

## Иммунофенотипическая характеристика острого миелоидного лейкоза у детей первого года жизни

А.М. Попов<sup>1,2</sup>, Г.А. Цаур<sup>1,2</sup>, Т.Ю. Вержбицкая<sup>1,2</sup>, О.В. Стренева<sup>1,2</sup>, Е.В. Шориков<sup>1,2</sup>,  
Л.И. Савельев<sup>1,2,3</sup>, Л.Г. Фечина<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ СО ОДКБ № 1, Екатеринбург;

<sup>2</sup>ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург;

<sup>3</sup>ГБОУ ВПО УГМА, Екатеринбург

Контакты: Александр Михайлович Попов [uralscytometry@gmail.com](mailto:uralscytometry@gmail.com)

**Цель исследования** – характеристика иммунофенотипа острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) у детей первого года жизни. В исследование было включено 90 пациентов (40 мальчиков и 50 девочек) с острым лейкозом (ОЛ) в возрасте от 0 до 11 месяцев включительно. Частота выявления ОМЛ составила 26,67 % от всех ОЛ у детей первого года жизни, что было значительно чаще, чем у более старших детей (10,83 %;  $p = 0,0002$ ). Отсутствие экспрессии CD61, а также высокая экспрессия CD99, CD15, CD133 и NG2 характеризовали иммунофенотип опухолевых клеток при наличии перестроек гена MLL. Диагностическая эффективность выявления экспрессии CD99 и NG2 для прогнозирования наличия перестроек гена MLL оказалась наиболее высокой. Таким образом, иммунофенотип ОМЛ у детей младше 1 года существенно различается в зависимости от наличия или отсутствия перестроек гена MLL. Описанные особенности экспрессии антигенов позволяют прогнозировать наличие какой-либо перестройки гена MLL при ОМЛ у детей первого года жизни, при этом наибольшей диагностической эффективностью обладает наличие экспрессии CD99 или NG2.

**Ключевые слова:** острый миелоидный лейкоз, дети первого года жизни, проточная цитометрия

### Immunophenotypic investigation of infant acute myeloid leukemia

A.M. Popov<sup>1,2</sup>, G.A. Tsaur<sup>1,2</sup>, T.Yu. Verzhbitskaya<sup>1,2</sup>, O.V. Strenева<sup>1,2</sup>, E.V. Shorikov<sup>1,2</sup>, L.I. Saveliev<sup>1,2,3</sup>, L.G. Fechina<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Regional Children's Clinical Hospital №1, Yekaterinburg;

<sup>2</sup>Research Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg;

<sup>3</sup>Ural State Medical Academy, Yekaterinburg

**Aim of the study** – characterization of immunophenotype in infant acute myeloid leukemia (AML). 90 patients (40 boys and 50 girls) with acute leukemia (AL) aged up to 365 days were included in the current study. AML was found more frequently in infants than in older children (26.67 % and 10.83 % respectively;  $p = 0.0002$ ). Significant immunophenotypic differences were observed in patients with and without MLL gene rearrangements. Number of cases in those tumor cells expressed CD99, CD61, CD133, CD15, NG2 varied between MLL-positive and MLL-negative groups. CD61-negativity, high CD99, CD15, CD133 and NG2 expression were immunophenotypic signatures of MLL-rearranged infant AML, although CD99 and NG2 had the highest diagnostic efficacy. Thus infants' AML immunophenotype differs significantly due to the presence of MLL gene rearrangements. Diagnostic immunophenotyping of infants' AML allows predicting presence of MLL rearrangements by either CD99 or NG2 expression.

**Key words:** acute myeloid leukemia, infants, flow cytometry

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) представляет собой гетерогенную группу заболеваний, отличающихся друг от друга по морфологическим, иммунофенотипическим, цитогенетическим и молекулярно-генетическим характеристикам [1, 2]. У детей пик заболеваемости ОМЛ приходится на первый год жизни. Доля пациентов этого возраста составляет по разным источникам до 20 % всех случаев ОМЛ у детей [3–5].

Среди характерных признаков ОМЛ у детей первого года жизни следует отметить относительно высокий инициальный лейкоцитоз (более  $100 \times 10^9/\text{л}$ ) [6–9], гепатоспленомегалию, инициальный нейрорлейкоз [6, 9, 10–12], частые случаи хлоромы [9, 13]. Среди всех морфологических вариантов по франко-американо-британской (FAB) классификации у детей первого года жи-

ни выявляются острый миеломонобластный (ОМЛ М4), острый монобластный (ОМЛ М5) [6, 9, 14] и острый мегакариобластный лейкозы (ОМЛ М7) [6, 10, 14, 15]. Примерно в половине случаев ОМЛ у детей первого года жизни чаще всего выявляются перестройки 11q23/MLL [4, 11, 12, 16–19]. Методами молекулярной биологии охарактеризована структура 64 химерных генов с участием MLL [20], наиболее частыми из которых при ОМЛ у детей являются MLL-MLLT3, MLL-MLLT10, MLL-ELL, MLL-MLLT11, MLL-SEPT6 (даны в порядке убывания частоты встречаемости) [16–20].

