

DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-2-14-25>

Определение значения иммунофенотипических, цитогенетических и молекулярных маркеров у взрослых больных Т-клеточными лимфобластными лейкозами

А.Н. Васильева, О.А. Алешина, Е.С. Котова, Б.В. Бидерман, Т.Н. Обухова, И.В. Гальцева, В.Н. Двирнык, Е.И. Захарько, А.Б. Судариков, Е.Н. Паровичникова

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

Контакты: Анастасия Николаевна Васильева vasilnastia@yandex.ru

Введение. Современные протоколы программной комбинированной химиотерапии Т-клеточных острых лимфобластных лейкозов (Т-ОЛЛ) позволяют достичь 5-летней общей выживаемости 60–90 %, однако рецидивы и рефрактерные формы Т-ОЛЛ остаются некурабельными ситуациями.

Цель исследования – определить прогностическое значение иммунофенотипических и молекулярных маркеров у взрослых больных Т-ОЛЛ, получающих терапию по протоколу ОЛЛ-2016.

Материалы и методы. С декабря 2016 г. по июнь 2022 г. в исследование были включены 113 пациентов с впервые установленным диагнозом Т-ОЛЛ. У 104 (92 %) больных выполнено цитогенетическое исследование, у 43 (38 %) больных исследованы аномалии в генах *IKZF1* и *NOTCH1* методом фрагментного анализа.

Результаты. Самый неблагоприятный прогноз Т-ОЛЛ был у больных с вариантами ЕТР (Т-ОЛЛ из ранних Т-клеточных предшественников) и near-ЕТР: 3-летняя безрецидивная выживаемость в группе ЕТР составила 54 %, near-ЕТР – 33 % против 79 % у больных с вариантом ТI/II, 89 % – с ТIII, 75 % – с ТIV. При ранних вариантах Т-ОЛЛ наиболее часто встречается аномальный кариотип: ЕТР – 80,7 %, near-ЕТР – 60 %. В гене *NOTCH1* встречались изменения в 53 % случаев (у 23 из 43 больных), в гене *IKZF1* в нашем исследовании при Т-ОЛЛ мутации не обнаружены. В группе с отсутствием аномалий *NOTCH1* общая выживаемость была статистически значимо ниже, чем в группе с аномалиями: 52 % против 81 % ($p = 0,05$).

Заключение. Варианты Т-ОЛЛ ЕТР и near-ЕТР, отсутствие мутаций в гене *NOTCH1* являются неблагоприятными факторами прогноза для больных Т-ОЛЛ.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, минимальная остаточная болезнь, цитогенетические аномалии, молекулярно-генетический профиль, *NOTCH1*

Для цитирования: Васильева А.Н., Алешина О.А., Котова Е.С. и др. Определение значения иммунофенотипических, цитогенетических и молекулярных маркеров у взрослых больных Т-клеточными лимфобластными лейкозами. Онкогематология 2024;19(2):14–25. DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-2-14-25>

Significance of immunophenotypic, cytogenetic, and molecular markers in adult patients with T-cell lymphoblastic leukemia

A.N. Vasileva, O.A. Aleshina, E.S. Kotova, B.V. Biderman, T.N. Obukhova, I.V. Galtseva, V.N. Dvirnyk, E.I. Zakharko, A.B. Sudarikov, E.N. Parovichnikova

National Medical Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyy Zыkovskiy Proezd, Moscow 125167, Russia

Contacts: Anastasia Nikolaevna Vasileva vasilnastia@yandex.ru

Background. Current chemotherapy protocols for T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) allow achieving a 5-year overall survival of 60–90 %, but relapsed and refractory forms remain incurable situations.

Aim. To determine the significance of immunophenotypic, cytogenetic and molecular markers in adult T-ALL patients receiving therapy according to the ALL-2016 protocol.

Materials and methods. From December 2016 to June 2022, 113 patients with primary T-ALL were included in the study. Cytogenetic study was performed in 104 (92 %) patients; anomalies in the *IKZF1* and *NOTCH1* genes were investigated in 43 (38 %) patients.

Results. The worst prognosis was in patients with ETP and near-ETP variants of T-ALL (3-year disease-free survival was 54 % in ETP group, 33 % in near-ETP group vs T1/II – 79 %, TIII – 89 %, TIV – 75 %). In early T-ALL variants, abnormal karyotype was most common (ETP – 80.7 %, near-ETP – 60 %). Aberrations in *NOTCH1* gene were found in 53 % of cases (in 23 out of 43 patients), and no mutations were found in *IKZF1* gene in our study. In the group with no *NOTCH1* abnormalities, the overall survival was significantly worse than in the group with abnormalities (*NOTCH1* – 52 % vs *NOTCH1*+ – 81 %; $p = 0.05$).

Keywords: acute lymphoblastic leukemia, minimal residual disease, cytogenetic anomalies, molecular profile, *NOTCH1*

For citation: Vasileva A.N., Aleshina O.A., Kotova E.S. et al. Significance of immunophenotypic, cytogenetic, and molecular markers in adult patients with T-cell lymphoblastic leukemia. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2024;19(2): 14–25. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-2-14-25>

Введение

Т-клеточный острый лимфобластный лейкоз (Т-ОЛЛ) – клональное заболевание, характеризующееся инфильтрацией костного мозга и/или других органов и тканей бластными Т-клетками с aberrантным иммунофенотипом. На долю Т-ОЛЛ приходится от 10 до 15 % случаев острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) у детей и 25 % случаев ОЛЛ у взрослых. Т-ОЛЛ чаще, чем В-клеточные варианты ОЛЛ (В-ОЛЛ), протекают с гиперлейкоцитозом, специфическим поражением средостения, в том числе с формированием специфических плевритов, а также с частым специфическим поражением центральной нервной системы.

Выживаемость больных Т-ОЛЛ была ниже, чем у больных В-ОЛЛ, до включения в схемы терапии метотрексата в высоких дозах и интратекального введения 3 цитостатических препаратов. Интенсификация терапии улучшила результаты лечения больных Т-ОЛЛ, и в настоящее время 5-летняя безрецидивная выживаемость (БРВ) составляет 82,7 % у детей и более 50 % у взрослых [1–3]. Тем не менее результаты лечения больных Т-ОЛЛ с первично-рефрактерными формами и при рецидивирующем течении остаются крайне драматичными, что подчеркивает необходимость разработки более специфичных и высокоэффективных подходов, основанных на ключевых биологических и молекулярных механизмах патогенеза.

Современные исследования направлены на поиск факторов риска, которые помогут выделить группу больных Т-ОЛЛ, нуждающихся в интенсификации терапии и/или выполнении аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). К таким факторам в настоящее время относят ранние и зрелые иммунофенотипические варианты Т-ОЛЛ, цитогенетические и молекулярные маркеры неблагоприятного прогноза (мутации в генах сигнального пути *Ras/Raf/MAPK*), а также скорость ответа на химиотерапию, которую оценивают путем определения минимальной остаточной болезни (МОБ) после окончания индукции [1–5].

Иммунофенотипические особенности опухолевых клеток при Т-клеточном остром лимфобластном лейкозе как фактор неблагоприятного прогноза

Впервые ОЛЛ из ранних Т-клеточных предшественников (ETP) был выделен в классификации Все-

мирной организации здравоохранения 2017 г. [1]. Субстратом этого варианта ОЛЛ являются Т-клетки на самой ранней стадии дифференцировки, которые по своему профилю экспрессии генов схожи с гемопоэтическими стволовыми клетками и миелоидными предшественниками. Диагностика ОЛЛ варианта ETP базируется на иммунофенотипировании бластных клеток. Для него иммунофенотип лейкозных клеток характеризуется следующими ключевыми особенностями: отсутствие экспрессии CD1a, CD8, наличие экспрессии *cytC3*, CD7, экспрессия CD5 в менее 75 % клеток, а также экспрессия одного и более маркеров стволовых клеток (CD34, CD117, HLA-DR) или миелоидных маркеров (CD13, CD33, CD11b, CD65) [1]. Вариант ETP встречается у 11–12 % детей с Т-ОЛЛ/лимфобластными лимфомами (ЛБЛ) и у 7,4 % взрослых с Т-ОЛЛ/ЛБЛ [2]. Важно отметить, что именно этот вариант Т-ОЛЛ характеризуется высокой вероятностью развития рецидива [6]. Позже был выделен еще один вариант Т-ОЛЛ, который, как и ETP, характеризуется высоким риском развития рецидива и высокой частотой первично-рефрактерных форм, названный near-ETP. Иммунофенотипически near-ETP отличается от ETP интенсивностью экспрессии CD5: в случае экспрессии CD5 на 75 % и более клеток и наличия остальных признаков ETP вариант относят к near-ETP [4].

