

АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ И ПРОГНОСТИЧЕСКОГО ЗНАЧЕНИЯ МУТАЦИЙ ГЕНОВ *FLT3*, *c-KIT* И *NPM1* У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ МИЕЛОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Л.В. Гук¹, Т.В. Савицкая², Д.А. Домнинский¹, В.О. Бобрынина¹,
М.М. Шнейдер¹, А.А. Масчан¹, О.В. Алейникова²

¹ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии Росздрава, Москва;

²ГУ Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии, Минск, Республика Беларусь

Контакты: Лариса Викторовна Гук larisaguk@mail.ru

Прогноз пациентов с острым миелобластным лейкозом (ОМЛ), получающих интенсивную химиотерапию, определяется как кариотипическими аномалиями, так и мутациями в генах, ответственных за выживание и самоподдержание лейкемических клеток. В данной работе проанализирована частота возникновения мутаций в генах *FLT3*, *c-KIT*, *NPM1*, имеющих принципиальное прогностическое значение у взрослых. Мутации в киназном домене *FLT3* выявлены у 18 (21,6%) из 83 пациентов с подлежащими анализу образцами. Клинико-гематологическая ремиссия получена у 2 (11%) из 18 больных, 5 (27,7%) из 18 пациентов с мутациями *FLT3* оказались рефрактерными к проводимому лечению, 2 умерли от осложнений проводимого лечения, у 9 (50%) из 18 развился рецидив ОМЛ. Живы в ремиссии лишь 2 (11%) пациента из 18. Мутации *c-KIT* выявлены у 14,2% (2 из 14 пациентов), а мутации *NPM1* представляли собой аллельный полиморфизм. Таким образом, мутации киназного домена *FLT3* являются крайне неблагоприятными в прогностическом отношении.

Ключевые слова: острый миелобластный лейкоз, дети, гены *FLT3*, *c-KIT*, *NPM1*

ANALYSIS OF INCIDENCE AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE *FLT3*, *c-KIT* AND *NPM1* GENES MUTATION IN CHILDREN WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA

L.V. Guk¹, T.V. Savitskaya², D.A. Domninsky¹, V.O. Bobrinina¹, M.M. Schneider¹, A.A. Maschan¹, O.V. Aleinikova²

¹Federal research center of pediatric hematology, oncology and immunology, Moscow;

²Republic Centre for Paediatric Oncology and Haematology, Minsk, Belarus

Prognosis of patients with acute myeloid leukemia receiving intensive chemotherapy is defined as karyotyping anomalies, and mutations of genes responsible for surviving and self-maintenance leukemic cells. In the giving work incidence of mutation involving genes *FLT3*, *c-KIT*, *NPM1* having prognostic value in adults is analysed. Kynase domain *FLT3* mutation in 18 from 83 patients (21.6%) was detected. 2 from 18 patients (11%) achieved complete remission, 5 from 18 patients (27.7%) with *FLT3* mutations were refractory to therapy, two patients died from treatment complications, 9 from 18 (50%) relapsed. Only 2 patients (11%) are alive in continuous complete remission. *c-KIT* mutations detected in 14.2% (2/14 patients), and *NPM1* mutations represented allelic polymorphism. Thus, kynase domain *FLT3* mutation are prognostic unfavorable.

Key words: acute myeloid leukemia, children, *FLT3*, *c-KIT*, *NPM1* genes

Острые миелобластные лейкозы (ОМЛ) составляют генетически гетерогенную группу заболеваний, общей чертой которых является накопление незрелых миелоидных клеток на разных стадиях дифференцировки. Спектр молекулярно-генетических нарушений, выявленных при ОМЛ, может служить иллюстрацией почти всех известных сегодня механизмов клеточной трансформации. Это и различные хромосомные aberrации (анеуплоидия, хромосомные транслокации, делеции и инверсии), и генные мутации, и эпигенетические нарушения регуляции активности генов. Клеточные процессы, которые подвергаются патологическим изменениям в результате этих молекулярных нарушений, включают процессы регуляции пролиферации клеток, их дифференци-