В работе S. Armstrong et al. было впервые показано, что опухолевые клетки при острых лейкозах (ОЛ), ассоциированных с перестройками гена MLL, по профилю экспрессии генов отличаются от бластов при типичных ОМЛ и остром лимфобластном лейкозе

(ОЛЛ) [21]. В дальнейшем было установлено, что по профилю экспрессии генов ОЛЛ и ОМЛ, ассоциированные с перестройками гена *MLL*, ближе друг к другу по сравнению с ОЛЛ и ОМЛ без данных перестроек соответственно [22–24]. Таким образом, наличие перестроек гена *MLL* обуславливает развитие биологически совершенно особенной опухоли [21–24].

Иммунофенотип опухолевых клеток при ОЛЛ с наличием перестроек гена *MLL* описан достаточно детально [25–31], в то время как при ОМЛ чаще всего в качестве типичной для наличия перестроек гена *MLL* аберрации иммунофенотипа упоминается только экспрессия нейрогликана NG2, считающегося крайне специфичным *MLL*-ассоциированным антигеном [28, 32–34]. При этом комплексное описание иммунофенотипа ОМЛ у детей первого года жизни как с наличием перестроек гена *MLL*, так и с их отсутствием, в литературе не встречается.

**Цель исследования** – характеристика иммунофенотипа ОМЛ у детей первого года жизни.

### Материалы и методы исследования

Исследование проводилось в Лаборатории иммунофенотипирования гемобластозов Отдела детской онкологии и гематологии ОДКБ № 1 г. Екатеринбурга с октября 2005 по ноябрь 2012 г. Из 441 ребенка, у которых было проведено исследование первичного иммунофенотипа, 90 детей (40 мальчиков и 50 девочек) были в возрасте от 0 до 11 месяцев включительно. Эти пациенты составили исследуемую группу.

Пациентам проводились: стандартное цитоморфологическое исследование, иммунофенотипирование, цитогенетическое исследование, включающее исследование методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), и молекулярно-генетические исследования.

Иммунофенотипирование опухолевых клеток в костном мозге производилось методом 4–6-цветной проточной цитометрии на приборах “FACS Canto” и “FACS Canto II” (Becton & Dickinson (BD), США). Настройка проточных цитометров производилась с использованием калибровочной системы “7-color Setup Beads” (BD). Мониторинг стабильности работы приборов осуществлялся при помощи калибровочных систем “Cytometer Setup and Tracking” (BD) и «DAKO Fluorospheres» (Dako, Дания). Использовались моноклональные антитела (МКАТ), меченные флуоресцеинизотиоцианатом (FITC), R-фикоэритрином (PE), перидининхлорофилл протеином (PerCP), аллофиоцианином (APC), а также тандемными конъюгатами PE с цианином 7 (Cy7), PerCP с цианином 5.5 (Cy5.5) и APC с Cy7. Для иммунофенотипирования применялись МКАТ, представленные в табл. 1. Окрашивание первично мечеными МКАТ производилось согласно инструкции производителя.

Результаты иммунофенотипирования оценивались при помощи программного обеспечения FACS Diva 4.0-6.1 (BD). Анализировали не менее 10 000 ядро-

**Таблица 1.** Моноклональные антитела, применявшиеся для первичного иммунофенотипирования ОЛ

Флуорохром	Моноклональные антитела
FITC	CD58, CD45, CD99, CD7, CD7*, CD65*, CD15, CD33, CD10, CD19, CD4, CD3, MPO, CD64, CD66b, CD61, CD5, CD71
PE	CD10, CD7, CD34, NG2*, CD1a, CD45, CD22, CD133**, CD13, CD8, CD58, CD20, CD79a, TdT, CD38, CD11a, CD11b, CD11c, CD2, CD235a, CD99, MPO
PerCP	CD19, CD20, CD8, CD45, CD34
PerCP-Cy5.5	CD20, CD33, CD38, CD19, CD79a, CD5
PE-Cy7	CD34, CD13, CD3, CD56, CD10, CD38, CD22*, CD33*
APC	CD19, CD117, CD3, CD133**, CD56, CD2, CD79a, CD79a*, CD10, CD11c, CD38, CD41a, TdT, IgM
APC-Cy7	CD45, CD20, CD14, CD3, CD4

**Примечание.** \* – антитела производства Beckman Coulter (США); \*\* – антитела производства Miltenyi Biotec (Германия); остальные антитела произведены Becton & Dickinson (США).

содержащих клеток. Опухолевые клетки выделяли на точечных графиках по экспрессии CD45, значениям параметра бокового светорассеяния и экспрессии линейно-ассоциированных маркеров (CD19, CD7, CD33). Дальнейший анализ проводили при помощи гистограмм. Согласно критериям группы EGIL [35], популяцию считали позитивной, если 20 % и более клеток экспрессировали исследуемый антиген. В качестве негативного контроля использовали сохранившиеся в образце нормальные клетки. Определение иммунологических вариантов производилось также согласно критериям EGIL [35].