По данным одного из крупных американских исследований, 5-летняя БРВ в группах ETP и near-ETP составила 24 и 44 % соответственно, в то время как у больных с иммуновариантом non-ETP – 60 % ($p < 0,001$). При анализе общей выживаемости (ОВ) были получены статистически значимые различия, которые подтвердили, что группа ETP является наиболее неблагоприятной по сравнению с другими вариантами Т-ОЛЛ: ОВ у больных с ETP составила 32 % против 56 % у больных с near-ETP и 60 % с non-ETP ($p < 0,001$). В исследовании К. Morita и соавт. показано, что применение алло-ТГСК в 1-й ремиссии не позволяет улучшить результаты терапии в группах near-ETP и non-ETP: 5-летняя ОВ в группе пациентов с near-ETP, которым была выполнена алло-ТГСК, составила 60 % (95 % доверительный интервал (ДИ) 13–88) против 55 % в группе без алло-ТГСК (95 % ДИ 30–75; $p = 0,791$). Такие же результаты были получены в группе non-ETP: 5-летняя выживаемость в группе пациентов, которым была выполнена алло-ТГСК, составила 67 % (95 % ДИ

20–90) против 65 % в группе без алло-ТГСК (95 % ДИ 55–73; $p = 0,894$) [4]. Таким образом, по данным одного из крупнейших на сегодняшний день исследований, в котором больные Т-ОЛЛ/ЛБЛ были стратифицированы согласно иммуноварианту, было показано, что вариант near-ETP относится к более благоприятному прогнозу по сравнению с ETP, в связи с чем вопрос применения алло-ТГСК у таких больных в 1-й ремиссии остается открытым.

Цитогенетические особенности опухолевых клеток при Т-клеточном остром лимфобластном лейкозе, определяющие неблагоприятный прогноз

Потенциальная прогностическая ценность стандартного кариотипирования при Т-ОЛЛ у взрослых изучается различными исследовательскими группами. Значимость цитогенетических перестроек в опухолевых клетках оценивалась в большой когорте взрослых больных Т-ОЛЛ в исследовании испанской группы РЕТНЕМА. В этом исследовании было показано, что комплексные изменения кариотипа (КК) являются независимым прогностическим маркером неблагоприятного исхода. В частности, наличие 3 и более цитогенетических аномалий, что определяет КК, было наиболее значимым неблагоприятным прогностическим фактором для ОВ, БРВ, а также для вероятности развития рецидива при Т-ОЛЛ. При этом кариотипы с 3 и более аномалиями составляли 16 % всех исследованных кариотипов [5].

У больных с КК была определена значительно более высокая частота рефрактерных форм, что коррелировало с худшими показателями ОВ, а также с низкой частотой достижения МОБ-отрицательного статуса после индукционной терапии [5].

В этом же исследовании был проведен геномный анализ методом секвенирования нового поколения, который выявил наличие уникальных мутационных профилей у больных с КК по сравнению с другими больными Т-ОЛЛ. У больных с наличием КК наиболее часто встречались мутации в генах *KMT2C*, *GATA3* и *IL7R* и отсутствовали мутации генов сигнального пути JAK1/3/АКТ1 и генов, участвующих в метилировании ДНК, таких как *DNMT3A* и *TET2* [5].

Идентичные данные были продемонстрированы исследователями из Онкологического центра им. М.Д. Андерсона (MD Anderson Cancer Center, США): больные Т-ОЛЛ с 3 и более цитогенетическими аномалиями имели худшие долгосрочные результаты терапии по сравнению с больными с отсутствием выявленных изменений [7].

Исследователями из Великобритании в качестве фактора риска было выделено наличие 5 и более цитогенетических аномалий при Т-ОЛЛ. Проанализированы данные 356 больных Т-ОЛЛ, получавших лечение по протоколу UKALL XII/E2993: аномальный кариотип был выявлен у 72 % больных, нормальный карио-

тип — у 28 %. У 8 % больных с 5 и более цитогенетическими аномалиями были получены значительно худшие результаты — 5-летняя ОВ составила 19 % против 51 % в группе других выявленных аномалий ($p = 0,006$) [8].

Молекулярно-генетические особенности у больных Т-клеточным острым лимфобластным лейкозом, определяющие прогноз заболевания

Сигнальный путь NOTCH1 является одним из ключевых в патогенезе Т-ОЛЛ. Ген *NOTCH1* играет центральную роль в функционировании как нормальных, так и трансформированных Т-клеток [9]. По крайней мере у 60 % взрослых больных Т-ОЛЛ определяются мутации в сигнальном пути в генах *NOTCH1/FBXW7* на момент установления диагноза [10]. Данные большинства исследований, в которых изучалось прогностическое значение мутаций этих генов, показали, что они ассоциированы с благоприятным прогнозом при оценке долгосрочных результатов терапии [11–18].

Исследователями из Китая также были проанализированы мутации генов *NOTCH1* и *FBXW7* и их клиническое значение для прогноза у больных Т-ОЛЛ [19]. У 34 (55,7 %) из 61 больного были выявлены мутации в гене *NOTCH1*, в том числе у 22 (64,7 %) с мутациями в гетеродимерном домене (HD), структуре пролин/глутаминовая кислота/серин/треонин (PEST). Было выявлено 7 (20,6 %) случаев с мутациями домена PEST и 5 (14,7 %) случаев с мутациями как в HD, так и в PEST. Мутация гена *FBXW7* была обнаружена у 9 (14,8 %) из 61 больного, среди них у 5 больных выявлены мутации как *NOTCH1*, так и *FBXW7*. У 23 (37,7 %) из 61 больного не диагностировано аномалий, затрагивающих сигнальный путь NOTCH1/FBXW7. В данном исследовании оценивался временной промежуток выживаемости в группах с мутациями *NOTCH1/FBXW7* или с их отсутствием. Медиана бессобытийной выживаемости и ОВ в группе взрослых с мутациями генов *NOTCH1/FBXW7* составила 28 мес (95 % ДИ 7,3–48,7) и 30 мес (95 % ДИ 8,9–51,1), в группе больных без аномалий в *NOTCH1/FBXW7* — 4,5 мес (95 % ДИ 0–11) и 9 мес (95 % ДИ 0–19,1) соответственно ($p = 0,008$; 0,014). В детской популяции статистических различий в бессобытийной выживаемости и ОВ в зависимости от наличия мутаций в *NOTCH1/FBXW7* получено не было [19].

Другой важный в патогенезе механизм, который вовлечен при Т-ОЛЛ, — нарушение функции фактора транскрипции Ikaros. Ikaros (кодируется геном *IKZF1* на хромосоме 7p12.2) является членом семейства ДНК-связывающих белков-цинковых пальцев и выступает в качестве критического регулятора кроветворения и дифференцировки лимфоидных клеток [20]. Нарушение функции Ikaros, возникающее в результате внутригенных делеций и точечных мутаций, приводит к блоку дифференцировки лимфоидных клеток и является основой патогенеза ОЛЛ [21].

Многими исследователями было показано, что именно внутригенные делеции приводят к увеличению доминантно-негативных изоформ Ikaros и это играет ключевую роль в лейкемогенезе ОЛЛ [22, 23]. Аберрации в *IKZF1* встречаются в 15 % случаев В-ОЛЛ у детей и в 40 % случаев В-ОЛЛ у взрослых, причем наиболее часто ассоциированы с плохим прогнозом. Известно, что делеции *IKZF1* встречаются в 70 % случаев Ph+ ОЛЛ и в 40 % случаев Ph-like ОЛЛ [24, 25].