ровки и выживания, а также клеточные реакции, отвечающие за репарацию ДНК, стабильность и модулирование хроматина. Несмотря на широкую генетическую гетерогенность ОМЛ, считается, что в каждом конкретном случае развитие заболевания может быть вызвано очень небольшим числом (но не менее двух) генетических aberrаций. Была предложена двухшаговая модель развития ОМЛ, в которой гены, вовлеченные в патогенез, условно разбили на 2 группы комплементации. Одна группа (класс I) включает гены, мутации в которых вызывают активацию определенных путей сигнальной трансдукции, что, в свою очередь, приводит к повышенной пролиферации и/или выживанию лейкозных клеток-предшественников. К этой группе относят мутации, приво-

дящие к активации тирозинкиназных рецепторов FLT3 или KIT, а также мутации генов семейства RAS. Другая группа комплементации (класс II) включает мутации и/или хромосомные изменения, которые воздействуют на активность и специфичность факторов транскрипции или компонентов комплекса активации транскрипции и модулирования хроматина. Такого рода мутации приводят к возникновению блока дифференцировки кроветворных клеток-предшественников. Результатом мутаций II класса являются химерные гены, возникающие при хромосомных транслокациях t(8;21), inv(16), t(16;16) и t(15;17), а также при многочисленных хромосомных абберациях, затрагивающих локус 11q23 (ген *MLL*). К той же группе относят и мутации в генах *CEBPA* и, возможно, *NPM1* [1, 2]. Для развития лейкоза необходимо, чтобы мутационные изменения затронули, как минимум, по одному из генов в каждой из этих групп комплементации. Например, был проведен широкомасштабный анализ геномных изменений у детей с ОМЛ *de novo*, который показал, что развитие лейкоза более чем в 50% случаев связано с наличием ≤ 3 генетических изменений [3]. Кроме того, единственный опубликованный на сегодня результат секвенирования всего генома раковой клетки, полученный как раз у больного ОМЛ, идентифицировал всего 10 приобретенных генных мутаций, 2 из которых были ранее описанными онкогенными мутациями, часто встречающимися при острых лейкозах, а 8 — новыми, до этого в опухолях не выявляемыми, онкогенные функции которых неизвестны [4].

Результаты лечения ОМЛ у детей, несмотря на существенное улучшение, связанное с применением интенсивной химиотерапии (ХТ) и проведением трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), по-прежнему существенно уступают таковым при остром лимфобластном лейкозе. Основным фактором, определяющим прогноз пациентов с ОМЛ при использовании современной терапии, является кариотип лейкоэмических клеток. Наилучший прогноз (безрецидивная и общая выживаемость — 80 и 90% соответственно) имеет промиелоцитарный лейкоз с транслокацией t(15;17), не намного хуже и результаты терапии у пациентов с ОМЛ с транслокациями t(8;21) и inv 16. В то же время у больных ОМЛ с наличием моносомий 7, 5, inv 3 и сложных кариотипических аномалий заболевание характеризуется химиорезистентностью и даже самая интенсивная ХТ и ТГСК позволяют добиться выживаемости не более 20—30%.

У 30—50% больных, составляющих подгруппу ОМЛ с нормальным кариотипом, не удается выявить никаких цитогенетических отклонений. В последние годы у таких пациентов выявлен целый спектр онкогенных мутаций, представляю-

щих собой в основном точковые мутации и дупликации небольших генных фрагментов. Данные мутации встречаются в разных цитогенетических и возрастных подгруппах ОМЛ, имеют важное прогностическое значение. В последнее время именно эти мутации стали существенным фактором определения стратегии лечения [5, 6]. К наиболее часто наблюдаемым из них относят мутации в гене нуклеофосмина (*NPM1*, хромосомная локализация — 5q35), который кодирует ядерный фосфопротеин с многочисленными функциями [7]. Мутации в гене *NPM1* являются самой часто встречающейся генетической абберацией при ОМЛ, которая обнаруживается приблизительно в 25% всех случаев заболевания у детей и связана с благоприятным прогнозом [8]. У 30% пациентов с ОМЛ выявляют мутации в гене *FLT3* (13q12.2), кодирующем тирозинкиназный рецептор III класса. Наиболее распространенными мутациями в гене *FLT3* являются внутренние тандемные дупликации (ITD) в подмембранном домене и точечные мутации в тирозинкиназном домене (TKD), которые приводят к постоянной активации рецептора и ассоциируются с плохим или промежуточным прогнозом [9]. К этому же классу тирозинкиназных рецепторов относят KIT-рецептор, кодируемый геном *KIT* (4q12). Частота встречаемости мутаций в гене *KIT* широко варьирует в различных генетических и возрастных подгруппах ОМЛ [10]. Мутации в гене *KIT* обычно связывают с неблагоприятным прогнозом, однако в литературе по этому поводу есть разночтения. Активирующие мутации в кодонах 12, 13 или 61 в гене *NRAS* (1p13) встречаются примерно у 25% больных ОМЛ [2, 5]. Прогностическое значение данных мутаций для ОМЛ остается пока спорным. Приблизительно у 10—15% пациентов с ОМЛ обнаруживают мутации, приводящие к инактивации гена *C/EBPα* (19q13.1), нормальное функционирование которого играет важную роль в дифференцировке кроветворных клеток [11]. Мутации в гене *C/EBPα* связаны с благоприятным прогнозом [12, 13].

