

Прогностическое значение делеции локуса гена *CDKN2A/9p21* у взрослых пациентов с Ph-негативным острым лимфобластным лейкозом на терапии по протоколу ОЛЛ-2009

И.С. Пискунова, Т.Н. Обухова, Е.Н. Паровичникова, С.М. Куликов,
О.А. Гаврилина, И.А. Лукьянова, В.Г. Савченко

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России;
Россия, 125167 Москва, Новый Зыковский проезд, 4

Контакты: Инга Самвеловна Пискунова piskunova.i@blood.ru

Введение. Делеция *CDKN2A/9p21* является часто встречающейся (18–46 %) цитогенетической абберацией при остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ), чаще при Т-клеточном варианте ОЛЛ (Т-ОЛЛ) и характеризуется гиперлейкоцитозом, спленомегалией, лимфаденопатией. По данным большинства исследований, прогноз ОЛЛ при делеции *CDKN2A* у детей неблагоприятный, у взрослых о прогностическом значении делеции *CDKN2A* сведения противоречивы.

Цель исследования — изучить прогностическое значение делеции *CDKN2A* у взрослых больных Ph-негативным (Ph⁻) ОЛЛ, получивших терапию по протоколу Российского многоцентрового исследования ОЛЛ-2009.

Материалы и методы. В исследование были включены 110 взрослых больных с впервые выявленным Ph⁻ ОЛЛ, которые получали терапию по протоколу ОЛЛ-2009 (NCT01193933) с июня 2009 г. по сентябрь 2016 г. Характеристика больных: медиана возраста 26 лет (15–54 года), у 65 (59 %) больных установлен В-клеточный вариант ОЛЛ, у 42 (38 %) — Т-клеточный, у 3 (2,7 %) — бифенотипический. Для выявления структурных перестроек в локусах генов *CDKN2A*, *MLL*, *c-MYC*, *TP53*, *t(1;19)(q23;p13.3)/TCF3-PBX1*, *t(12;21)(p13.2;q22.1)/ETV6-RUNX1* и *iAMP21* применяли метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH). Медиана наблюдения составила 31 мес (0,5–80 мес).

Результаты. Делеция *CDKN2A* обнаружена у 27 (24,3 %) из 110 пациентов. Мы не выявили отчетливой корреляционной связи между частотой делеции *CDKN2A* и характеристиками больных ОЛЛ (возраст, пол и иммунофенотип опухолевых клеток).

У больных Т-ОЛЛ с делецией *CDKN2A* зафиксирована статистически значимая корреляция с клинико-лабораторными параметрами: достоверно чаще выявлялись гиперлейкоцитоз (среднее количество лейкоцитов $86 \times 10^9/\text{л}$; $p = 0,006$) и повышение лактатдегидрогеназы (среднее значение 3062 Е/л; $p = 0,0004$). Подобной корреляции при В-ОЛЛ найдено не было. Анализ долгосрочных результатов лечения показал, что наличие делеции *CDKN2A* не влияло на прогноз и выживаемость у больных Ph⁻ ОЛЛ: 5-летняя общая выживаемость у пациентов с делецией *CDKN2A* при В-ОЛЛ составила 85 %, при Т-ОЛЛ — 90 %, без делеции — 76 и 80 % соответственно (при p , равном 0,35 и 0,63 соответственно). Пятилетняя безрецидивная выживаемость при В-ОЛЛ с делецией *CDKN2A* составила 92 %, при Т-ОЛЛ — 65 %, без делеции — 100 и 82 % соответственно (при p , равном 0,07 и 0,24 соответственно).

Заключение. Делеция *CDKN2A* не влияет на прогноз у больных Ph⁻ ОЛЛ при применении неинтенсивного, но постоянного и длительного цитостатического воздействия, предусмотренного протоколом ОЛЛ-2009.

Ключевые слова: острый Ph-негативный лимфобластный лейкоз, цитогенетические аномалии, делеция локуса гена *CDKN2A*

DOI: 10.17650/1818-8346-2017-12-3-17-24

CDKN2A/p16INK4a deletion is not a poor prognostic factor in adult acute lymphoblastic leukemia patients treated according to protocol RALL-2009

I.S. Piskunova, T.N. Obukhova, E.N. Parovichnikova, S.M. Kulikov, O.A. Gavrilina, I.A. Lukyanova, V.G. Savchenko
National Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4a Noviy Zykovskiy Proezd, Moscow 125167, Russia

Introduction. *CDKN2A* deletion is a frequent cytogenetic abnormality in acute lymphoblastic leukemia (ALL), ranging from 18 to 46 %, associating with T-cell ALL, high WBC counts, splenomegaly, lymphadenopathy. In pediatric group of patient's *CDKN2A* deletion was associated with poor event-free survival. The prognostic impact of *CDKN2A* deletion in adult ALL patients appear controversial.

The aim of this study was to evaluate the prognostic impact of the *CDKN2A* deletion in adult patients with acute lymphoblastic leukemia, which were treated by RALL-2009.

Materials and methods. We present the results of the *CDKN2A* deletion in 110 adult patients with newly diagnosed Ph-negative (Ph⁻) ALL, which were treated by RALL-2009 (NCT01193933) since June 2009 till September 2016. Patients characteristics: the median age was 26 years (range 15–54), 65 (59 %) of the 110 patients had a B-precursor phenotype, 42 (38 %) had a T-cell phenotype, 3 (2.7 %) patients — biphenotypical ALL. Interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) was performed for detection *CDKN2A* deletion, *MLL*, *c-MYC* rearrangement, *TP53* deletion, *t(1;19)(q23;p13.3)/TCF3-PBX1*, *t(12;21)(p13.2;q22.1)/ETV6-RUNX1* and *iAMP21*. The median follow-up was 31 months (0.5 to 80 months).