В. Kobitzsch и соавт. продемонстрировали результаты терапии В-ОЛЛ с доминантно-негативными изоформами ($\Delta 4-7$, $\Delta 5-7$) и с изоформами, ведущими к утрате функции гена *IKZF1* ($\Delta 2$, $\Delta 2-3$, $\Delta 2-7$, $\Delta 2-8$, $\Delta 4-8$). Статистически значимо низкие показатели ОВ наблюдались только у больных с мутациями, которые обуславливали полную утрату функции гена ($0,28 \pm 0,06$; $p = 0,0002$). При этом доминантно-негативные изоформы независимо от степени мутационной нагрузки значения не имели ($0,54 \pm 0,06$; $p = 0,95$) [26]. Напротив, при Т-ОЛЛ/ЛБЛ как частота, так и прогностическое влияние изменений *IKZF1* плохо охарактеризованы. Мутации гена *IKZF1* относительно редко встречаются при Т-ОЛЛ и не превышают 5 % случаев [27]. По данным международных исследований, экспрессия матричной РНК Ikaros значительно снижена в когорте больных Т-ОЛЛ с мутациями в *NOTCH1/FBXW7*, при ингибировании же аберрантной передачи сигнала NOTCH отмечается восстановление эндогенной экспрессии Ikaros [28]. Исследователями из Китая и США была изучена роль Ikaros-опосредованного лейкемогенеза [29, 30]. Ikaros, по-видимому, действует как ингибитор и активатор транскрипции, взаимодействуя с различными ядерными факторами, связанными с эпигенетической регуляцией, или напрямую воздействуя на гены. Наибольшая роль Ikaros была отмечена в эпигенетическом регулировании — образовании комплексов с гистондеацетилазами и формировании гетерохроматина. Комплекс Ikaros—HDAC1 подавляет транскрипцию своих генов-мишеней, что, в свою очередь, определяет ход клеточного цикла, выживаемость клеток и обуславливает устойчивость к лекарственным препаратам. Ikaros ингибирует Notch-индуцированную транскрипцию за счет противодействия эффекта Notch на активацию CSL (CBF-1/SuH/Lag-1) посредством конкуренции с сайтом связывания ДНК CSL в области промотора и, таким образом, угнетает экспрессию генов. Вследствие этого делеции и мутации в гене *IKZF1* приводят к блоку дифференцировки клеток [29, 30].

Значение персистенции минимальной остаточной болезни при Т-клеточном остром лимфобластном лейкозе как фактора неблагоприятного прогноза

Персистенция МОБ после окончания индукции, а также на последующих этапах терапии — важный

независимый прогностический фактор риска развития рецидива при ОЛЛ [31, 32]. Китайской группой исследователей было показано, что персистенция МОБ (МОБ+) перед алло-ТГСК у больных Т-ОЛЛ также являлась статистически значимым прогностическим фактором риска развития рецидива после алло-ТГСК [33]. В этой работе редукция МОБ (МОБ–) перед алло-ТГСК была достигнута у 69 (60,5 %) из 114 протестированных больных (95 % ДИ МОБ– у 69 (60,5 %), МОБ+ у 45 (39,5 %)). МОБ оценивалась методом многоцветной проточной цитофлуориметрии. Значения МОБ составляли от 0,01 до 13,3 % в когорте МОБ+. У 8 больных значение МОБ составляло 0,01–0,1 %, у 25 — 0,1–1 % и у 12 больных определялась МОБ более 1 %. Трехлетняя ОВ составила 30,3 % в группе МОБ+ и 73,8 % в группе МОБ– ($p < 0,001$), 3-летняя БРВ в этих группах существенно различалась: 31,2 % в группе МОБ+ и 70,7 % в группе МОБ– ($p < 0,001$). У больных с персистенцией МОБ перед алло-ТГСК частота развития рецидива была значительно выше, чем у больных, у которых МОБ не выявлялась: 56,7 % в группе МОБ+ и 22,6 % в группе МОБ– ($p < 0,001$) [33].

Другой китайской группой исследователей были показаны аналогичные результаты [34]. В данном исследовании у больных с персистенцией МОБ перед алло-ТГСК также была отмечена более высокая вероятность развития рецидива, чем у больных, у которых МОБ не определялась: 2-летняя вероятность развития рецидива 87,6 % в группе МОБ+ и 38,8 % в группе МОБ– ($p = 0,0020$). У этих больных также наблюдалась меньшая 2-летняя БРВ по сравнению с теми, у кого была достигнута МОБ-отрицательная ремиссия перед алло-ТГСК: 5,4 % в группе МОБ+ и 61,0 % в группе МОБ– ($p = 0,0005$). Ожидаемо статистически значимо хуже были и показатели ОВ больных с персистенцией МОБ по сравнению с больными с МОБ-отрицательным статусом перед алло-ТГСК: 32,7 % в группе МОБ+ и 69,7 % в группе МОБ– ($p < 0,0001$) [34].

Российской исследовательской группой было продемонстрировано, что персистенция МОБ на 70-й день терапии (т.е. после окончания индукции) по протоколу ОЛЛ-2016 определяла статистически значимо худшие показатели ОВ и БРВ [35]. Также статус заболевания на момент трансплантации и наличие МОБ перед алло-ТГСК явились независимыми факторами, ассоциируемыми с вероятностью развития рецидива (статус заболевания: относительный риск (ОР) 2,911; 95 % ДИ 1,328–6,379; МОБ перед алло-ТГСК: ОР 7,667; 95 % ДИ 3,606–16,304) и с посттрансплантационной летальностью (статус заболевания: ОР 2,911; 95 % ДИ 1,328–6,379; МОБ перед алло-ТГСК: ОР 7,667; 95 % ДИ 3,606–16,304) [36].

Цель исследования — определение прогностической ценности выделения иммунофенотипических вариантов Т-ОЛЛ (near-ETP, ETP и non-ETP), значения мутационного статуса генов *IKZF1* и *NOTCH1* во всех группах больных Т-ОЛЛ.

Материалы и методы

С декабря 2016 г. по май 2023 г. в исследование были включены 113 пациентов (83 (73,5 %) мужчины, 30 (26,5 %) женщин) с впервые установленным диагнозом Т-ОЛЛ/ЛБЛ (рис. 1). Основные характеристики больных представлены в табл. 1.

По вариантам Т-ОЛЛ больных распределяли согласно классификации EGIL (European Group of Immunological Markers for Leukemias, Европейская группа по иммунологической характеристике лейкозов) [37]. Всем больным проводили терапию по протоколу ОЛЛ-2016 (ClinicalTrials.gov ID NCT03462095). В дебюте заболевания всем больным выполняли

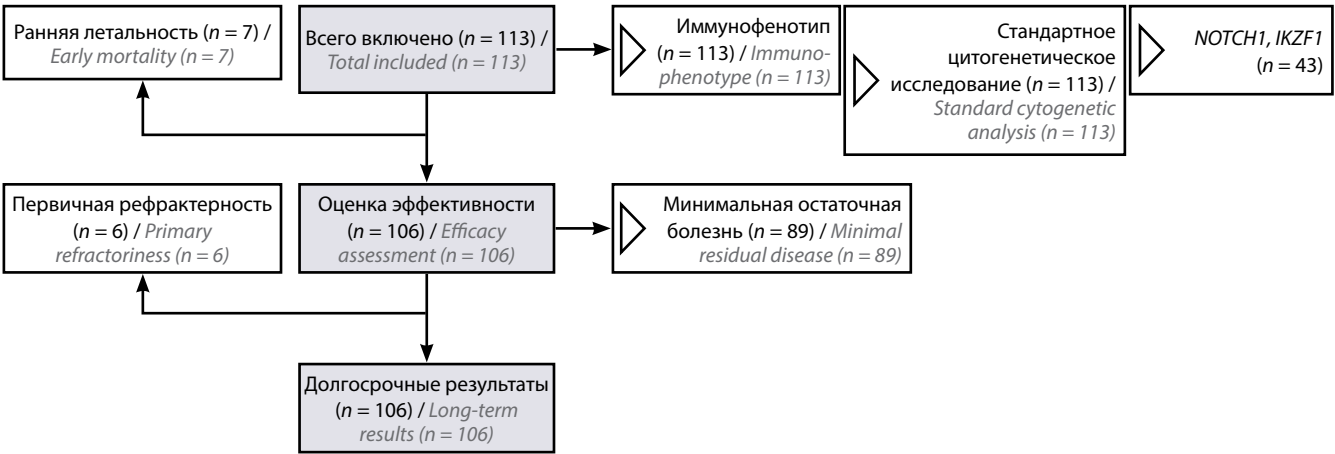


Рис. 1. Схема распределения выполненных исследований в рамках анализа
Fig. 1. Distribution scheme of studies performed within the analysis