В последние годы опубликовано много работ, посвященных исследованию частоты встречаемости и прогностического значения генетических аббераций, наблюдаемых при ОМЛ [5, 14—16]. Однако следует отметить, что в данном случае тестируемые группы включали, как правило, небольшое число пациентов (несколько десятков, в отличие от тестирования больших групп взрослых больных ОМЛ, содержащих 450—4100 пациентов), методы детекции мутаций и набор тестируемых мутаций также существенно отличались в разных работах. Именно эти факторы, вероятно, привели к тому, что результаты разных исследований существенно отличаются между собой [17, 18]. Например, в одной работе частота встречае-

мости FLT3/ITD-мутаций при ОМЛ у детей оценивается в 12%, что примерно в 2 раза меньше, чем у взрослых пациентов [19], а в другом исследовании частота встречаемости этой мутации составляет лишь 4,7% [20]. Нужно подчеркнуть, что в первой работе анализировались пациенты, возраст которых был от 0 до 21 года. Этот факт может лежать в основе наблюдаемых разногласий, так как сегодня уже ясно, что этиология лейкоза у детей до 5 лет, у которых еще сохраняются очаги эмбрионального кроветворения, существенно отличается от этиологии лейкоза у детей более старшего возраста и взрослых [21, 22]. Нами приведены результаты молекулярно-генетического исследования мутаций в генах *FLT3*, *c-KIT*, *NPM1* у детей с ОМЛ, а также данные исследований этих генов в контрольной группе.

Материалы и методы

В исследование включены 124 ребенка — 79 (63,7%) мальчиков и 45 (36,8%) девочек — с диагнозом ОМЛ, получавших лечение по протоколам Москва—Минск-2000 и -2006 в Москве (РДКБ — 48, Морозовская ГКБ — 7 пациентов) и Минске (НПЦДОГ — 69 больных). Возраст пациентов варьировал от 1 мес до 18 лет включительно (медиана — 9 лет). Диагноз ОМЛ ставился на основании критериев ФАБ и ВОЗ. Вариант М2 диагностирован у 33%, М5 — у 16,9%, М4 — у 16,1%, М1 — у 15,3%, М3 — у 5,6%, М6 — у 4,8%, М7 — у 2,4%, М0 — у 2,4%, МХ — у 1,6%, М4Е0 — у 1,6% больных.

Контрольная группа была представлена 32 здоровыми донорами-добровольцами, не являвшимися родственниками пациентов.

В качестве материала исследования использовали архивные образцы: замороженные образцы костного мозга ($n=11$) и венозной крови (при наличии blasts-мий, $n=3$) больных, препараты костного мозга пациентов на предметных микроскопических стеклах ($n=41$), свежеприготовленные образцы костного мозга ($n=69$), замороженные образцы венозной крови здоровых доноров-добровольцев ($n=32$).

ДНК из архивных образцов выделяли с помощью набора ДНК-сорб-В («АмплиСенс»,

Москва) ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора в соответствии с методикой производителя. Геномную ДНК из свежеприготовленных образцов выделяли с использованием протеинкиназы К и фенольной экстракции [23].

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) из архивных образцов проводили по стандартной двух-праймерной схеме. Все праймеры синтезированы ЗАО «Синтол» (Россия). Последовательность праймеров представлена в табл. 1.

Реакционная смесь для генов *FLT3*, *c-KIT*, *NPM1* в конечном объеме 25 мкл содержала: 0,25 мг ДНК, по 5 пкмоль каждого праймера, по 25 ммоль дНТФ, 1 ЕД активности Taq ДНК-полимеразы (производства «Изоген»), ПЦР-буфер (производства «Изоген»), $MgCl_2$ в соответствии с условиями, подобранными при оптимизации ПЦР.