Results. The prevalence of the *CDKN2A* deletion in all studied population was 24.3 % (27 cases). Our study demonstrated that *CDKN2A* deletion had no significant association with age, sex and blast cells immunophenotype. The analysis for T-ALL has detected that *CDKN2A* deletion was strongly associated with high WBC count (the median is $86 \times 10^9/L$; $p = 0.006$) and with high lactate dehydrogenase level (the median is 3062 IU; $p = 0.0004$). But in BCP-ALL cases similar correlation was not found. *CDKN2A* deletion didn't have statistically significant impact on outcome of patients. OS for patients with BCP-ALL with and without deletion was 85 and 76 % ($p = 0.35$); DFS was 92 and 65 % ($p = 0.07$), respectively. OS for T-ALL patients with and without deletion was 90 and 80 % ($p = 0.63$); DFS was 100 and 82 % ($p = 0.24$), respectively.

Conclusion: *CDKN2A* deletion is not adverse prognostic factor in adult ALL patients treated according to protocol RALL-2009.

Key words: acute Ph-negative lymphoblastic leukemia, cytogenetic aberrations, *CDKN2A/9p21* deletion

Введение

Острые лимфобластные лейкозы (ОЛЛ) — гетерогенная группа злокачественных клональных заболеваний кроветворной ткани, которые характеризуются поражением костного мозга незрелыми клетками (лимфобластами) с вытеснением ими нормальных гемопоэтических ростков и инфильтрацией различных органов и тканей. В основе развития ОЛЛ лежат генетические нарушения в клетке, приводящие к изменению механизмов регуляции ее цикла и неконтролируемой пролиферации клеток. Все потомки такой клетки-предшественницы несут одни и те же генетические изменения, т. е. являются клональными [1, 2]. Хромосомные перестройки определяют биологические свойства лейкозных клеток, которые обуславливают иммунологические, морфологические и клинические особенности заболевания. У больных ОЛЛ при цитогенетическом исследовании клеток костного мозга клональные хромосомные перестройки выявляются в 60–85 % случаев [3], а при использовании методов флуоресцентной гибридизации *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization, FISH) — в 80–90 % [4].

Несмотря на значительную эффективность лечения ОЛЛ у детей — 5-летняя общая выживаемость (ОВ) достигает 90 %, — мировой опыт терапии взрослых пациентов демонстрирует не столь оптимистичные результаты: 5-летняя ОВ не превышает 40 % у людей в возрасте от 25 до 59 лет и значительно ниже (<20 %) у пожилых [5, 6]. Столь очевидные различия в эффективности терапии ОЛЛ у детей и взрослых объясняются, в частности, различной встречаемостью цитогенетических и молекулярных аномалий. У взрослых пациентов значительно чаще выявляются неблагоприятные цитогенетические aberrации, например t(9;22)/BCR-ABL1, комплексные нарушения кариотипа и гипоплоидия, а наличие сопутствующих заболеваний и иной метаболизм цитостатических препаратов (метотрексата к примеру) часто не позволяют выполнить программную химиотерапию с соблюдением полных доз и интервалов введения химиопрепаратов у этих больных [7].

Спектр молекулярных и генетических изменений при ОЛЛ очень широк, происходит постоянное обновление информации о неслучайных хромосомных перестройках при ОЛЛ и выявлении их взаимосвязей с течением и прогнозом заболевания, эффективности

применяемой терапии. По данным современных публикаций, хромосомный регион 9p21 является частым местом делеции при глиоме (60 %), злокачественных новообразованиях головы и шеи (50 %), раке мочевого пузыря (45 %) [8, 9]. Высокая частота делеции 9p21 была зарегистрирована и при ОЛЛ (от 18 % до 45 %) [10, 11]. На хромосомном участке 9p21 идентифицированы гены: *CDKN2A* (p16, *INK4A*), *CDKN2B* (p15, *INK4B*), которые кодируют белки, ингибирующие циклинзависимые киназы семейства INK4. Эти белки контролируют клеточный цикл, регулируя активность гена ретинобластомы (RB) и гена *TP53* («страж генома»), а также управляют переходом клетки от фазы G1 к фазе S, т. е. являются супрессорами развития опухоли. Утрата активности *CDKN2A* приводит к инактивации белка RB и провоцирует нерегулируемую пролиферацию клеток [11]. Для обнаружения делеции гена *CDKN2A* проводят стандартное цитогенетическое исследование (СЦИ) (G-дифференциальное окрашивание хромосом), FISH и количественную полимеразную цепную реакцию (ПЦР).

В настоящий момент прогностическое значение делеции гена *CDKN2A* при ОЛЛ до конца не изучено. Ряд исследователей показали, что делеция *CDKN2A* является неблагоприятным прогностическим фактором. В исследовании N.A. Heegema и соавт. 6-летняя безрецидивная выживаемость (БРВ) у детей с делецией *CDKN2A* была ниже, чем без нее (61 % против 76 %; $p < 0,0001$) [12]. Такая же корреляция была обнаружена в исследовании Na Xu и соавт. у взрослых пациентов с ОЛЛ [13]. В то же время в других исследованиях подобной корреляции обнаружено не было [10, 14].

Таким образом, целью нашего исследования стало изучение прогностического значения делеции *CDKN2A* у взрослых пациентов с Ph⁺ ОЛЛ при лечении по протоколу Российского многоцентрового исследования ОЛЛ-2009.