Таблица 1. Основные характеристики больных в зависимости от иммунофенотипа
Table 1. Main characteristics of patients depending on immunophenotype

Показатель Parameter	ETP (n = 26)	Near-ETP (n = 10)	TI/II (n = 24)	ТIII (n = 48)	TIV (n = 5)
Медиана возраста, лет Median age, years	31	36	30,5	30,5	35
Лимфобластная лимфома, n (%) Lymphoblastic lymphoma, n (%)	2 (7,6)	0	5 (20,8)	7 (14,5)	1 (20)
Медиана уровня гемоглобина, г/л Median hemoglobin level, g/L	102	103	108	106	113
Медиана количества лейкоцитов, × 10 ⁹ /л Median leukocytes count, × 10 ⁹ /L	22,4	9,5	48	48,7	19
Образование средостения, n (%) Mediastinal involvement, n (%)	15 (46)	4 (40)	20 (83)	36 (76)	4 (80)
Медиана количества тромбоцитов, × 10 ⁹ /л Median platelet count, × 10 ⁹ /L	86	132	43,5	53	141
Поражение центральной нервной системы, n (%) Central nervous system involvement, n (%)	7 (27)	2 (20)	3 (12,5)	13 (28)	0
Медиана активности лактатдегидрогеназы, ЕД/л Median lactate dehydrogenase level, U/L	608	457,5	875	1468	897
Аномальный кариотип, n/N (%) Abnormal karyotype, n/N (%)	21/26 (80,7)	6/10 (60)	9/20 (45)	23/44 (52)	1/4 (25)
Комплексный кариотип, n/N (%) Complex karyotype, n/N (%)	11/21 (52)	4/6 (66,6)	5/9 (55)	3/23 (13)	0/1 (0)

Примечание. Здесь и в табл. 2: ETP – вариант из ранних Т-клеточных предшественников.
Note. Here and in the table 2: ETP – variant from early T cell progenitors.

цитологическое и цитохимическое исследование мазков костного мозга, иммунофенотипическое исследование бластных клеток костного мозга методом проточной цитофлуориметрии, стандартное цитогенетическое исследование клеток костного мозга и исследование методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (с использованием зондов на *TP53* (17p13) и *MLL* (11q23)). Согласно протоколу всем больным выполняли исследование МОБ методом проточной цитофлуориметрии на контрольных точках в 70, 133, 190-й дни. Определение МОБ осуществляли методом «пустых мест» и с помощью лейкозассоциированного иммунофенотипа, выявленного в дебюте заболевания. Диагностические панели включали CD45, CD99, CD34, CD2, CD3 (поверхностная и цитоплазматическая), CD4, CD5, CD7, CD8, CD117, CD38, HLA-DR, CD33, CD13, CD11b. У 17 (15 %) больных МОБ на 70-й день не исследовалась в связи с отсутствием материала.

В рамках данного исследования молекулярно-генетический анализ генов *IKZF1* и *NOTCH1* был выполнен у 43 (38 %) больных. Выделение геномной ДНК из ядерных клеток аспирата костного мозга больных проводили с использованием модифицированного метода солевой экстракции [38].

Анализ внутригенных делеций гена *IKZF1* проводили с помощью мультиплексной флуоресцентной полимеразной цепной реакции (ПЦР), специфичной к «горячим» точкам внутригенных делеций, наиболее распространенных у взрослых больных, — Δ2–7, Δ2–8, Δ4–7, Δ4–8, предложенной А. Сауе и соавт. [39]. Этот метод основан на том, что праймеры, специфичные к точкам разрыва, находятся друг от друга на расстоянии более 10 тыс. пар оснований и при отсутствии делеций амплификации не происходит. При этом в случае делеции расстояние между праймерами сокращается до 100–600 пар оснований, что приводит к амплификации целевого продукта. Эта система позволяет определить каждый тип делеций по длине фрагмента и флуоресцентной маркировке [39]. ПЦР проводили на автоматическом термоциклере C1000 Thermal Cycler (BioRad, США). Программа амплификации включала предварительную денатурацию при температуре 95 °C (4 мин), 30 циклов ПЦР: 95 °C (30 с), 60 °C (30 с), 72 °C (1 мин) и окончательную элонгацию при температуре 72 °C (4 мин). Для фрагментного анализа полученных ПЦР-продуктов использовали автоматический анализатор нуклеиновых кислот Нанофор-05 (Институт автоматизации проектирования РАН, Россия) и программное обеспечение ДНК ФА v. 5.0.0.73 (Институт автоматизации проектирования РАН, Россия).

Исследование мутаций в гене *NOTCH1* проводили с помощью метода, впервые описанного P.V. Sangregher и соавт. при изучении делеций и инсерций в экзоне 34 гена *NOTCH1*, кодирующем домен PEST, у больных хроническим лимфолейкозом [40]. Указанная система содержит 3 праймера: флуоресцентно-

меченный прямой праймер N1F, неспецифический обратный праймер NWR для амплификации целевого фрагмента *NOTCH1* и аллель-специфический обратный праймер NMR для амплификации наиболее распространенной делеции с.7544 7545delCT. В результате амплификации с данной системой в образцах с геном *NOTCH1* «дикого» типа наблюдался только 1 продукт длиной в 391 пару нуклеотидов (п.н.); в образцах, содержащих клетки с делецией с.7544 7545delCT, — 3 продукта длиной 391 п.н. (аллель «дикого» типа), 389 п.н. (амплификация мутантного аллеля с праймерами N1F и NWR) и 356 п.н. (амплификация мутантного аллеля с N1F и NMR); у образцов с другой гетерозиготной инсерцией или делецией в исследуемом регионе получалось 2 продукта: длина одного — 391 п.н. (аллель «дикого» типа), длина другого зависела от размера вставки или делеции. ПЦР проводили на автоматическом термоциклере C1000 Thermal Cycler (BioRad, США). Программа амплификации включала предварительную денатурацию при температуре 95 °C (3 мин), 30 циклов ПЦР: 95 °C (30 с), 60 °C (30 с), 72 °C (30 с) и окончательную элонгацию при температуре 72 °C (5 мин). Для фрагментного анализа полученных ПЦР-продуктов использовали автоматический анализатор нуклеиновых кислот Нанофор-05 (Институт автоматизации проектирования РАН, Россия) с последующей обработкой программным обеспечением ДНК ФА v.5.0.0.73 (Институт автоматизации проектирования РАН, Россия).

Для статистической обработки данных применяли научную и исследовательскую платформу SRplot (<http://www.bioinformatics.com.cn/srplot>).

При изучении клинико-гематологических особенностей у больных Т-ОЛЛ рассматривали такие параметры, как возраст, иммунофенотип, кариотип, исходное количество лейкоцитов в крови и активность лактатдегидрогеназы, уровень гемоглобина и тромбоцитов, вовлечение центральной нервной системы, наличие специфического поражения средостения. Параметрические данные были представлены в виде средних значений или медианы.

Эффективность лечения оценивали по следующим критериям: частота достижения полных ремиссий, ранняя летальность (смерть в период 2 фаз индукции), рефрактерность к терапии (недостижение полной ремиссии после 2 фаз индукции) и смерть в ремиссии. Смерть во время 2-й фазы индукции у больных в состоянии полной ремиссии после 1-й фазы считали смертью в консолидации.