ПЦР осуществляли в автоматическом режиме с применением амплификатора Dyad.

Таблица 1. Последовательность праймеров, использованных для проведения ПЦР

Праймер	Последовательность 5'—3'
FLT/ITD 11F	GCA ATT TAG GTA TGA AAG CCA GC
FLT/ITD 12R	CCT TCA GCA TTT TGA CGG CAA CC
FLT3 14exF	GAC TCA TCA TTT CAT CTC TGA AGC
FLT3 14exR	CAT TTG GCA CAT TCC ATT CTT AC
FLT3 15exF	ACG TAC TCA CCA TTT GTC TTT GC
FLT3 15exR	TGC TGT CCT TCC ACT ATA CTG TAC C
FLT3 20exF	ACT CTG GTG TCA TTC TTG ACA GTG
FLT3 20exR	GAA ATA GCA GCC TCA CAT TGC
FLT3 AL F	CCG CCA ACG TGC TTG
FLT3 AL R	CAC AGT AAT ATT CCA TAT GAC CAG A ₁ TC
CKIT 8exF	ACA TAT GGC CAT TTC TGT TTT CC
CKIT 8exR	TGC CAA AAA TAA TCA TCT CAC CTC
CKIT 9exF	TTC TTC CCT TTA GAT GCT CTG C
CKIT 9exR	ATA TGG TAG ACA GAG CCT AAA CAT CC
CKIT 10-11exF	TCC ACA TTT CTC TTC CAT TG ₁ AGA G
CKIT 10-11exR	AGC CCC TGT TTC ATA CTG ACC
CKIT 17exF	TCT CCT CCA ACC TAA TAG TGT ATT CAC
CKIT 17exR	TCA AGC AGA GAA TGG GTA CTC AC
CKIT 18exF	TGT GCT TCT ATT ACA GGC TCG AC
CKIT 18exR	TGG CAA GGA TCA TTT TAC CTA AAG
NPM1 12exF	GAA GTG TTG TGG TTC CTT AAC CAC
NPM1 12exR	CAG TTA AAT AAG TCA ATA GAA ACC GTG C

Примечание. В праймер FLT3 AL R внесена нуклеотидная замена (g на t), которая приводит к появлению сайта узнавания EcoRV (выделена жирным шрифтом).

Амплификацию для генов *FLT3*, *c-KIT* проводили в следующем режиме:

95°C — 5 мин	} 35 циклов
94°C — 15 с	
60°C — 15 с	
72°C — 45 с	
72°C — 10 мин	

Амплификацию для гена *NPM1* проводили в следующем режиме:

95°C — 5 мин	} 10 циклов
94°C — 15 с	
65°C — 15 с	
72°C — 45 с	
94°C — 15 с	} 20 циклов
55°C — 15 с	
72°C — 45 с	
72°C — 10 мин	

Очистку продукта амплификации проводили осаждением 96% этиловым спиртом в присутствии ацетата аммония. Качество продукта ПЦР и его концентрацию определяли методом вертикального электрофореза. Растворенный в воде амплификат (2 мкл) наносили на 8% полиакриламидный гель (соотношение акриламида и бис-акриламида 29:1,3). Гели окрашивали раствором бромистого этидия (0,1 мкг/мл) в течение 10 мин и визуализировали продукты ПЦР в ультрафиолетовом свете.

В реакции секвенирования по протоколу Applied Biosystems BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing использовали 3—25 нг продукта ПЦР. Очистку продукта секвенирования проводили осаждением 96% этиловым спиртом в присутствии этилендиаминтетраацетата (ЭДТА).

Определение нуклеотидной последовательности образцов происходило методом автоматического секвенирования на приборе Applied Biosystems 3130xl согласно протоколу фирмы-производителя для BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit. Для анализа результатов использовали программу Sequencing Analysis 5.2.

Анализ мутаций в гене *FLT3* из свежеприготовленных образцов выполняли по описанной ранее методике K. Mills и соавт. [24].

ПЦР с праймерами *FLT3/ITD* проводили по стандартной двухпраймерной схеме. Последовательность праймеров представлена в табл. 1. ПЦР осуществляли в следующем режиме:

95°C — 5 мин	} 35 циклов
95°C — 1 мин	
56°C — 1 мин	
72°C — 1 мин	
72°C — 10 мин	

Качество продукта ПЦР и его концентрацию определяли методом электрофореза на агарозном геле. Длину ITD вычисляли как разницу длин ПЦР-фрагмента нормального гена *FLT3* и мутантного ПЦР фрагмента.