Всем пациентам проводилось цитогенетическое исследование клеток костного мозга и/или периферической крови, взятых до начала терапии. Применялась техника приготовления «прямых препаратов» или краткосрочное культивирование клеток (24 ч, 48 ч). Методом окраски хромосомных препаратов был GTG-вариант. В большинстве случаев анализировали не менее 20 метафазных пластинок. Кариотипирование проводили в соответствии с международной номенклатурой хромосом человека ISCN 2009 [36]. Для выявления перестроек гена *MLL* выполняли исследование методом FISH с использованием локус-специфичного зонда LSI *MLL* Dual Color Break Apart Rearrangement Probe (Abbott Molecular, США).

Гнездная ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) выполнялась для выявления следующих типов химерных транскриптов с участием гена *MLL*: *MLL-AF4*, *MLL-MLLT1*, *MLL-MLLT3*, *MLL-MLLT4*, *MLL-MLLT10* по ранее описанным методикам [37–39]. У пациентов с отсутствием указанных химерных транскриптов до-

полнительно оценивали экспрессию *MLL-MLLT6*, *MLL-MLLT11*, *MLL-EPS15*, *MLL-ELL* с использованием набора “NemaVision” (DNA-Technology A/S, Дания).

Для статистической обработки результатов применяли программу Statistica 6.0. Статистическая значимость различий определялась при помощи точного критерия Фишера и другого непараметрического критерия  $\chi^2$ . Достоверными считались различия при  $p < 0,05$ . Для оценки возможности прогнозирования наличия перестроек гена *MLL* для каждого иммунологического маркера рассчитывали диагностическую чувствительность, специфичность, прогностическую ценность положительного и отрицательного результатов, а также общую диагностическую эффективность теста [40].

### Результаты исследования

Распределение вариантов ОЛ, по данным иммунофенотипирования, у пациентов первого года жизни ( $n = 90$ ) и более старших детей ( $n = 351$ ) показано на рис. 1. У детей первого года жизни ОЛЛ выявлялся достоверно реже ( $p < 0,0001$ ), а ОМЛ и острый билинейный лейкоз (ОБЛЛ) – достоверно чаще ( $p = 0,0002$  и  $p = 0,0359$  соответственно), чем у пациентов старше 1 года. Для острого бифенотипического лейкоза (ОБФЛ) и острого недифференцированного лейкоза (ОНдЛ) значимых различий в возрастных группах обнаружено не было ( $p = 0,7787$  и  $p = 0,8717$  соответственно).

Среди 24 детей младше 1 года с ОМЛ данные цитоморфологического исследования были доступны у 23 (95,8 %). Наиболее частыми цитологическими вариантами (по FAB-классификации) были ОМЛ М5 и ОМЛ М7 – 7 (30,4 %) пациентов с каждым вариантом соответственно; кроме того, были выявлены 3 (13,0 %)

случая ОМЛ М2; 2 (8,7 %) случая ОМЛ М4 и по 1 случаю ОМЛ М0 и ОМЛ М1 (по 4,3 %). У 1 (4,3 %) пациента были определены бласты 2 типов: ОМЛ М5 и ОМЛ М6. Еще у 1 (4,3 %) ребенка опухолевые клетки имели иммунофенотип ОМЛ, в то время как при цитоморфологическом исследовании был определен ОЛЛ L1.

В 14 (58,3 %) из 24 случаев были выявлены различные перестройки гена *MLL*. Шесть (42,9 %) пациентов имели *MLL-MLLT3*, 4 (28,6 %) – *MLL-MLLT10*, 2 (14,3 %) – *MLL-MLLT11*, 1 (7,1 %) – *MLL-MYO1F*, а у 1 (7,1 %) пациента ген-партнер гена *MLL* идентифицировать не удалось.

Данные цитоморфологического исследования существенно различались у пациентов с наличием перестроек гена *MLL* и пациентов, у которых эти перестройки выявлены не были. Так, у 6 из 9 *MLL*(–) пациентов был определен ОМЛ М7 (66,7 %), в то время как среди *MLL*(+) пациентов данный цитологический вариант был обнаружен лишь в 1 (7,1 %;  $p = 0,0050$ ) случае. В то же время в *MLL*(+) группе монобласты определялись в 8 (57,1 %) случаях, а в *MLL*(–) группе – не были определены ни у одного ребенка ( $p = 0,0061$ ).

Имунофенотип опухолевых клеток пациентов с *MLL*(+) ОМЛ также существенно отличался от фенотипа бластов пациентов *MLL*(–). Экспрессия антигенов опухолевыми клетками пациентов с *MLL*(+) и *MLL*(–) ОМЛ приведена в табл. 2.

Наши данные позволяют утверждать, что экспрессия NG2, CD99, CD15 и CD133, а также отсутствие экспрессии CD61 могут прогнозировать наличие перестройки гена *MLL*. Типичные примеры экспрессии антигенов представлены на рис. 2. Характеристики параметров диагностической информативности определения экспрессии CD15, CD133, CD99, CD61 и NG2