Анализ долгосрочных результатов терапии проводили по методу Каплана–Майера. В анализ вошли такие параметры, как ОВ и БРВ для всех больных в зависимости от иммунофенотипа, в группах с наличием и отсутствием мутаций в гене *NOTCH1*. ОВ рассчитывали от даты 1-го дня терапии до даты смерти от любых причин, БРВ — от момента достижения ремиссии до рецидива или смерти от любых причин.

Точкой цензурирования считали дату последнего контакта с больным. Однофакторный анализ по оценке прогностического значения мутаций гена *NOTCH1* и по определению влияния КК проводили с помощью *log-rank*-критерия. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Нами проведена оценка эффективности индукционной терапии (достижение полной ремиссии по окончании индукционной терапии (70-й день протокола ОЛЛ-2016), достижение редукции МОБ по окончании индукционной терапии, доля первично-рефрактерных форм, ранняя летальность и доля выполнения алло-ТГСК) у больных в зависимости от иммунофенотипа (табл. 2).

Несмотря на высокие показатели достижения полной ремиссии у больных разных иммунофенотипических групп, МОБ-отрицательный статус на 70-й день протокола в группах с ранними иммунофенотипами был достигнут лишь у половины больных: ЕТР – 57 %, near-ЕТР – 50 %. Ожидаемо количество выполненных алло-ТГСК было достоверно больше именно в этих группах.

На рис. 2, 3 представлены ОВ и БРВ больных в зависимости от иммунофенотипа. Показатели 3-летней ОВ и БРВ больных с ЕТР и near-ЕТР были статистически значимо ниже, чем у больных с более зрелыми иммунофенотипами.

Нами был проведен анализ внутригенных делеций гена *IKZF1* и аномалий в гене *NOTCH1* у 43 больных ретроспективной группы, дебютный материал пункта-

та костного мозга которых был сохранен в библиотеке в рамках исследовательского протокола ОЛЛ-2016.

Исследование методом фрагментного анализа было проведено у 43 (38 %) больных Т-ОЛЛ, но ни у одного больного внутригенных делеций к «горячим» точкам – $\Delta 2-7$, $\Delta 2-8$, $\Delta 4-7$, $\Delta 4-8$ – не выявлено.

Мутации в гене *NOTCH1* обнаружены у 23 (53,5 %) из 43 больных. У 19 (83 %) из них выявлены делеции в гене *NOTCH1*, у 4 – инсерции. С учетом небольшой выборки для анализа больные были разделены на 3 группы

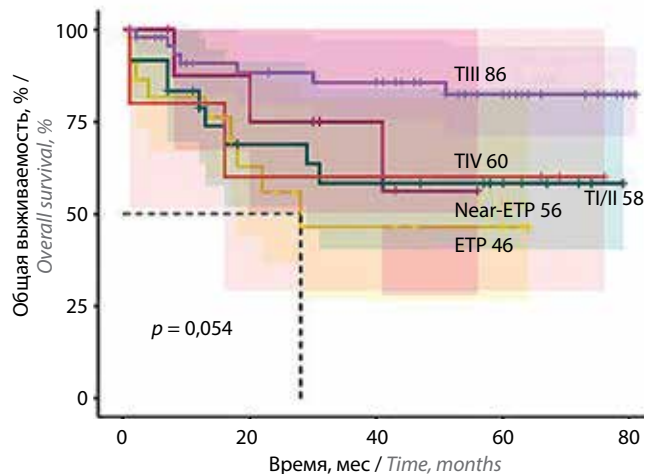


Рис. 2. Общая выживаемость больных Т-клеточным острым лимфобластным лейкозом в зависимости от иммунофенотипа. Здесь и на рис. 3: ЕТР – вариант из ранних Т-клеточных предшественников
Fig. 2. Overall survival of patients with T-cell acute lymphoblastic leukemia depending on immunophenotype. Here and in Fig. 3: ETP – variant from early T-cell progenitors

Таблица 2. Индукционная эффективность в зависимости от иммунофенотипа

Table 2. Induction efficiency depending on immunophenotype

Показатель Parameter	ЕТР (n = 26)	Near-ЕТР (n = 10)	ТI/II (n = 24)	ТIII (n = 48)	ТIV (n = 5)	Всего Total
Полная ремиссия, n/N (%) Complete remission, n/N (%)	22/23 (96)	8/10 (80)	21/22 (95)	46/47 (98)	4/4 (100)	101/106 (95)
МОБ-отрицательная ремиссия на 70-й день протокола, n/N (%) MRD-negative remission on 70 th day of protocol, n/N (%)	12/21 (57)	4/8 (50)	13/17 (76)	32/40 (80)	2/3 (66)	63/89 (70)
Первичная рефрактерность, n/N (%) Primary refractoriness, n/N (%)	1/23 (4)	2/10 (20)	1/22 (4,5)	1/47 (2)	0/4 (0)	5/106 (5)
Ранняя летальность, n/N (%) Early death, n/N (%)	3/26 (13)	0/10 (0)	2/24 (8)	1/48 (2)	1/5 (20)	7/113 (6)
Доля выполнения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, n/N (%) Proportion of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, n/N (%)	13/26 (50)	4/10 (40)	4/24 (16)	3/48 (6,25)	1/5 (20)	25/113 (22)
3-летняя общая выживаемость, % 3-year overall survival, %	46	56	58	86	60	75
3-летняя безрецидивная выживаемость, % 3-year relapse-free survival, %	56	42	79	94	75	84

в зависимости от иммунофенотипа — ETP, near-ETP и non-ETP (объединены больные с вариантами T1/II, TIII и TIV) (табл. 3).

В группе без аномалий в гене *NOTCH1* погибли 9 (45 %) больных: 7 — вследствие резистентного течения или рецидива заболевания, 1 — в связи с инфици-

рованием COVID-19 в рецидиве заболевания со сменой линии дифференцировки на острый мегакариобластный лейкоз, 1 — в ремиссии от инфекционных осложнений после алло-ТГСК. В этой группе 10 больных живы, находятся в состоянии ремиссии, у 1 больного развернутый рецидив заболевания.

В группе с аномалией в гене *NOTCH1* погибли 5 (21 %) больных: 1 — вследствие рецидива после алло-ТГСК со сменой линии дифференцировки на острый эритробластный лейкоз, 3 — от рефрактерного течения рецидива заболевания, 1 — вследствие первично-рефрактерного течения.

На рис. 4, 5 представлены ОВ и БРВ больных в зависимости от детекции аномалий в гене *NOTCH1*. Показатели ОВ и БРВ в группе с аномалиями в гене *NOTCH1* были статистически значимо лучше, чем в группе без аномалий.

Обсуждение

По данным международных исследований, факторами риска Т-ОЛЛ являются поражение центральной нервной системы, иммунофенотип ETP, персистенция МОБ на момент окончания индукционной терапии, а также наличие КК [4–7, 33–36].

Нами были получены статистически значимые различия при оценке 3-летней ОВ и БРВ у больных

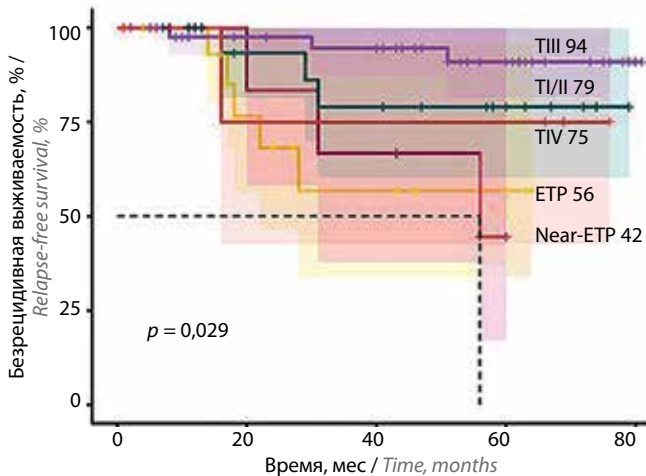


Рис. 3. Безрецидивная выживаемость больных Т-клеточным острым лимфобластным лейкозом в зависимости от иммунофенотипа
Fig. 3. Relapse-free survival of patients with T-cell acute lymphoblastic leukemia depending on immunophenotype

Таблица 3. Индукционная эффективность в зависимости от иммунофенотипа и аномалий гена *NOTCH1*