ПЦР для выявления мутаций в активационной петле (AL) гена *FLT3* проводили по стандартной двухпраймерной схеме. Последовательность праймеров представлена в табл. 1. ПЦР осуществляли в следующем режиме:

95°C — 5 мин	} 35 циклов
95°C — 1 мин	
60°C — 30 с	
72°C — 30 с	
72°C — 10 мин	

В петле активации киназного домена *FLT3* определяли точечные мутации, приводящие к замене остатка аспарагиновой кислоты в позиции 835 и/или остатка изолейцина в позиции 836 (D835/I836). Возникновение этих мутаций приводит к потере в данном геномном локусе сайта узнавания для рестриктазы *EcoRV* (GATATC), что позволяет различать между собой нормальную и мутантную формы гена *FLT3*.

Определение нуклеотидной последовательности ПЦР-продуктов выполняли методом автоматического секвенирования на приборе Applied Biosystems 3130 согласно протоколу фирмы-производителя BigDye V1.1 («Applied Biosystems»).

Результаты и обсуждение

В ходе исследования были проанализированы кодирующие последовательности 14, 15 и 20-го экзона гена *FLT3*, 8, 9, 10, 11, 17 и 18-го экзона гена *c-KIT*, 12-го экзона гена *NPM1*, в том числе области экзон-интронных соединений, поскольку именно в этих экзонах наиболее часто встречаются мутации при ОМЛ у взрослых (www.ensembl.org).

При молекулярно-генетическом исследовании 14, 15 и 20-го экзона гена *FLT3*, мутации *FLT3/ITD* обнаружены у 18,1% (15 из 83) больных, мутации D385 — у 6,9% (3 из 43). При изучении архивных образцов (высушенные на воздухе мазки костного мозга; $n=41$) выявлено 0% (0 из 41) мутаций, при изучении архивных, замороженных без криопротекторов костного мозга ($n=11$) и венозной крови ($n=3$) — 21,4% (3 из 14), свежеприготовленных образцов костного мозга — 21,7% (15 из 69); данные представлены в табл. 2. Заслуживает внимания тот факт, что у 50% пациентов с мутациями *FLT3* обнаружены другие транслокации и численные аномалии кариотипа. Для анализа мутаций в генах *FLT3*, *c-KIT*, *NPM1* необходимо использовать свежеприготовленные образцы костного мозга или замороженные без криопротекторов образцы костного мозга и венозной крови.

При исследовании 8, 9, 10, 11, 17 и 18-го экзона гена *c-KIT* у 14,2% (2 из 14) больных выявлены следующие мутации: у одного пациента инсерция 6 нуклеотидов в 9-м экзоне, у другого — точечная замена в кодоне 546 гена *c-KIT* — происходит замена аденина на гуанин в положении 1638, что не приводит к замене лизина в 546-м кодоне (p.546 Lys>Lys, c.1638 A>G) в 10-м экзоне. Несмотря на

Таблица 2. Мутации гена *FLT3* в исследуемой группе пациентов

Возраст, годы — диагноз	46XY	Мутации <i>FLT3</i> /ITD	<i>FLT3</i> -D835	Исход
11 — ОМЛ M2	46XY	+	—	Рефрактерный лейкоз, умер
13 — ОМЛ M2	46XY	+	—	Рефрактерный лейкоз, умер
5 — ОМЛ M2	46XY t(15;17)	+	—	Рефрактерный лейкоз, умер
15 — ОМЛ M3	46XY	+	—	Умер от развития инфекционных осложнений
6 — ОМЛ M2	46XY	+	—	Рецидив, умер
15 — ОМЛ M5	46XX	+	—	Рецидив
9 — ОМЛ M4	46XY	—	D835-Y835	Рефрактерный лейкоз, умер
15 — ОМЛ M2	46XY t(6;14)	+	—	Рефрактерный лейкоз, умер
14 — ОМЛ M1	46 XY t(9;11)	+	—	Рецидив
1 — ОМЛ M5	46 XY t(4;10)	—	D835-H835	Рецидив
15 — ОМЛ M1	47XX,+8	+	—	Рецидив
9 — ОМЛ M1	45,XY t(8;21)	+	—	Рецидив
11 — ОМЛ M2	46 XX	+	—	Ремиссия
17 — ОМЛ M2	47XX,+8	—	D835-Y835	Ремиссия
15 — ОМЛ M4	Данных нет	+	—	Умер от развития инфекционных осложнений
11 — ОМЛ M2	46 XY	+	—	Рецидив
4* — ОМЛ M1	46 XY t(9;11)	+	—	Рецидив
4 — ОМЛ M1	46XY	+	—	Рецидив

*Возраст — 4 мес.