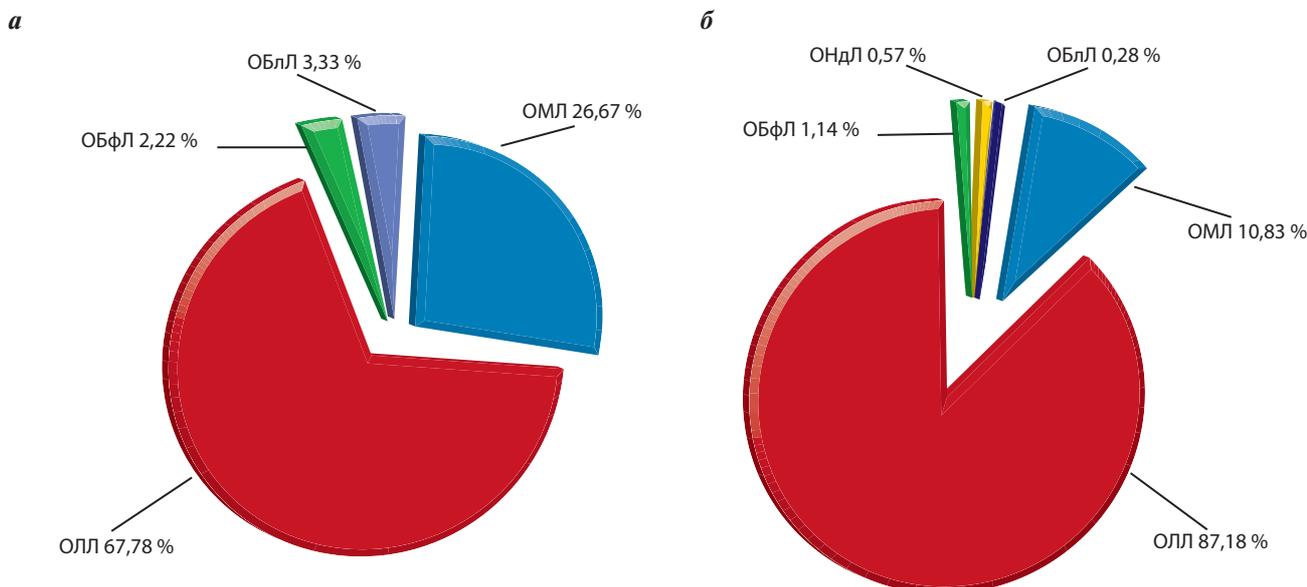


Рис. 1. Распределение вариантов ОЛ по данным иммунофенотипирования: а – у пациентов первого года жизни ( $n = 90$ ); б – у более старших детей ( $n = 351$ )

**Таблица 2.** Экспрессия антигенов опухолевыми клетками пациентов с *MLL(+)* и *MLL(-)* ВП-ОЛЛ

	<i>MLL(+)*</i>	<i>MLL(-)*</i>	<i>p</i>
CD13	5/14	4/9	0,5046
CD33	12/14	7/10	0,3320
CD117	5/13	3/9	0,5836
CD45	14/14	10/10	0,9999
CD34	3/14	5/9	0,1102
CD133	5/12	0/9	0,0389
CD99	10/11	1/6	0,0054
CD7	2/14	5/9	0,0517
CD19/22	3/14	0/9	0,2055
CD15	12/14	3/9	0,0166
CD65	10/12	1/4	0,0632
CD61	1/14	6/10	0,0088
NG2	11/14	0/7	0,0010
CD235a	1/14	0/9	0,6087
CD14	1/12	2/8	0,3439
CD4	11/12	5/9	0,0805
CD56	11/13	4/9	0,0642
MPO	4/14	2/10	0,5057

**Примечание.** Данные представлены в формате «число позитивных пациентов/общее число пациентов, которым проводилось определение экспрессии антигена». *MLL(+)\** – пациенты с наличием перестроек гена *MLL*; *MLL(-)\** – пациенты, у которых перестройка гена *MLL* выявлена не была.

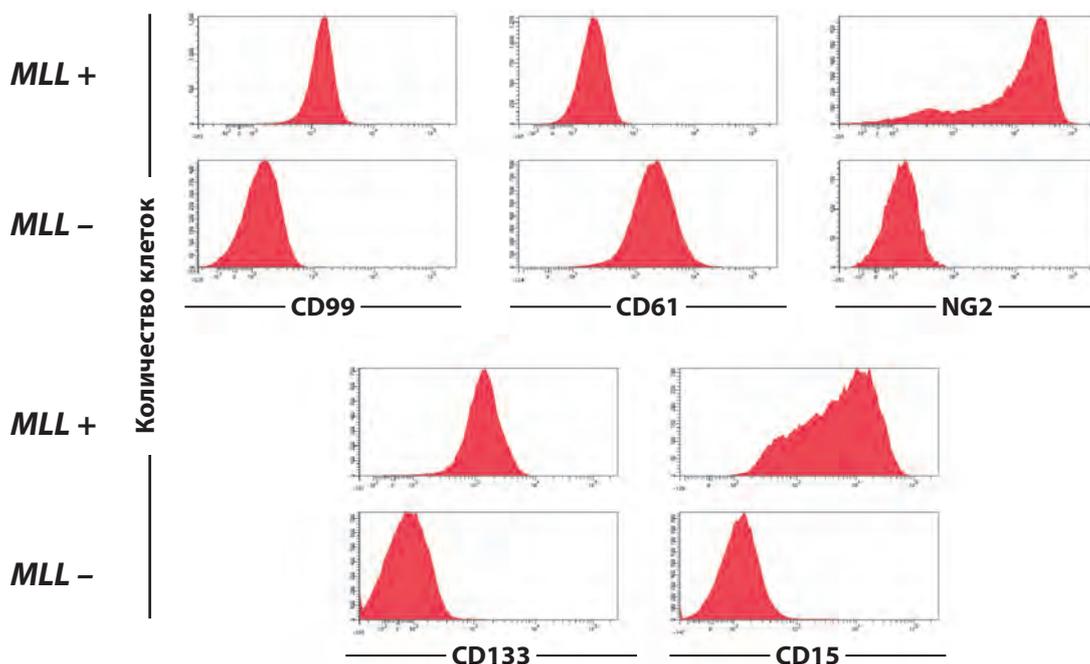
для прогнозирования наличия перестроек гена *MLL* представлены в табл. 3.