Table 3. Induction efficiency depending on immunophenotype and *NOTCH1* gene abnormalities

Показатель Parameter	ETP (n = 12)		Near-ETP (n = 10)		Non-ETP (n = 21)	
	<i>NOTCH1</i> +	<i>NOTCH1</i> –	<i>NOTCH1</i> +	<i>NOTCH1</i> –	<i>NOTCH1</i> +	<i>NOTCH1</i> –
Полная ремиссия, n/N (%) Complete remission, n/N (%)	4 (80)	7 (100)	3 (75)	5 (83)	13 (93)	6 (86)
МОБ-отрицательная ремиссия на 70-й день протокола, n/N (%) MRD-negative remission on 70 th day of protocol, n/N (%)	3 (75)	4 (57)	3 (100)	2 (40)	11 (85)	5 (71)
Первичная рефрактерность, % Primary refractoriness, %	1	0	1	1	1	1
Ранняя летальность, % Early death, %	0	0	0	0	0	0
Доля выполнения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, n (%) Proportion of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, n (%)	5 (100)	5 (71)	1 (25)	3 (50)	3 (21)	1 (14)
3-летняя общая выживаемость, % 3-year overall survival, %	50	33	50	62,5	100	57
3-летняя безрецидивная выживаемость, % 3-year relapse-free survival, %	60	33	50	66	100	83

Примечание. ETP — вариант из ранних Т-клеточных предшественников; *NOTCH1* + — детекция аномалий; *NOTCH1* – — отсутствие аномалий.

Note. ETP — variant from early T-cell progenitors; *NOTCH1* + — with anomalies; *NOTCH1* – — no anomalies.

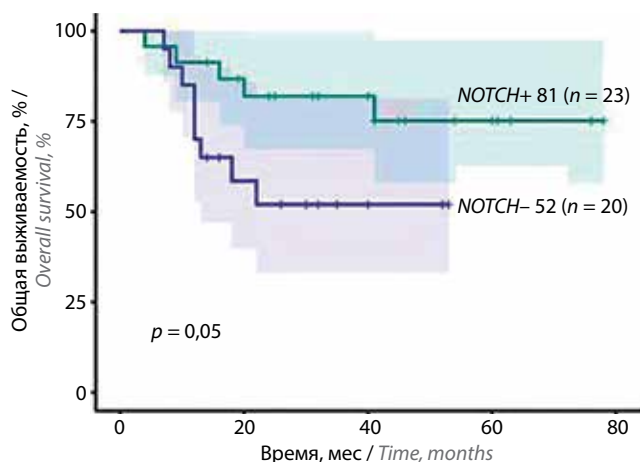


Рис. 4. Общая выживаемость больных Т-клеточным острым лимфобластным лейкозом в зависимости от детекции аномалий в гене *NOTCH1*. Здесь и на рис. 5: *NOTCH1*+ – детекция аномалий; *NOTCH1*– – отсутствие аномалий
Fig. 4. Overall survival of patients with T-cell acute lymphoblastic leukemia depending on the presence of *NOTCH1* abnormalities. Here and in Fig. 5: *NOTCH1*+ – with anomalies; *NOTCH1*– – no anomalies

Т-ОЛЛ в различных группах. ОВ при варианте ЕТР составила 46 %, near-ЕТР – 56 %, ТI/II – 58 %, ТIII – 86 %, ТIV – 60 % ($p = 0,054$) (см. рис. 2). БРВ при ЕТР составила 56 %, near-ЕТР – 42 %, ТI/II – 79 %, ТIII – 94 %, ТIV – 75 % ($p = 0,029$) (см. рис. 3).

Аномальный кариотип встречался наиболее часто в группах ЕТР (у 21 (80,7 %) больного) и near-ЕТР (у 6 (60 %)). При этом КК были также наиболее часто детектируемы именно при ранних вариантах Т-ОЛЛ: при ЕТР – у 11 (52 %) больных, при near-ЕТР – у 4 (66,6 %) и при ТI/II – у 5 (55 %). Потенциальную прогностическую ценность стандартного кариотипирования при Т-ОЛЛ предстоит изучить в рамках многофакторного анализа в целях принятия решения о необходимости интенсификации терапии для больных с КК.

Различными исследовательскими группами было подтверждено, что мутации в гене *NOTCH1* играют важную роль в патогенезе Т-ОЛЛ, но их прогностическое значение остается спорным. Результаты исследований ALL-BFM 2000 и GRAALL-2003 показали, что мутации в *NOTCH1* коррелируют с отсутствием МОБ после окончания индукционной терапии и благоприятными долгосрочными результатами терапии [41, 42]. В исследовании голландской группы EORTC, наоборот, не продемонстрировано клинически значимых различий в результатах терапии больных в зависимости от мутационного статуса *NOTCH1* [11, 14]. Данные нашего исследования показывают, что у больных с аномалиями *NOTCH1* чаще наблюдается ответ на стандартную химиотерапию и МОБ-отрицательный статус, за счет чего имеются более благоприятные долгосрочные результаты терапии.

Трехлетняя ОВ больных в зависимости от наличия мутаций в гене *NOTCH1* составила в группе с аномалиями 81 %, без аномалий – 52 %, что было статисти-

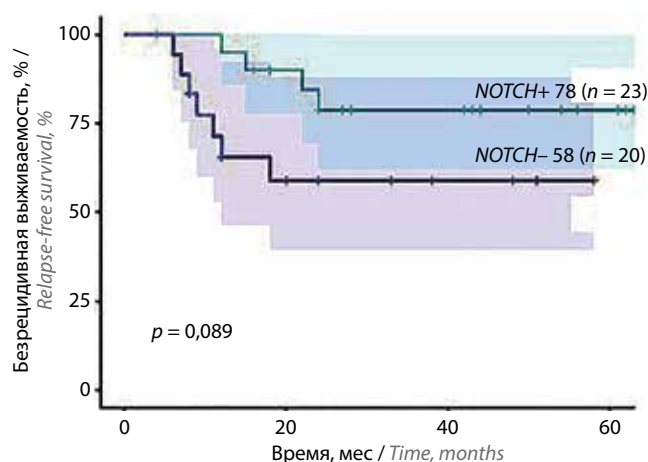


Рис. 5. Безрецидивная выживаемость больных Т-клеточным острым лимфобластным лейкозом в зависимости от детекции аномалий в гене *NOTCH1*
Fig. 5. Relapse-free survival of patients with T-cell acute lymphoblastic leukemia depending on the presence of *NOTCH1* abnormalities

чески значимо ($p = 0,05$) (см. рис. 4). Трехлетняя БРВ больных в зависимости от наличия мутаций в гене *NOTCH1* составила в группе с аномалиями 78 %, без аномалий – 58 %, и, несмотря на отсутствие статистически значимых различий ($p = 0,089$), прослеживается тенденция к ухудшению показателей БРВ в группе с отсутствием аномалий (см. рис. 5).

Аномалии в гене *IKZF1*, по данным мировых исследований, являются редкостью у больных Т-ОЛЛ. В нашем исследовании ни у одного больного аномалии в гене *IKZF1* не обнаружены, что может быть связано как с недостаточно большой выборкой, так и с различиями в методе определения и характеристике самих аномалий.

Нами была проведена оценка корреляции персистенции МОБ с иммунофенотипическим вариантом Т-ОЛЛ. Исследование МОБ в зависимости от иммунофенотипа методом проточной цитофлуориметрии проведено у 89 больных на 70-й день терапии. Статистически значимые результаты не получены (χ^2 -критерий $p = 0,074$). Возможно, при увеличении числа больных в анализируемых группах мы сможем продемонстрировать, что клиренс МОБ у больных с ранними иммунофенотипами более торпидный.

По данным международных исследований с крупной выборкой больных, большое количество неблагоприятных исходов и первично-рефрактерных форм встречается именно в группе ЕТР [4–7, 33–36]. Однако в нашем исследовании с небольшой выборкой пациентов не выявлена такая корреляция. В этой же группе больных наиболее часто сохраняется персистенция МОБ на момент завершения индукции, что согласуется с результатами нашего исследования: больные групп ЕТР и near-ЕТР имеют плохой клиренс опухолевых клеток по данным оценки МОБ (у 43 % больных с ЕТР и у 50 % с near-ЕТР сохраняется персистенция МОБ по окончании индукционного этапа терапии).

