European Leukemia Net Work Package 10. *Leukemia* 2011;25(4):567–74. DOI: 10.1038/leu.2010.312. PMID: 21252983.
32. ISCN 2005: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2005). Ed. by: L. Shaffer, N. Tommerup. Basel: Karger, 2005.
33. ISCN 2009: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature(2009). Ed. by: L. Schaffer, M. Slovak, L. Campbell. Basel: Karger, 2009.
34. ISCN 2013: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature(2013). Ed. by L. Schaffer, J. McGovan-Jordan, M. Schmid. Basel: Karger, 2013.
35. Цаур Г.А., Наседкина Т.В., Попов А.М. и др. Время достижения молекулярной ремиссии как фактор прогноза у детей первого года жизни с острым лимфобластным лейкозом. *Онкогематология* 2010;5(2):46–54. [Tsaur G.A., Nasedkina T.V., Popov A.M. et al. Prediction of outcome in infants acute lymphoblastic leukemia by time to achievement of molecular remission. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2010;5(2):46–54. (In Russ.)].
36. Цаур Г.А., Друй А.Е., Попов А.М. и др. Возможность использования микроструйных биочипов для оценки качества и количества РНК у пациентов с онкологическими и онкогематологическими заболеваниями. *Вестник Уральской медицинской академической науки* 2011;(4):107–11. [Tsaur G.A., Друй А.Е., Попов А.М. et al. Microfluidic biochips for RNA quantity and quality evaluation in patients with oncological disorders. *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Bulletin of the Ural Medical Academic Research* 2011;(4):107–11. (In Russ.)].
37. Литвинов Д.В., Карелин А.Ф., Романова К.И. и др. Лечение острого лимфобластного лейкоза у детей: современные возможности и нерешенные проблемы. *Доктор.Ру* 2015;(10):30–7. [Litvinov D.V., Karelin A.F., Romanova K.I. et al. Treatment of acute lymphoblastic leukemia in children: current possibilities and unsolved problems. *Doctor.Ru* 2015;(10):30–7. (In Russ.)].
38. Smith M., Arthur D., Camitta B. et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1996;14(1):18–24. DOI: 10.1200/jco.1996.14.1.18. PMID: 8558195.
39. Moorman A.V., Ensor H.M., Richards S.M. 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. PMID: 20409752.
40. Цаур Г.А., Попов А.М., Фечина Л.Г., Румянцев С.А. Методические основы диагностики и мониторинга минимальной остаточной болезни при острых лейкозах у детей первого года жизни. *Онкогематология* 2016;11(1):62–74. [Tsaur G.A., Popov A.M., Fechina L.G., Rumyantsev S.A. Methodological aspects of diagnostics and minimal residual disease monitoring in infant acute leukemias. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2016;11(1):62–74. (In Russ.)].
41. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Цаур Г.А. и др. Алгоритм применения проточной цитометрии для мониторинга минимальной остаточной болезни при CD10-негативном остром лимфобластном лейкозе из В-линейных предшественников. *Вопросы диагностики в педиатрии* 2012;(5):31–5. [Popov A.M., Verzhbitskaya T.Yu., Tsaur G.A. et al. Methodology of flow cytometry application for minimal residual disease monitoring in childhood CD10-negative B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Voprosy diagnostiki v pediatrii = Diagnostics in Pediatrics* 2012;(5):31–5. (In Russ.)].
42. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Цаур Г.А. и др. Применение проточной цитометрии для определения минимальной остаточной болезни у детей с острым лимфобластным лейкозом, получающих терапию по протоколам со сниженной интенсивностью. *Онкогематология* 2015;10(4):44–55. [Popov A.M., Verzhbitskaya T.Yu., Tsaur G.A. et al. Flow cytometric minimal residual disease monitoring in children with acute lymphoblastic leukemia treated by regimens with reduced intensity. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2015;10(4):44–55. (In Russ.)].
43. Schwab C., Jones L., Morrison H. et al. Evaluation of multiplex ligation-dependent probe amplification as a method for the detection of copy number abnormalities in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2010;49(12):1104–13. DOI: 10.1002/gcc.20818. PMID: 20815030.
44. Yang Y., Hung C., Chen J. et al. IKZF1 deletions predict a poor prognosis in children with B-cell progenitor acute lymphoblastic leukemia: a multicenter analysis in Taiwan. *Cancer Sci* 2011;102(10):1874–81. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2011.02031.x. PMID: 21740479.
45. Olsson L., Ivanov Öfverholm 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(6):847–58. DOI: 10.1111/bjh.13514. PMID: 26018335.
46. Volejnikova J., Mejstrikova E., Dörge P. et al. Ikaros (IKZF1) alterations and minimal residual disease at day 15 assessed by flow cytometry predict prognosis of childhood BCR/ABL-negative acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2013;60(3):420–7. DOI: 10.1002/pbc.24299. PMID: 22997141.