Экспрессия CD61 характерна для острого мегакариобластного лейкоза (ОМЛ М7 по FAB-классификации). Данный вариант ОМЛ редко ассоциирован с перестройками гена *MLL* [41, 42], однако в исследуемой группе среди *MLL(+)*-пациентов был выявлен 1 случай ОМЛ М7. Девочка, 6 месяцев, поступила с выраженными признаками интоксикации, анемией, геморрагическим синдромом, увеличением печени и селезенки, умеренным лейкоцитозом. В миелограмме

**Таблица 3.** Характеристики параметров диагностической информативности определения экспрессии антигенов для прогнозирования наличия перестроек гена *MLL*

	ДЧ, %	Сп, %	ПЦПР, %	ПЦОР, %	ДЭТ, %
Экспрессия CD133	41,7	100	100	56,3	66,7
Экспрессия CD99	90,9	83,3	90,9	83,3	88,2
Экспрессия CD15	85,7	66,7	80,0	75,0	78,3
Отсутствие экспрессии CD61	92,9	60,0	76,5	85,7	79,2
Экспрессия NG2	78,6	100	100	70,0	85,7
Экспрессия NG2 или CD99	100	87,5	93,3	100,0	95,5

**Примечание.** ДЧ – диагностическая чувствительность, Сп – специфичность, ПЦПР – прогностическая ценность положительного результата, ПЦОР – прогностическая ценность отрицательного результата, ДЭТ – диагностическая эффективность теста.



**Рис. 2.** Типичные примеры экспрессии антигенов при ОМЛ с наличием перестроек гена *MLL* и без них у детей первого года жизни

при цитоморфологическом исследовании обнаружено 82 % бластных клеток, имеющих морфологические признаки мегакариоцитарной линии дифференцировки. Во всех опухолевых клетках выявлена цитохимическая реакция на кислую фосфатазу, хлорацетат эстеразу, неспецифическую  $\alpha$ -нафтилацетат эстеразу, в части клеток – позитивная ШИК-реакция. Реакции на миелопероксидазу и липиды (окраска суданом черным В) была отрицательна. При иммунофенотипировании определено, что все опухолевые клетки экспрессировали CD45, однако экспрессия данного маркера была снижена по сравнению с лейкоцитами. Бласты также экспрессировали CD61, CD41a, CD7, CD117, CD4, CD56 и гликофорин А (CD235a), 23,5 % опухолевых клеток также слабо экспрессировали NG2. Экспрессия других миелоидных, В- и Т-линейных антигенов, а также маркеров клеток-предшественников (CD34 и CD133) не выявлена. По совокупности данных цитологического, цитохимического исследований и иммунофенотипирования был поставлен диагноз ОМЛ М7. При цитогенетическом исследовании была определена транслокация t(9;11), а при проведении ОТ-ПЦР – химерный транскрипт *MLL-MLLT3*. Наличие перестройки гена *MLL* было также подтверждено методом FISH. Таким образом, нами было выявлено достаточно редкое сочетание перестройки гена *MLL* с острым мегакариобластным лейкозом.

### Обсуждение полученных результатов

ОМЛ у детей первого года жизни, как и ОЛЛ, характеризуется особенной биологией опухоли [21–24]. Эти особенности обусловлены наличием перестроек гена *MLL*, наиболее часто встречающихся именно у пациентов младше 1 года. Однако частота встречаемости перестроек гена *MLL* при ОМЛ у детей первого года жизни ниже таковой при ОЛЛ [4, 11, 12, 16–18].

На протяжении длительного времени ведутся работы по поиску иммунологических маркеров, позволяющих с достаточно высокой вероятностью прогнозировать наличие молекулярно-генетических aberrаций с вовлечением региона 11q23. И если типичный иммунофенотип опухолевых клеток при ОЛЛ, ассоциированном с перестройками гена *MLL*, описан достаточно четко [25–31], то подобных данных относительно ОМЛ сравнительно немного. Чаще всего описывается только экспрессия опухолевыми клетками при *MLL*(+) ОМЛ маркера NG2, считающегося очень специфичным *MLL*-ассоциированным антигеном [28, 32–34]. В доступной нам литературе мы не встретили работ, посвященных иммунофенотипированию ОМЛ у детей первого года жизни, как имеющих *MLL*-перестройки, так и без них. Обычно описывается иммунофенотип только *MLL*-позитивных пациентов, вне зависимости от возраста [32–34].