Материалы и методы

В исследование были включены 110 взрослых пациентов (54 женщины и 56 мужчин от 15 до 54 лет, средний возраст — 26 лет) с впервые выявленным Ph⁺ ОЛЛ. Все больные проходили лечение с июня 2009 г. по сентябрь 2016 г. в гематологических отделениях ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, ФГБУ «Национальный

медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, ГУЗ Тульской области «Тульская областная клиническая больница», ГБУЗ Ярославской области «Областная клиническая больница», ГБУЗ Республики Мордовия «Мордовская республиканская клиническая больница». Всем больным выполнено исследование FISH (100 пациентам ретроспективное, 10 – проспективное) аспирата костного мозга и/или субстрата биопсийного материала, полученного до начала терапии. Медиана наблюдения за больными, включенными в исследование, составила 31 месяц (0,5–80 мес).

Диагноз ОЛЛ устанавливали на основании клинических и лабораторных данных: общего анализа крови, цитологического, цитохимического и гистологического исследований костного мозга (биопсийного материала), данных иммунофенотипирования (табл. 1) согласно критериям классификации Европейской группы по иммунологической характеристике лейкозов (European Group for the immunological characterization of leukemias, EGIL) [15]. Иммунофенотипирование было выполнено всем больным. У 65 (58,5 %) из них был установлен В-клеточный вариант ОЛЛ (по классификации EGIL иммунофенотип определен как В1 у 17 больных, ВП – у 38, ВП1 – у 10), у 42 (37,8 %) – Т-клеточный ОЛЛ (иммунофенотип Т1/ТП – у 25 больных, ТП1 – у 12, Т1В – у 5). У 3 (2,7 %) больных верифицирован бифенотипический вариант ОЛЛ. Среди пациентов с Т-клеточным иммунофенотипом у 3 была диагностирована Т-клеточная лимфома из предшественников (отсутствие или менее 25 % бластных клеток в костном мозге, наличие лимфобластов в иных очагах поражения).

Всем пациентам проводили лечение по протоколу ОЛЛ-2009 (исследование ОЛЛ-2009 зарегистрировано на сайте ClinicalTrials.gov под номером NCT01193933, дизайн представлен в многочисленных публикациях [16, 17]). Отличие протокола ОЛЛ-2009 от предыдущих протоколов лечения заключается в следующем:

- в деинтенсификации индукционного этапа лечения: уменьшена кратность введений препаратов в I фазе индукции – с 4 до 3 введений (антрациклиновые антибиотики), во II фазе – с 2 до 1 введения (циклофосфан) и с 4 до 2 блоков (цитарабин);
- в отказе от применения ранней (сразу после 2 фаз индукции) интенсивной высокодозной консолидации (например, курсы RACOP, FLAG-Ida, или высокие дозы цитарабина с митоксантроном, или высокие дозы метотрексата, которые использовались в программе «ОЛЛ-2005», в протоколе немецкой группы GMALL-07/03);
- в длительном использовании аспарагиназы на всех этапах лечения;
- и, самое главное, в соблюдении непрерывности лечения после достижения полной ремиссии с модификацией доз цитостатических препаратов в зависимости от глубины цитопении.

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика пациентов, включенных в исследование, N = 110

Table 1. Clinical and laboratory characteristics of patients, N = 110

Показатель Criteria	Значение Value
Острый лимфобластный лейкоз: Acute lymphoblastic leukemia:	
В-клеточный вариант, n B-cell phenotype, n	65
Т-клеточный вариант, n T-cell phenotype, n	42
Бифенотипический вариант Biphenotypic variant	2
Медиана возраста, лет Median age, years	26 (15–54)
Лейкоциты, медиана (диапазон), $\times 10^9/\text{л}$ Leukocytes, median (range) $\times 10^9/\text{L}$	16,9 (0,4–785)
Гемоглобин, медиана (диапазон), г/л Hemoglobin, median (range), g/L	95 (35–82)
Тромбоциты, медиана (диапазон), $\times 10^9/\text{л}$ Platelets, median (range) $\times 10^9/\text{L}$	56 (2–595)
Лактатдегидрогеназа, медиана (диапазон), ЕД/л Lactate dehydrogenase, median (range), U/L	1056 (150–12 804)
Бластные клетки: Blast cells:	
в костном мозге, % in bone marrow, %	84 (0*–98)
в периферической крови, % in peripheral blood, %	60 (0*–97)
Спленомегалия, n Splenomegaly, n	30
Гепатомегалия, n Hepatomegaly, n	37
Нейролейкоз, n Neuroleukemia, n	18
Увеличенное средостение, n Mediastinum involvement, n	28

* Разброс в костном мозге от 0 до 98 % бластных клеток.

* The range in the bone marrow from 0 to 98 % of blast cells.

Цитогенетическое исследование клеток костного мозга выполняли в научно-клинической лаборатории кариологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. Для проведения СЦИ клетки костного мозга культивировали в питательной среде RPMI 1640 с добавлением 20 % эмбриональной телячьей сыворотки, глутамина и антибиотика на 24 ч. G-дифференциальное окрашивание хромосом проводили с использованием краски Wright (Merck, Германия). При возможности анализировали не менее 20 метафазных пластинок. В каждом случае анализировали 200 интерфазных ядер с четкими сигналами. Кариотип описывали в соответствии с Международной системой номенклатуры хромосом человека (An International System for Human Cytogenetic Nomenclature – ISCN 2013) [18].