Это, вероятно, ассоциировано с развитием рецидивов вследствие химиорезистентности, что подтверждается результатами зарубежных исследований, таких как AIEOP-BFM ALL 2000 [43], DFCI ALL Consortium Protocols 05-001 и 11-001 [44]. Для этих групп больных необходима более ранняя интенсификация и оправдано применение новых стратегий для улучшения долгосрочных результатов терапии, например использование таргетных препаратов в индукции. Доклинические данные показали, что добавление ингибиторов BCL-2 и BCL-X к терапии для сенсibilизации опухолевых клеток к эффектам цитотоксической химиотерапии может улучшить результаты лечения, в том числе при рефрактерных и рецидивных формах Т-ОЛЛ [45–47]. Другим вариантом интенсификации терапии, базирующимся на иммунных механизмах воздействия на опухоль, является выполнение алло-ТГСК. Эта опция включена в стандарты терапии для больных с ЕТР, однако с учетом полученных нами данных стоит рассмотреть возможность выполнения алло-ТГСК в 1-й ремиссии заболевания и для больных с near-ЕТР.

Заключение

Результаты нашего исследования показали, что наиболее неблагоприятными прогностическими факторами для Т-ОЛЛ являются:

- ранние иммунотипы, особенно новые выделенные варианты ЕТР и near-ЕТР;
- отсутствие аномалий в гене *NOTCH1*.

Необходимо провести мультифакторный анализ с участием большего числа больных, чтобы подтвердить полученные результаты.

С учетом крайне разнообразного молекулярного ландшафта, характерного для бластной популяции при Т-ОЛЛ, дальнейшее исследование патогенетических аспектов в мутированных клетках у больных этой группы является необходимым для создания универсальных факторов прогноза при проведении химиотерапии, разработки единой диагностической панели, которая в последующем поможет определить группу больных для таргетной и иммунотерапии, а также для разработки новых эффективных подходов к терапии и внедрения их в рутинную клиническую практику.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Coustan-Smith E., Mullighan C.G., Onciu M. et al. Early T-cell precursor leukaemia: a subtype of very high-risk acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol* 2009;10(2):147–56. DOI: 10.1016/S1470-2045(08)70314-0
2. Wood B.L., Winter S.S., Dunsmore K.P. et al. T-lymphoblastic leukemia (T-ALL) shows excellent outcome, lack of significance of the early thymic precursor (ETP) immunophenotype, and validation of the prognostic value of end-induction minimal residual disease (MRD) in Children's Oncology Group (COG) Study AALL0434. *Blood* 2016;127(15):1863–9. DOI: 10.1182/blood-2015-08-661702
3. Валиев Т.Т., Шервашидзе М.А., Осипова И.В. и др. Протокол ALL-IC BFM 2002: результаты лечения острого лимфобластного лейкоза у детей в рамках многоцентрового клинического исследования. Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика 2022;15(2):119–29. Valiev T.T., Shervashidze M.A., Osipova I.V. et al. ALL-IC BFM 2002 protocol: treatment results of acute lymphoblastic leukemia in children in a multicenter clinical trial. *Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamentalnye issledovaniya i klinicheskaya praktika = Clinical Oncohematology. Basic Research and Clinical Practice* 2022;15(2):119–29. (In Russ.).
4. Morita K., Jain N., Kantarjian H. et al. Outcome of T-cell acute lymphoblastic leukemia/lymphoma: Focus on near-ETP phenotype and differential impact of nelarabine. *Am J Hematol* 2021;96(5):589–98. DOI: 10.1002/ajh.26144
5. Genescà E., Morgades M., González-Gil C. et al. Adverse prognostic impact of complex karyotype (≥ 3 cytogenetic alterations) in adult T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL). *Leuk Res* 2021;109:106612. DOI: 10.1016/j.leukres.2021.106612
6. Коркина Ю.С., Валиев Т.Т., Киргизов К.И. и др. Острый лейкоз из ранних Т-клеток-предшественников: вопросы диагностики, лечения, описание собственного клинического наблюдения. Российский журнал детской гематологии и онкологии 2022;9(4):107–13. Korkina Yu.S., Valiev T.T., Kirgizov K.I. et al. early T-cell precursor leukemia: questions of diagnosis, treatment and description of own clinical case. *Rossiyskiy zhurnal detskoy gematologii i onkologii = Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology* 2022;9(4):107–13. (In Russ.).
7. Abaza Y., M Kantarjian H., Faderl S. et al. Hyper-CVAD plus nelarabine in newly diagnosed adult T-cell acute lymphoblastic leukemia and T-lymphoblastic lymphoma. *Am J Hematol* 2018;93(1):91–9. DOI: 10.1002/ajh.24947
8. Marks D.I., Rowntree C. Management of adults with T-cell lymphoblastic leukemia. *Blood* 2017;129(9):1134–42. DOI: 10.1182/blood-2016-07-692608
9. Zheng R., Li M., Wang S., Liu Y. Advances of target therapy on NOTCH1 signaling pathway in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Exp Hematol Oncol* 2020;9(1):31. DOI: 10.1186/s40164-020-00187-x
10. Weng A.P., Ferrando A.A., Lee W. et al. Activating mutations of NOTCH1 in human T cell acute lymphoblastic leukemia. *Science* 2004;306(5694):269–71. DOI: 10.1126/science.1102160
11. Clappier E., Collette S., Gardel N. et al. *NOTCH1* and *FBXW7* mutations have a favorable impact on early response to treatment, but not on outcome, in children with T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) treated on EORTC trials 58881 and 58951. *Leukemia* 2010;24(12):2023–31. DOI: 10.1038/leu.2010.205
12. Kox C., Zimmermann M., Stanulla M. et al. The favorable effect of activating NOTCH1 receptor mutations on long-term outcome in T-ALL patients treated on the ALL-BFM 2000 protocol can be separated from FBXW7 loss of function. *Leukemia* 2010;24(12):2005–13. DOI: 10.1038/leu.2010.203
13. Larson Gedman A., Chen Q., Kugel Desmoulin S. et al. The impact of NOTCH1, FBW7 and PTEN mutations on prognosis and downstream signaling in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Leukemia* 2009;23(8):1417–25. DOI: 10.1038/leu.2009.64
14. Zuurbier L., Homminga I., Calvert V. et al. *NOTCH1* and/or *FBXW7* mutations predict for initial good prednisone response but not for improved outcome in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia patients treated on DCOG or COALL protocols. *Leukemia* 2010;24(12):2014–22. DOI: 10.1038/leu.2010.204