В нашей популяции больных выявление ОМЛ составило 26,67 % всех ОЛ у детей первого года жизни, в то время как среди ОЛ у более старших детей ОМЛ

встречался значительно реже (10,83 %). Цитоморфологические варианты и иммунофенотипы ОМЛ существенно отличались внутри исследуемой группы, в зависимости от наличия/отсутствия перестроек гена *MLL*. Отсутствие экспрессии CD61, а также высокая экспрессия CD99, CD15, CD133 и NG2 характеризовали иммунофенотип опухолевых клеток при наличии перестроек гена *MLL*. Диагностическая эффективность выявления экспрессии CD99 и NG2 для прогнозирования наличия перестроек гена *MLL* оказалась наиболее высокой, в то время как диагностическая эффективность остальных маркеров была значительно ниже. Одновременное же определение экспрессии NG2 и CD99 позволило по наличию на опухолевых клетках хотя бы одного из этих антигенов правильно прогнозировать перестройку гена *MLL* у 95,5 % пациентов. Ранее было показано, что экспрессия CD15, CD133 и NG2 характерна для наличия перестроек гена *MLL* и при ОЛЛ [26–31], в то время как для CD99 такой зависимости выявлено не было [31]. Таким образом, ОЛЛ и ОМЛ у детей первого года жизни с наличием перестроек гена *MLL* имеют ряд общих особенностей иммунофенотипа.

Среди пациентов с ОМЛ без перестроек гена *MLL* преобладал острый мегакариобластный лейкоз с характерной экспрессией CD61. Однако и среди пациентов *MLL*(+)-группы был выявлен 1 случай ОМЛ М7. Этот описанный выше случай является нетипичным, поскольку при данном варианте ОМЛ перестройки гена *MLL* обнаруживаются редко [41, 42]. Однако и при ОМЛ М7 эффективность NG2 для прогнозирования наличия перестроек гена *MLL* оказалась очень высока.

По данным литературы, при ОМЛ у детей первого года жизни самым частым партнером гена *MLL* является ген *MLLT3* (32,0 % случаев), несколько реже выявляются *MLLT10* (23,1 %), *ELL* (11,6 %), *MLLT4* (7,5 %), *MLLT11* (4,8 %), *EPS15* и *MLLT1* (по 3,4 %) [20]. На долю других химерных генов приходится менее 15 % всех случаев ОМЛ у детей, но именно за счет них достигается чрезвычайно высокая вариабельность типов перестроек гена *MLL*, которых описано более 60 [20]. Это тем более важно, потому что прогноз при ОМЛ во многом определяется геном-партнером [43–46]. Так, роль t(9;11)(p21;q23)/*MLL-MLLT3* при ОМЛ – скорее благоприятная [45], хотя это показано не для всех протоколов терапии ОМЛ у детей младше 12 месяцев [44]. В то же время наличие t(6;11)(q27;q23)/*MLL-MLLT4* и t(10;11)(p12;q23)/*MLL-MLLT10* ассоциировано с неблагоприятным прогнозом [46].

Поскольку в рутинной лабораторной практике методом ОТ-ПЦР чаще всего проводится определение только *MLL-MLLT3*, *MLLT-MLLT4* и реже *MLL-MLLT10*, *MLL-ELL* [38], то существует большая вероятность «пропустить» имеющуюся перестройку гена *MLL*. Важным исследованием, используемым для скрининга наличия перестроек *MLL*, является метод FISH

[47–51], однако данный диагностический подход доступен только в ограниченном числе лабораторий.

Таким образом, при проведении обычного рутинного определения наиболее частых молекулярно-генетических нарушений у пациентов младше 1 года с ОМЛ у существенного количества *MLL*(+)-больных перестройки данного гена выявлены не будут. В то же время эффективность прогнозирования наличия любых перестроек гена *MLL* с помощью определения экспрессии CD99 и NG2 в нашем исследовании составила 95,5 %, поэтому применение данных антигенов при первичном иммунофенотипировании ОМЛ у детей первого года жизни представляется крайне необходимым. Для максимально точной оценки прогноза у пациентов с ОМЛ при обнаружении экспрессии опухолевыми клетками CD99 или NG2 следует проводить более углубленный поиск перестроек гена *MLL* при

помощи FISH, мультиплексной ОТ-ПЦР и длинной инвертированной ПЦР, а не ограничиваться стандартным определением наиболее частых химерных генов.

### Выводы

Частота выявления ОМЛ у детей первого года жизни составила 26,67 % всех случаев ОЛ, что было значительно чаще, чем у старших детей (10,83 %).

Имунофенотип ОМЛ у детей младше 1 года существенно различается в зависимости от наличия или отсутствия перестроек гена *MLL*.

У детей младше 1 года с ОМЛ экспрессия NG2, CD99, CD133, CD15, а также отсутствие экспрессии CD61 позволяют с уверенностью предполагать наличие какой-либо перестройки гена *MLL*, при этом диагностическая эффективность одновременного определения экспрессии CD99 и NG2 наиболее высока.