то что в контрольной группе точечной замены в кодоне 546 не обнаружено, мы более склонны считать ее полиморфизмом, тем более что в данном случае не происходит замены аминокислоты. У пациентов с t(8;21) мутации гена *c-KIT* имели место в 10% (1 из 10) случаев. Данные исследования, описание пациентов, найденные мутации, их местоположение, а также исход заболевания представлены в табл. 3.

При молекулярно-генетическом исследовании 12-го экзона гена *NPM1* у 68,4% (13 из 19) детей выявлена делеция одного нуклеотида. По нашему мнению, это полиморфизм, так как делеция зафиксирована в контрольной группе в 68,72% случаев. Результаты исследования, данные пациентов, найденные мутации, их местоположение, а также исход заболевания отражены в табл. 4. Из табл. 4 видно, что 61,5% (8 из 13) больных достигли клинико-гематологической ремиссии, у 23,3% (3 из 13)

развился рефрактерный лейкоз с летальным исходом, у 7,6% (1 из 13) — рецидив, в 7,6% (1 из 13) случаев данные отсутствуют.

Нами также проведено молекулярно-генетическое исследование контрольной группы 32 здоровых доноров-добровольцев. в ходе которого выявлен аллельный полиморфизм гена *c-KIT* у 6% (2 из 32) человек в 10-м экзоне (замена аденина на цитозин в положении 1521 приводит к замене метионина на лейцин в кодоне 541 и 12-м экзоне гена *NPM1* в 68,72% (22 из 32) случаев (делеция одного нуклеотида). Мы предполагаем, что это аллельный полиморфизм, а не соматическая мутация, произошедшая в опухолевом клоне.

На основании данного исследования можно сделать выводы о том, что проведение скрининга на наличие мутаций в гене *FLT3* при ОМЛ у детей оправдано с учетом их крайне неблагоприятного прогностического значения, а также наличия пре-

Таблица 3. Выявленные мутации гена *c-KIT* в исследуемой группе пациентов

Возраст — диагноз	Цитогенетика	Мутация	Исход
5 лет — ОМЛ M2	t(8;21)AML/ETO	<i>c-KIT</i> , 9-й экзон, инсерция 6 нуклеотидов	Рецидив, умер
1 мес — ОМЛ M5a	Данных нет	<i>c-KIT</i> , 10-й экзон, замена p.546 Lys>Lys (c.1638 A>G)	Данных нет

Таблица 4. Мутации гена *NPM1* в исследуемой группе пациентов

Возраст, годы — диагноз	Цитогенетика	Полиморфизм <i>NPM1</i>	Исход
11 — ОМЛ М2	Нормальный кариотип	FLT3/ITD полиморфизм <i>NPM1</i>	Смерть от прогрессии заболевания
1 — ОМЛ М2	Нормальный кариотип	+	Клинико-гематологическая ремиссия
3 — ОМЛ М4	t(8;21) AML/ETO	+	Смерть от прогрессии заболевания
1* — ОМЛ М5a	Данных нет	+	Данных нет
8 — ОМЛ М5a	Нормальный кариотип	+	Клинико-гематологическая ремиссия
9 — ОМЛ М3	t(15;17) PML/RARA	+	Клинико-гематологическая ремиссия
14 — ОМЛ М6	Нормальный кариотип	+	Смерть от прогрессии заболевания
6 — ОМЛ М3	t(15;17) PML/RARA	+	Клинико-гематологическая ремиссия
7 — ОМЛ М2	Нормальный кариотип	+	Клинико-гематологическая ремиссия
14 — ОМЛ М5b	Нормальный кариотип	+	Клинико-гематологическая ремиссия
14 — ОМЛ М5a	Inv.16 CBFB/MYH11	+	Клинико-гематологическая ремиссия
10 — ОМЛ М3	t(15;17) PML/RARA	+	Клинико-гематологическая ремиссия
6 — ОМЛ М4	t(8;21) AML/ETO	+	Прогрессия заболевания, жив

*Возраст — 1 мес.