FISH выполняли по протоколу фирмы-производителя. Анализ проводили под флуоресцентным микроскопом Axio Imager A2 (Carl Zeiss, Германия). В исследовании использовали локус-специфичные зонды (все — фирмы Abbott Molecular, USA) для выявления:

- делеции локуса 9p21 — зонд LSI CDKN2A/CEP 9,
- делеции 17p13 (TP53) — LSI TP53/CEP 17,
- транслокаций с вовлечением локуса гена *c-MYC* — LSI MYC Dual Color, Break Apart Rearrangement Probe,
- транслокации t(12;21) и iAMP21 — LSI ETV6/RUNX1,
- транслокации t(1;19) — TCF3/PBX1 Dual Color, Break Apart Rearrangement Probe,
- транслокаций с вовлечением локуса гена *MLL* — LSI MLL Dual Color Break Apart Rearrangement Probe.

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение SAS 9.4. Анализ ОВ и БРВ проводили с помощью метода Каплана–Майера, статистическую значимость различий между кривыми выживаемости в группах определяли с помощью теста log-rank. Все различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

При СЦИ делящиеся клетки обнаружены у 94 (85 %) пациентов, нормальный кариотип — у 46 (48,9 %),

но при FISH у 12 (26 %) из них были найдены цитогенетические аберрации. У 17 (18 %) пациентов выявлен псевдодиплоидный кариотип (кариотип, в котором 46 хромосом, но есть структурные перестройки). Клоны клеток не менее чем с 5 хромосомными аномалиями (комплексные нарушения кариотипа) наблюдались у 10 (10,6 %) из 94 больных ОЛЛ. Гиперплоидный набор хромосом выявлен у 26 (27,6 %) пациентов. Причем у 8 (30,7 %) пациентов из данной группы обнаружена трисомия хромосомы 8; у 9 (34,6 %) — трисомия хромосомы 21. Клон гипоплоидных клеток присутствовал у 5 (5,3 %) пациентов.

При исследовании FISH чаще всего (у 27 пациентов, 24,3 %) выявляли делецию *CDKN2A*. Перестройка гена *MLL* обнаружена у 9 (8,1 %) пациентов, делеция 17p53 — у 6 (5,5 %), перестройка гена *c-MYC* — у 2 (1,8 %), внутривитриномная амплификация 21 (iAMP21) — у 1 пациента. Характерная для В-линейных ОЛЛ транслокация t(1;19)(q23;p13)/*TCF3-PBX1* была выявлена в 1 случае (0,9 %). Криптическая транслокация t(12;21)(p13;q22) с образованием химерного гена *ETV6-RUNX1* не найдена ни у одного пациента (табл. 2).

Делеция *CDKN2A/9p21*. Делеция *CDKN2A* выявлена у 27 (24,3 %) пациентов. При этом чаще всего

Таблица 2. Результаты цитогенетического исследования (СЦИ и FISH) пациентов, включенных в исследование

Table 2. Standard cytogenetic and FISH data of patients

Цитогенетическая аберрация Cytogenetic aberrations	Иммунофенотипические варианты острого лимфобластного лейкоза Immunophenotype of acute lymphoblastic leukemia			
	В-клеточный, $n = 65$ B-precursor, $n = 65$	Т-клеточный, $n = 42$ T-cell, $n = 42$	бифенотип, $n = 3$ biphenotypic, $n = 3$	Всего, $n = 110$ Total, $n = 110$
Делеция <i>CDKN2A/9p21</i> <i>CDKN2A/9p21</i> deletion	14	11	2	27
Транслокации с вовлечением региона 11q23 Translocations involving the region 11q23	7	2	—	9
Делеция p53 (17p13) p53 (17p13) deletion	2	3	1	6
Перестройка гена <i>c-MYC</i> <i>c-MYC</i> rearrangement	2	—	—	2
t(1;19)(q23;p13)/ <i>TCF3-PBX1</i>	1	—	—	1
iAMP 21	1	—	—	1
t(12;21)(p13;q22)/ <i>ETV6-RUNX1</i>	—	—	—	0
Нормальный кариотип Normal karyotype	23	11	—	34
Гиперплоидия более 46 хромосом Hyperploidy more than 46 chromosomes	16	8	2	26
Гипоплоидия менее 46 хромосом Hypoploidy less than 46 chromosomes	1	4	—	5
Псевдодиплоидный кариотип Pseudodiploid karyotype	11	6	—	17
Комплексные нарушения кариотипа Complex karyotype disorders	4	5	1	10

Примечание. СЦИ — стандартное цитогенетическое исследование; FISH — флуоресцентная гибридизация *in situ*.

Note. FISH — fluorescence *in situ* hybridization.

присутствовала гомозиготная делеция — у 19 (17 %) пациентов, гетерозиготная найдена у 8 (7,2 %) пациентов. При В-ОЛЛ делеция *CDKN2A* обнаружена у 14 (21,5 %) из 65 пациентов, при Т-ОЛЛ — у 11 (26,1 %) из 42 пациентов, при бифенотипическом варианте — у 2 (1,8 %) из 3 пациентов. Частота делеции *CDKN2A* была приблизительно одинакова у мужчин и женщин (табл. 3). Так как мы не выявили статистически значимой корреляции между клинико-лабораторными показателями и выживаемостью больных в группах с гомозиготной и гетерозиготной делециями *CDKN2A*, мы объединили их в 1 группу.

Ни у одного пациента с делецией *CDKN2A* не было выявлено других хромосомных aberrаций, таких как *t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1*, делеция *p53(17p13)*, *t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1*, транслокация с вовлечением локуса гена *MLL* и *c-Myc*. У 1 пациента с делецией *CDKN2A* была найдена внутривитрихромосомная амплификация 21-й хромосомы (*iAMP21*).