## ЛИТЕРАТУРА

- WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Swerdlow S., Campo E., Harris N.L. et al. (eds.). Lyon, France: IARC, 2008.
- Vardiman J., Thiele J., Arber D. et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009;111:937–51.
- Ross J., Davies S., Potter J., Robison L. Epidemiology of childhood leukemia, with a focus on infants. *Epidemiol Rev* 1994;16:243–72.
- Pui C.-H., Kane J., Crist W. Biology and treatment of infant leukemias. *Leukemia* 1995;9:762–9.
- Biondi A., Cimino G., Pieters R., Pui C.H. Biological and therapeutic aspects of infant leukemia. *Blood* 2000;96:24–33.
- Webb D., Harrison C., Stevens R. et al. Relationships between age at diagnosis, clinical features, and outcome of therapy in children treated in the Medical Research Council AML 10 and 12 trials for acute myeloid leukemia. *Blood* 2001;98:1714–20.
- Pui C.-H., Kalwinsky D., Schell M. et al. Acute nonlymphoblastic leukemia in infants: clinical presentation and outcome. *J Clin Oncol* 1988;6:1008–13.
- Chessells J., Harrison C., Kempinski H. et al. Clinical features, cytogenetics and outcome in acute lymphoblastic and myeloid leukaemia of infancy: report from the MRC Childhood Leukaemia working party. *Leukemia* 2002;16:776–84.
- van Wering E., Kamps W. Acute leukemia in infants. A unique pattern of acute nonlymphocytic leukemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1986;8:220–4.
- Vormoor J., Ritter J., Creutzig U. et al. Acute myelogenous leukaemia in children under 2 years – experiences of the West German AML studies BFM-78, -83 and -87. AML-BFM Study Group. *Br J Cancer* 1992;18(Suppl.):63–7.
- Pui C.-H., Raimondi S., Srivastava D. et al. Prognostic factors in infants with acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2000;14:684–7.
- Sorensen P., Chen C., Smith F. et al. Molecular rearrangements of the *MLL* gene are present in most cases of infant acute myeloid leukemia and are strongly correlated with monocytic or myelomonocytic phenotypes. *J Clin Invest* 1994;93:429–37.
- Park K., Lee D., Lee H. et al. Granulocytic sarcoma in *MLL*-positive infant acute myelogenous leukemia: fluorescence in situ hybridization study of childhood acute myelogenous leukemia for detecting *MLL* rearrangement. *Am J Pathol* 2001;159(6):2011–6.
- Pieters R. Biology and treatment of infant leukemias. In: Pui C.-H. (editor), *Treatment of Acute Leukemias: New Directions for Clinical Research*. Totowa, USA: Humana Press, 2003. Pp. 61–73.
- Felix C., Lange B. Leukemia in infants. *Oncologist* 1999;4:225–40.
- Balgobind B., Raimondi S., Harbott J. et al. Novel prognostic subgroups in childhood 11q23/*MLL*-rearranged acute myeloid leukemia: results of an international retrospective study. *Blood* 2009;114:2489–96.
- Harrison C., Hills R., Moorman A. et al. Cytogenetics of childhood acute myeloid leukemia: United Kingdom Medical Research Council Treatment trials AML 10 and 12. *J Clin Oncol* 2010;28(16):2674–81.
- Neuhoff von C., Reinhardt D., Sander A. et al. Prognostic impact of specific chromosomal aberrations in a large group of pediatric patients with acute myeloid leukemia treated uniformly according to trial AML-BFM 98. *J Clin Oncol* 2010;28(16):2682–9.
- Chantrain C.F., Poirel H.A. The genetic signature of acute leukemia in infancy. *Hem Oncol* 2010;1:1–8.
- Meyer C., Kowarz E., Hofmann J. et al. New insights to the *MLL* recombinome of acute leukemias. *Leukemia* 2009;23:1490–9.
- Armstrong S.A., Staunton J.E., Silverman L.B. et al. *MLL* translocations specify a distinct gene expression profile that distinguishes a unique leukemia. *Nat Genetics* 2002;30:41–7.
- Zangrando A., Dell'Orto M.C., te Kronnie G., Basso G. *MLL* rearrangements in pediatric acute lymphoblastic and myeloblastic leukemias: *MLL* specific and lineage-specific signatures. *BMC Med Genom* 2009;23:2–36.
- Stam R.W., Schneider P., Hagelstein J.A.P. et al. Gene expression profiling-based dissection of *MLL* translocated and *MLL* germline acute lymphoblastic leukemia in infants. *Blood* 2010;115:2835–44.
- Qazi S., Uckun F.M. Gene expression profiles of infant acute lymphoblastic leukemia and its prognostically distinct subsets. *Br J Hematol* 2010;149:865–73.
- Szczepanski T., Harrison C.J., van Dongen J.J.M. Genetic aberrations in paediatric acute leukaemias and implication for management of patients. *Lancet Oncol* 2010;11:880–9.
- Borkhardt A., Vuchter C., Viehmann S. et al. Infant acute lymphoblastic leukemia – combined cytogenetic, immunophenotypical and molecular analysis of 77 cases. *Leukemia* 2002;16:1685–90.
- Hrusak O., Porwit-MacDonald A. Antigen expression patterns reflecting