паратов, ингибирующих функцию FLT3-тирозинкиназы (сорафениб), которые могут быть использованы в составе комбинированной терапии. В отношении значения мутаций в гене *c-KIT* выводы

делать не представляется возможным в связи с небольшим числом пациентов. Тем не менее данные, полученные у взрослых пациентов, свидетельствуют о необходимости продолжения исследований.

Л и т е р а т у р а

- Dohner H. Implication of the molecular characterization of acute myeloid leukemia. *Hematology* 2007;1:412—9.
- Kelly L., Gilliland D. Genetics of myeloid leukemias. *Ann Rev Genom Hum Genet* 2002;3:179—98.
- Radtke I., Mullighan C., Ishii M. et al. Genomic analysis reveals few genetic alterations in pediatric acute myeloid leukemia. *PNAS* 2009;106:12944—9.
- Ley T., Mardis E., Ding L. et al. DNA sequencing of a cytogenetically normal acute myeloid leukaemia genome. *Nature* 2008;456:66—72.
- Dohner K., Dohner H. Molecular characterization of acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2008;93:976—82.
- Radich J. Molecular classification of acute myeloid leukemia: are we there yet? *J Clin Oncology* 2008;26:4539—41.
- Grisendi S., Pandolfi P. NPM mutations in acute myelogenous leukemia. *New Engl J Med* 2005;352(3):291—2.
- Wertheim G., Bagg A. Nucleophosmin (NPM1) mutations in acute myeloid leukemia: An ongoing (cytoplasmic) tale of dueling mutations and duality of molecular genetic testing methodologies. *J Mol Diagnost* 2008;10(3):198—202.
- Бавыкин А., Волкова М. FLT3-тирозинкиназа при острых нелимфобластных лейкозах. *Онкогематология* 2006;(1—2):15—24.
- Lennartsson J., Jelacic T., Linnekin D. et al. Normal and oncogenic forms of the receptor tyrosine kinase Kit. *Stem Cells* 2005;23:16—43.
- Gombart A., Hofmann W., Kawano S. et al. Mutations in the gene encoding the transcription factor CCAAT/enhancer binding protein alpha in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemias. *Blood* 2002;99:1332—40.
- Leroy H., Roumier C., Huyghe P. et al. CEBPA point mutations in hematological malignancies. *Leukemia* 2005;19(3):329—34.
- Liu P., Tarle S., Hajra A. et al. Fusion between transcription factor CBF beta/PEBP2b and a myosin heavy chain in acute myeloid leukemia. *Science* 1993;261:1041—4.
- Baldus C., Mrozek K., Marcucci G. et al. Clinical outcome of de novo acute myeloid leukaemia patients with normal cytogenetics is affected by molecular genetic alterations: a concise review. *Br J Haematol* 2007;137:387—400.
- Lowenberg B. Acute myeloid leukemia: the challenge of capturing disease variety. *Hematology* 2008;1:1—11.
- Shipley J., Butera J. Acute myelogenous leukemia. *Experimental Hematology* 2009;37:649—58.
- Kaspers C., Zwaan C. Pediatric acute myeloid leukemia: towards high-quality cure of all patients. *Haematologica* 2007;92:1519—32.
- Meshinchi S., Stirewalt D., Alonzo T. et al. Structural and numerical variation of FLT3/ITD in pediatric AML. *Blood* 2009;111:4930—3.
- Meshinchi S., Arcenci R. Prognostic factors and risk-based therapy in pediatric acute myeloid leukemia. *Oncologist* 2007;12:341—55.
- Krstovski N., Tosic N., Janic D. et al. Incidence of FLT3 and nucleophosmin gene mutations in childhood acute myeloid leukemia: Serbian experience and the review of the literature. *Med Oncol* 2009;<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>
- Greaves M. Pre-natal origins of childhood leukemia. *Rev Clin Exp Hematol* 2003;7:233—45.
- Wiemels J. Chromosomal translocations in childhood leukemia: natural history, mechanisms and epidemiology. *JNCI Monographs* 2008;39:87—90.
- Маниатис Т., Фрис Э., Сэмбрук Д. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984. с. 265—6.
- Mills K., Gilkers A., Walsh V. Rapid and sensitive detection of internal tandem duplication and activating loop mutations of FLT3. *Br J Haematol* 2005;130:203—8.