У пациентов с В-ОЛЛ мы не выявили корреляции между клинико-лабораторными показателями и делецией *CDKN2A*. У больных Т-ОЛЛ с делецией *CDKN2A*

была обнаружена статистически значимая корреляция: достоверно чаще наблюдался гиперлейкоцитоз (среднее количество лейкоцитов $86 \times 10^9/\text{л}$; $p = 0,006$), а также высокая концентрация лактатдегидрогеназы (ЛДГ) — среднее значение 3062 Е/л; $p = 0,0004$ (см. табл. 3).

Эффективность лечения (достижение полной ремиссии, летальность, резистентность) и долгосрочные результаты (ОВ и БРВ) были проанализированы у всех 110 больных. Процент достижения полной ремиссии у больных с делецией *CDKN2A* выше, чем у больных без делеции (94,7 % в сравнении с 84,9 %); ранней летальности — 10,3 % и 10,7 % соответственно. Основной причиной смерти больных в период индукции ремиссии стали инфекционные осложнения. Доля тех больных, у кого ремиссия была достигнута после предфазы, составила 10,7 % (с делецией *CDKN2A*) и 14,9 % (без делеции), после I фазы индукции — 78,5 и 55,1 %, после II фазы индукции — 7,1 и 13,7 % соответственно. Резистентность к терапии была диагностирована у 1 (3,5 %) больного с делецией *CDKN2A* и у 12 (10,4 %) без делеции.

Анализ выживаемости в зависимости от наличия делеции *CDKN2A* или ее отсутствия у больных В- и Т-ОЛЛ

Таблица 3. Корреляция клинико-лабораторных показателей больных Т- и В-клеточным острым лимфобластным лейкозом с делецией *CDKN2A* и без нее

Table 3. Correlation between clinical and laboratory parameters of T-cell and B-precursor acute lymphoblastic leukemia patients with or without *CDKN2A* deletion

Показатели (медиана) Criteria (median)	В-клеточный ОЛЛ B-precursor acute ALL			Т-клеточный ОЛЛ T-cell acute ALL		
	Делеция <i>CDKN2A</i> <i>CDKN2A</i> deletion					
	—	+	<i>p</i>	—	+	<i>p</i>
Возраст, годы Age, years	20,5	27	0,10	33	23	0,081
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/L	81	85	0,99	105	116	0,92
Лейкоциты, 10 ⁹ /л Leukocytes, 10 ⁹ /L	13,5	8,9	0,92	86	20,3	0,0060
Тромбоциты, 10 ⁹ /л Platelets, 10 ⁹ /L	67	48,5	0,47	36	97	0,018
Бластные клетки: Blast cells						
в КМ, % in BM, %	88,6	86,2	0,58	88	80	0,39
в ПК, % in PB, %	59,5	51	0,97	74	71	0,63
Креатинин, мкмоль/л Creatinine, μmol/L	79	82	0,49	93	80,6	0,016
Билирубин, мкмоль/л Bilirubin, μmol/L	12	9,2	0,41	12,6	10	0,13
ЛДГ, Ед/л LDH, U/L	900	961	0,80	3062	1016	0,0004
Альбумин, г/л Albumin, g/L	42,1	39,3	0,21	37	42	0,22

Примечание. КМ — костный мозг, ПК — периферическая кровь, ОЛЛ — острый лимфобластный лейкоз, ЛДГ — лактатдегидрогеназа.

Note. BM — bone marrow, PB — peripheral blood, ALL — acute lymphoblastic leukemia, LDH — lactate dehydrogenase.

не выявил статистически значимых отличий: 5-летняя ОВ у пациентов В-ОЛЛ с делецией *CDKN2A* составила 85 %, без делеции — 76 % ($p = 0,35$) (рис. 1а), а 5-летняя БРВ — 92 и 65 % соответственно ($p = 0,07$) (рис. 1б).

У пациентов с Т-ОЛЛ с делецией *CDKN2A* 5-летняя ОВ доходила до 90 %, без делеции — до 80 % ($p = 0,63$), БРВ равнялась 100 и 82 % соответственно ($p = 0,24$) (рис. 2а, б).

Обсуждение

На сегодняшний день одной из главных стратегий лечения ОЛЛ является индивидуальный подход при выборе тактики лечения для каждого пациента с учетом биологических особенностей опухолевых клеток. Такой подход привел к улучшению результатов лечения ОЛЛ. По данным международных исследований, ОВ взрослых пациентов составляет 40–50 % [19]. По результатам ОЛЛ-2009, 5-летняя ОВ всех больных составила 59 %, БРВ — 65 % [20]. Протокол ОЛЛ-2009