- genotype of acute leukemias. *Leukemia* 2002;16:1233–58.
28. De Zen L., Bicciato S., te Kronnie G., Basso G. Computational analysis of flow cytometry antigen expression profiles in childhood acute lymphoblastic leukemia: an MLL/AF4 identification. *Leukemia* 2003;17:1557–65.
29. Schwartz S., Reider H., Schlager B. et al. Expression of the human homologue of rat NG2 in adult acute lymphoblastic leukemia: close association with MLL rearrangements and a CD10<sup>-</sup>/CD24<sup>-</sup>/CD65<sup>+</sup>/CD15<sup>+</sup> B-cell immunophenotype. *Leukemia* 2003;17:1589–95.
30. Attarbaschi A., Mann G., Konig M. et al. Mixed Lineage Leukemia – rearranged childhood pro-B and CD10-negative pre-B acute lymphoblastic leukemia constitute a distinct clinical entity. *Clin Cancer Res* 2006;15(10):2988–94.
31. Попов А.М., Цаур Г.А., Вержбицкая Т.Ю. и др. Иммунофенотипическая характеристика острого лимфобластного лейкоза у детей первого года жизни. *Онкогематол* 2012;2:16–23.
32. Smith F.O., Rauch C., Williams D.E. et al. The human homologue of rat NG2, a chondroitin sulphate chromosome band 11q23blasts from poor-prognosis patients with abnormalities of hematopoietic cells but is expressed by acute myeloid leukemia proteoglycan, is not expressed on the cell surface of normal. *Blood* 1996;87:1123–33.
33. Mauvieux L., Delabesse E., Bourquelot P. et al. NG2 expression in MLL rearranged acute myeloid leukaemia is restricted to monoblastic cases. *Br J Haematol* 1999;107:674–6.
34. Wuchter C., Harbott J., Schoch C. et al. Detection of acute leukemia cells with mixed lineage leukemia (MLL) gene rearrangements by flow cytometry using monoclonal antibody 7.1. *Leukemia* 2000;14:1232–8.
35. Bene M., 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.
36. ISCN 2009: An International System Human Cytogenetic Nomenclature (2009). Eds.: Shaffer L.G., Slovak M., Campbell L. Karger, Basel, Switzerland, 2009.
37. Borkhardt A., Repp R., Haupt E. et al. Molecular analysis of MLL/AF4 recombination in infant acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1994;8:549–53.
38. Pallisgaard N., Hokland P., Riishoj D. et al. Multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction for simultaneous screening of 29 translocations and chromosomal aberrations in acute leukemia. *Blood* 1998;92:574–88.
39. 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. *Онкогематол* 2010;2:46–54.
40. Weinstein S., Obuchowski N.A., Lieber M.L. Clinical evaluation of diagnostic tests. *Am J Roentgenol* 2005;184:14–9.
41. Bernstein J., Dastugue N., Haas O. et al. Nineteen cases of the t(1;22)(p13;q13) acute megakaryoblastic leukaemia of infants/children and a review of 39 cases: report from a t(1;22) study group. *Leukemia* 2000;14:216–8.
42. Матвеева Е.А., Казакова А.Н., Калинина И.И. и др. Методы молекулярной цитогенетики для диагностики острого мегакариобластного лейкоза. *Онкогематол* 2012;2:51–6.
43. Hilden J., Smith F., Frestedt J. et al. MLL Gene Rearrangement, Cytogenetic 11q23 Abnormalities, and Expression of the NG2 Molecule in Infant Acute Myeloid Leukemia. *Blood* 1997;89(10):3801–5.
44. Kawasaki H., Itoyama K., Eguchi M. et al. Superior outcome of infant acute myeloid leukemia with intensive chemotherapy: results of the Japan Infant Leukemia Study Group. *Blood* 2001;98(13):3589–90.
45. Rubnitz J., Raimondi S., Tong X. et al. Favorable Impact of the t(9;11) in Childhood Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol* 2002;20:2302–9.
46. Balgobind B., Zwaan C., Pieters R., van den Heuvel-Eibrink M. The heterogeneity of pediatric MLL-rearranged acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2011;25:1237–48.
47. Thirman M., Gill H., Burnett R. et al. Rearrangement of the MLL gene in acute lymphoblastic and acute myeloid leukemias with 11q23 chromosomal translocations. *New Eng J Med* 1993;329:909–14.
48. Cuthbert G., Thompson K., Breese G. et al. Sensitivity of FISH in detection of MLL translocations. *Genes Chromosomes Cancer* 2000;29:180–5.
49. von Bergh A., Emanuel B., Zelder-Bhola van S. et al. A DNA probe combination for improved detection of MLL/11q23 breakpoints by double-color interphase-FISH in acute leukemias. *Genes Chromosomes Cancer* 2000;28:14–22.
50. Dyson M., Talley P., Reilly J. et al. Detection of cryptic MLL insertions using a commercial dual-color fluorescence in situ hybridization probe. *Cancer Genet Cytogenet* 2003;147:81–3.
51. Цаур Г.А., Плеханова О.М., Гиндина Т.Л. и др. Применение метода флуоресцентной гибридизации *in situ* для выявления перестроек гена MLL при острых лейкозах у детей первого года жизни. *Мед ген* 2012;7:35–43.