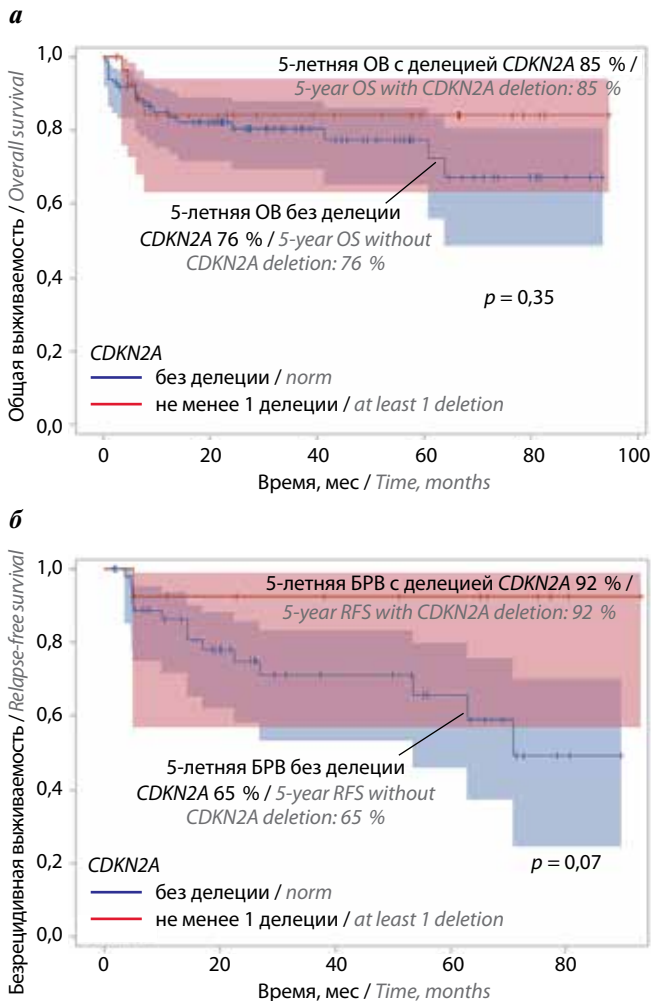


Рис. 1. Пятилетняя выживаемость больных В-клеточным острым лимфобластным лейкозом с делецией *CDKN2A* и без нее: а — общая (ОВ), б — безрецидивная (БРВ), $n = 65$

Fig. 1. Five-year survival of B-precursor acute lymphoblastic leukemia patients with or without *CDKN2A* deletion: а — overall (OS), б — relapse-free (RFS), $n = 65$

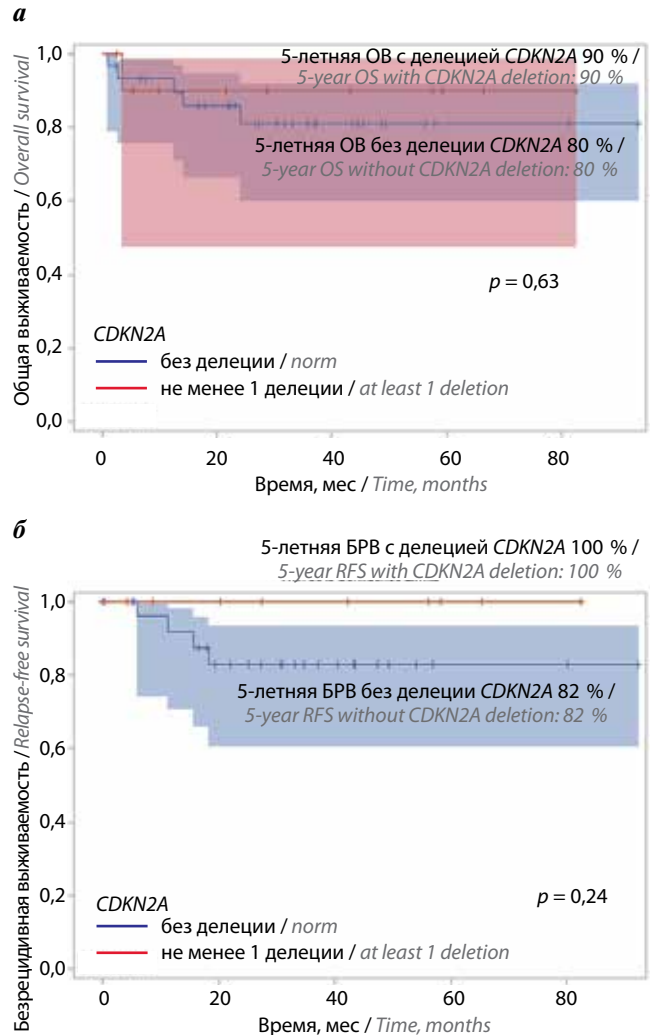


Рис. 2. Пятилетняя выживаемость больных Т-ОЛЛ с делецией *CDKN2A* и без нее: а — общая (ОВ), б — безрецидивная (БРВ), $n = 42$

Fig. 2. Five-year survival of T-ALL patients with and without *CDKN2A* deletion: а — overall (OS), б — relapse-free (RFS), $n = 42$

отличается неинтенсивным, но постоянным химиотерапевтическим воздействием и малым числом аллогенных трансплантаций гемопоэтических стволовых клеток, что позволяет воспроизводить программу лечения в региональных центрах.

Несмотря на достигнутые успехи лечения ОЛЛ, риск развития рецидива при стандартной химиотерапии остается достаточно высоким (40–50 %) в сравнении с трансплантацией [21]. Использование общеизвестных факторов неблагоприятного прогноза не всегда позволяет с уверенностью отнести пациента к той или иной группе риска. Поэтому обнаружение новых генотипических характеристик лейкозных клеток даст возможность создать иные дифференцированные подходы к лечению больных ОЛЛ.

Делеция *CDKN2A/9p21* является частой цитогенетической аберрацией при ОЛЛ, однако до сих пор нет единого мнения о ее прогностическом значении, что делает актуальным дальнейшие исследования. По данным литературы, частота выявления делеции гена *CDKN2A*

при ОЛЛ у взрослых и детей составляет 18–46 % [4–6]. Все авторы подчеркивают, что наиболее надежным и точным методом детекции данной аберрации является FISH.

На сегодняшний день в ряде исследований получены противоречивые результаты прогностического значения делеции *CDKN2A* при ОЛЛ. Некоторые показали высокую частоту обнаружения делеции *CDKN2A* при Т-ОЛЛ (58–70 %) [22, 23]. Кроме того, была отмечена высокая корреляция делеции *CDKN2A* с гиперлейкоцитозом, спленомегалией, лимфаденопатией и более короткой ОВ [24–26]. В других исследованиях такой корреляции выявлено не было [27–29]. Противоречивость результатов, возможно, объясняется малой выборкой пациентов, включенных в исследования, а также техническими различиями выявления делеции *CDKN2A* (FISH, ПЦР-метод) и проведением статистической обработки данных в общей группе ОЛЛ (В- и Т-ОЛЛ).

В нашем исследовании частота делеции *CDKN2A* среди всех больных ОЛЛ составила 24,3 %. Мы не выявили отчетливой корреляционной связи между частотой делеции *CDKN2A* и характеристиками больных ОЛЛ: возрастом, полом и иммунофенотипом опухолевых клеток.

По данным исследования М. Kim и соавт., показатель ОВ взрослых пациентов с гомозиготной делецией *CDKN2A* был ниже, чем у больных с гетерозиготной делецией *CDKN2A* [9]. Согласно результатам выполненного нами исследования, чаще всего выявлялась гомозиготная делеция — у 19 (70 %) из 27 пациентов и не обнаружено значимых различий клинико-лабо-

раторных показателей и показателей ОВ и БРВ у пациентов с гетеро- и гомозиготной делецией *CDKN2A*.

В проведенном нами исследовании ни у одного пациента с делецией *CDKN2A* не выявлено перестройки региона 11q23 (локуса гена *LL*), *c-MYC*, *t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1*, *t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1*. Только у 1 пациента с делецией *CDKN2A* была найдена интрахромосомная амплификация (*iAMP21*). Поэтому нам не удалось провести корреляционный анализ делеции *CDKN2A* с другими общеизвестными цитогенетическими факторами прогноза при ОЛЛ. Аналогичные результаты были представлены в работах других исследователей [9, 13].

Важным итогом выполненного исследования можно считать выявление достоверной корреляционной связи между делецией *CDKN2A* и рядом лабораторных параметров (таких как лейкоцитоз и высокий показатель ЛДГ) у больных Т-ОЛЛ. Из чего можно сделать вывод, что Т-ОЛЛ с наличием делеции *CDKN2A* характеризуется более агрессивным течением. Эти данные согласуются с результатами ранее опубликованных исследований [30].

Заключение

В проведенном исследовании показано, что наличие делеции *CDKN2A* не влияет на прогноз и выживаемость взрослых пациентов Ph⁺ ОЛЛ при применении неинтенсивного, но постоянного и длительного цитостатического воздействия, предусмотренного терапией по протоколу ОЛЛ-2009. Для больных Т-ОЛЛ с делецией *CDKN2A* характерны гиперлейкоцитоз, высокий показатель ЛДГ, что может свидетельствовать о более агрессивном течении заболевания.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. Authors declare no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Савченко В.Г. Программное лечение заболеваний системы крови. М.: Практика, 2012. С. 289–342. [Savchenko V.G. Program treatment of blood diseases. M.: Praktika, 2012. P. 289–342 (In Russ.).]
2. Mullighan C.G., Phillips L.A., Su X. et al. Genomic analysis of the clonal origins of relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Science* 2008;322:1377–80. DOI: 10.1126/science.1164266. PMID: 19039135.
3. Зотова Е.В., Лукьянова А.С. Хромосомные перестройки при ОЛЛ. Вестник гематологии 2013;9(2):18–9. [Zotova E.V., Lukyanova A.S. Chromosomal aberrations in ALL. *Vestnik gematologii* = Bulletin of Hematology 2013;9(2):18–9 (In Russ.).]
4. Betts D.R., Kingston J.E., Dorey E.L. et al. Monosomy 20: A nonrandom finding in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 1990;2(3):182–5. PMID: 2078508.
5. Paul S., Kantarjian H., Jabbour E.J. Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *Mayo Clin Proc* 2016;91(11):1645–66. DOI: 10.1016/j.mayocp.2016.09.010. PMID: 27814839.
6. Sive J.I., Buck G., Fielding A. et al. Outcomes in older adults with acute lymphoblastic leukaemia (ALL): results from the international MRC UKALL XII/ECOG2993 trial. *Br J Haematol* 2012;157(4):463–71. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2012.09095.x. PMID: 22409379.
7. Göker E., Lin J.T., Trippett T. et al. Decreased polyglutamylation of methotrexate in acute lymphoblastic leukemia blasts in adults compared to children with this disease. *Leukemia* 1993;7(7):1000–4. PMID: 7686600.
8. Usvasalo A., Savola S., Rätty R. et al. *CDKN2A* deletions in acute lymphoblastic leukemia of adolescents and young adults: An array CGH study. *Leuk Res* 2008;32:1228–35. DOI: 10.1016/j.leukres.2008.01.014. PMID: 18328560.
9. Kim M., Yim S.H., Cho N.S. et al. Homozygous deletion of *CDKN2A* (p16, p14) and *CDKN2B* (p15) genes is a poor

- prognostic factor in adult but not in childhood Blineage acute lymphoblastic leukemia: a comparative deletion and hypermethylation study. *Cancer Genet Cytogen* 2009;195:59–65. DOI: 10.1016/j.cancergencyto.2009.06.013. PMID: 19837270.
10. Mirebeau D., Acquaviva C., Suciu S. et al. The prognostic significance of CDKN2A, CDKN2B and MTAP inactivation in Blineage acute lymphoblastic leukemia of childhood. Results of the EORTC studies 58881 and 58951. *Haematologica* 2006;91(7):881–5. PMID: 16818274.
11. Ueda K., Yoshimi A., Kagoya Y. et al. Inhibition of histone methyltransferase EZH2 depletes leukemia stem cell of mixed lineage leukemia fusion leukemia through upregulation of p16. *Cancer Sci* 2014;105(5):509–12. DOI: 10.1111/cas.12386. PMID: 24612037.
12. Heerema A., Harland N., Martha G. et al. Association of chromosome arm 9p abnormalities with adverse risk in childhood acute lymphoblastic leukemia: A report from the Children's Cancer Group. *Blood* 1999;94(5):1537–44. PMID: 10477677.
13. Xu N., Li Y.L., Zhou X. et al. CDKN2 Gene Deletion as Poor Prognosis Predictor Involved in the Progression of Adult BLineage Acute Lymphoblastic Leukemia Patients. *Cancer* 2015;6(11):1114–20. DOI: 10.7150/jca.11959. PMID: 26516359.
14. Lee D.S., Lee J.H., Min H.C. et al. Application of high throughput cell array technology to FISH: investigation of the role of deletion of p16 gene in leukemias. *Biotechnol* 2007;127(3):355–60. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2006.07.019. PMID: 16949174.
15. 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. *Leukemia* 1995;9(10):1783–6. PMID: 7564526.
16. Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В., Соколов А.Н. и др. Промежуточные результаты по лечению острых Ph-негативных лимфобластных лейкозов у взрослых больных (итоги Российской исследовательской группы по лечению острых лимфобластных лейкозов (RALL)). *Онкогематология* 2014;3:6–16. [Parovichnikova E.N., Troitskaya V.V., Sokolov A.N. et al. Interim results of the Ph-negative acute lymphoblastic leukemia treatment in adult patients (results of Russian research group of ALL treatment (RALL)). *Onkogematologiya = Oncohematology* 2014;3:6–16 (In Russ.)].
17. Паровичникова Е.Н., Клясова Г.А., Исаев В.Г. и др. Первые итоги терапии Ph-негативных острых лимфобластных лейкозов взрослых по протоколу Научно-исследовательской группы гематологических центров России ОЛЛ-2009. *Терапевтический архив* 2011;83(7):7–11. [Parovichnikova E.N., Klyasova G.A., Isaev V.G. et al. First results of Ph-negative acute lymphoblastic leukemia therapy of adults according to the protocol of Research Group of Russian Hematological Centers ALL-2009. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic archive* 2011;83(7):7–11 (In Russ.)]. PMID: 21894746.
18. ISCN 2013: an International System For Human Cytogenetic Nomenclature. Eds.: L. Schaffer, J. McGovan-Jordan. Basel: S. Karger, 2013. NLM ID: 101590878 [Book].
19. Bassan R., Hoelzer D. Modern therapy of acute lymphoblastic leukemia. *Clin Oncol* 2011;29(5):532–43. DOI: 10.1200/JCO.2010.30.1382. PMID: 21220592.
20. Паровичникова Е.Н., Соколов А.Н., Троицкая В.В. и др. Острые Ph-негативные лимфобластные лейкозы взрослых: факторы риска при использовании протокола ОЛЛ-2009. *Терапевтический архив* 2016;88(7):15–24. [Parovichnikova E.N., Sokolov A.N., Troitskaya V.V. et al. Acute Ph-negative lymphoblastic leukemias in adults: Risk factors in the use of the ALL-2009 protocol. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic archive* 2016;88(7):15–24 (In Russ.)]. DOI: 10.17116/terarkh201688715-24. PMID: 27459610.
21. Bassan R., Spinelli O., Oldani E. et al. Improved risk classification for risk-specific therapy based on the molecular study of minimal residual disease (MRD) in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood* 2009;113(18):4153–62. DOI: 10.1182/blood-2008-11-185132. PMID: 19141862.
22. 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.
23. Bertin R., Acquaviva C., Mirebeau D. et al. CDKN2A, CDKN2B, and MTAP gene dosage permits precise characterization of mono- and bi-allelic 9p21 deletions in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2003;37(1):44–57. DOI: 10.1002/gcc.10188. PMID: 12661005.
24. Carter T.L., Watt P.M., Kumar R. et al. Hemizygous p16 (INK4A) deletion in pediatric acute lymphoblastic leukemia predicts independent risk of relapse. *Blood* 2001;97(2):572–4. PMID: 11154239.
25. Graf Einsiedel H., Taube T., Hartmann R. et al. Deletion analysis of p16 (INKa) and p15 (INKb) in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002;99(12):4629–31. PMID: 12036898.
26. Takeuchi S., Bartram C.R., Seriu T. et al. Analysis of a family of cyclin-dependent kinase inhibitors: p15/MTS2/INK4B, p16/MTS1/INK4A, and p18 genes in acute lymphoblastic leukemia of childhood. *Blood* 1995;86(2):755–60. PMID: 7606004.
27. Faderl S., Kantarjian H.M., Manshour T. et al. The prognostic significance of p16INK4a/p14ARF and p15INK4b deletions in adult acute lymphoblastic leukemia. *Clin Cancer Res* 1999;5(7):1855–61. PMID: 10430092.
28. van Zutven L.J., van Drunen E., de Bont J.M. et al. CDKN2 deletions have no prognostic value in childhood precursor acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2005;19(7):1281–4. DOI: 10.1038/sj.leu.2403769. PMID: 15843818.
29. Mirebeau D., Acquaviva C., Suciu S. et al. The prognostic significance of CDKN2A, CDKN2B and MTAP inactivation in Blineage acute lymphoblastic leukemia of childhood. Results of the EORTC studies 58881 and 58951. *Haematologica* 2006;91(7):881–5. PMID: 16818274.
30. Schiffman J.D., Wang Y., McPherson L.A. et al. Molecular inversion probes reveal patterns of 9p21 deletion and copy number aberrations in childhood leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 2009;193(1):9–18. DOI: 10.1016/j.cancergencyto.2009.03.005. PMID: 19602459.