15. Asnafi V., Buzyn A., Le Noir S. et al. *NOTCH1/FBXW7* mutation identifies a large subgroup with favorable outcome in adult T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL): a Group for Research on Adult Acute Lymphoblastic Leukemia (GRAALL) study. *Blood* 2009;113(17):3918–24. DOI: 10.1182/blood-2008-10-184069
16. Baldus C.D., Thibaut J., Goekbuget N. et al. Prognostic implications of *NOTCH1* and *FBXW7* mutations in adult acute T-lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2009;94(10):1383–90. DOI: 10.3324/haematol.2008.005272
17. Jenkinson S., Koo K., Mansour M.R. et al. Impact of *NOTCH1/FBXW7* mutations on outcome in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia patients treated on the MRC UKALL 2003 trial. *Leukemia* 2013;27(1):41–7. DOI: 10.1038/leu.2012.176
18. Mansour M.R., Sulis M.L., Duke V. et al. Prognostic implications of *NOTCH1* and *FBXW7* mutations in adults with T-cell acute lymphoblastic leukemia treated on the MRC UKALLXII/ECOG E2993 protocol. *J Clin Oncol* 2009;27(26):4352–6. DOI: 10.1200/JCO.2009.22.0996
19. Wu C.Y., Li Y.L., Dong X.Y. et al. Characteristics and prognostic effects of *NOTCH1/FBXW7* gene mutations in T-cell acute lymphoblastic leukemia patients. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2022;102(25):1910–7. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20211025-02358
20. Georgopoulos K., Bigby M., Wang J.H. et al. The Ikaros gene is required for the development of all lymphoid lineages. *Cell* 1994;79(1):143–56. DOI: 10.1016/0092-8674(94)90407-3
21. Olsson L., Johansson B. Ikaros and leukaemia. *Br J Haematol* 2015;169(4):479–91. DOI: 10.1111/bjh.13342
22. Kuiper R.P., Waanders E., van der Velden V.H. et al. IKZF1 deletions predict relapse in uniformly treated pediatric precursor B-ALL. *Leukemia* 2010;24(7):1258–64. DOI: 10.1038/leu.2010.87
23. Rebollo A., Schmitt C. Ikaros, Aiolos and Helios: transcription regulators and lymphoid malignancies. *Immunol Cell Biol* 2003;81(3):171–5. DOI: 10.1046/j.1440-1711.2003.01159.x
24. Mullighan C.G., Su X., Zhang J. et al. Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2009;360(5):470–80. DOI: 10.1056/NEJMoa0808253
25. Mullighan C.G., Goorha S., Radtke I. et al. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature* 2007;446(7137):758–64. DOI: 10.1038/nature05690
26. Kobitzsch B., Gökbüget N., Schwartz S. et al. Loss-of-function but not dominant-negative intragenic IKZF1 deletions are associated with an adverse prognosis in adult BCR-ABL-negative acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2017;102(10):1739–47. DOI: 10.3324/haematol.2016.161273
27. Marçais A., Jeannot R., Hernandez L. et al. Genetic inactivation of Ikaros is a rare event in human T-ALL. *Leuk Res* 2010;34(4):426–9. DOI: 10.1016/j.leukres.2009.09.012
28. Witkowski M.T., Cimmino L., Hu Y. et al. Activated Notch counteracts Ikaros tumor suppression in mouse and human T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2015;29(6):1301–11. DOI: 10.1038/leu.2015.27
29. Yali D., Bing H., Jonathon P. et al. Regulation of heterochromatin landscape in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2021;138(1):2217. DOI: 10.1182/blood-2021-154388
30. Xia R., Cheng Y., Han X. et al. Ikaros proteins in tumor: current perspectives and new developments. *Front Mol Biosci* 2021;8:788440. DOI: 10.3389/fmolb.2021.788440
31. Mortuza F.Y., Papaioannou M., Moreira I.M. et al. Minimal residual disease tests provide an independent predictor of clinical outcome in adult acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2002;20(4):1094–104. DOI: 10.1200/JCO.2002.20.4.1094
32. Pemmaraju N., Kantarjian H., Jorgensen J.L. et al. Significance of recurrence of minimal residual disease detected by multiparameter flow cytometry in patients with acute lymphoblastic leukemia in morphological remission. *Am J Hematol* 2017;92(3):279–85. DOI: 10.1002/ajh.24629
33. Xu M., Liu H., Liu Y. et al. Gene mutations and pretransplant minimal residual disease predict risk of relapse in adult patients after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation for T cell acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2019;60(11):2744–53. DOI: 10.1080/10428194.2019.1597270
34. Wang H., Zhou Y., Huang X. et al. Minimal residual disease level determined by flow cytometry provides reliable risk stratification in adults with T-cell acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2021;193(6):1096–104. DOI: 10.1111/bjh.17424
35. Гальцева И.В. Стратегия мониторинга минимальной остаточной болезни у больных острыми лейкозами методом мультипараметрической проточной цитометрии. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2022. 45 с.
Galtseva I.V. Minimal residual disease monitoring in patients with acute leukemia using multiparametric flow cytometry. Dis. ... doctor of medical sciences. Moscow, 2022. 45 p. (In Russ.).
36. Конова З.В., Паровичникова Е.Н., Гальцева И.В. и др. Прогностическая значимость минимальной остаточной болезни перед трансплантацией аллогенных гемопоэтических стволовых клеток у больных острыми лейкозами. *Гематология и трансфузиология* 2021;66(4):539–55. DOI: 10.35754/0234-5730-2021-66-4-539-555
Konova Z.V., Parovichnikova E.N., Galtseva I.V. et al. Prognostic value of minimal residual disease before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with acute leukemia. *Gematologiya i transfuziologiya = Russian Journal of Hematology and Transfusiology* 2021;66(4):539–55. (In Russ.). DOI: 10.35754/0234-5730-2021-66-4-539-555
37. Bene M.C., Castoldi G., Knapp W. et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995;9(10):1783–6.
38. Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16(3):1215. DOI: 10.1093/nar/16.3.1215
39. Caye A., Beldjord K., Mass-Malo K. et al. Breakpoint-specific multiplex polymerase chain reaction allows the detection of IKZF1 intragenic deletions and minimal residual disease monitoring in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2013;98(4):597–601. DOI: 10.3324/haematol.2012.073965
40. Campregher P.V., Petroni R.C., Muto N.H. et al. A novel assay for the identification of NOTCH1 PEST domain mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Biomed Res Int* 2016;2016:4247908. DOI: 10.1155/2016/4247908
41. Breit S., Stanulla M., Flohr T. et al. Activating NOTCH1 mutations predict favorable early treatment response and long-term outcome in childhood precursor T-cell lymphoblastic leukemia. *Blood* 2006;108(4):1151–7. DOI: 10.1182/blood-2005-12-4956
42. Trinquand A., Tanguy-Schmidt A., Ben Abdelali R. et al. Toward a NOTCH1/FBXW7/RAS/PTEN-based oncogenetic risk classification of adult T-cell acute lymphoblastic leukemia: a Group for Research in Adult Acute Lymphoblastic Leukemia study. *J Clin Oncol* 2013;31(34):4333–42. DOI: 10.1200/JCO.2012.48.5292
43. Schrappe M., Valsecchi M.G., Bartram C.R. et al. Late MRD response determines relapse risk overall and in subsets of childhood T-cell ALL: results of the AIEOP-BFM-ALL 2000 study. *Blood* 2011;118(8):2077–84. DOI: 10.1182/blood-2011-03-338707
44. Burns M.A., Place A.E., Stevenson K.E. et al. Identification of prognostic factors in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia: results from DFCI ALL Consortium Protocols 05-001 and 11-001. *Pediatr Blood Cancer* 2021;68(1):e28719. DOI: 10.1002/pbc.28719
45. Chonghaile T.N., Roderick J.E., Glenfield C. et al. Maturation stage of T-cell acute lymphoblastic leukemia determines BCL-2 versus BCL-XL dependence and sensitivity to ABT-199. *Cancer Discov* 2014;4(9):1074–87. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-14-0353
46. Гаврилина О.А., Паровичникова Е.Н., Троицкая В.В. и др. Применение венетоклакса в сочетании с децитабином в лечении резистентных форм, рецидивов и персистенции МРБ при остром Т-лимфобластном лейкозе у взрослых. *Гематология и трансфузиология* 2020;65(1):64–5.
Gavrilina O.A., Parovichnikova E.N., Troitskaya V.V. et al. The use of venetoclax with decitabine in the treatment of resistant forms, relapses and MRD persistence in adult acute T-lymphoblastic leukemia. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology* 2020;65(1):64–5. (In Russ.).

47. Parovichnikova E.N., Gavrilina O.A., Troitskaya V.V. et al.
Venetoclax plus decitabine in the treatment of MRD-persistent

and relapsed/refractory T-cell acute lymphoblastic leukemia. EHA
2020;294346:EP427.

Вклад авторов

А.Н. Васильева: обзор публикаций по теме статьи, выполнение лабораторной части исследований, статистический анализ, написание текста статьи;

О.А. Алешина: обзор публикаций по теме статьи, разработка дизайна, научное редактирование статьи;

Е.С. Котова: обзор публикаций по теме статьи, выполнение лабораторной части исследований;

Б.В. Бидерман: выполнение лабораторной части исследований, разработка дизайна, научное редактирование статьи;

Т.Н. Обухова, И.В. Гальцева, В.Н. Двирник, Е.И. Захарько: выполнение лабораторной части исследований, научное редактирование статьи;

А.Б. Судариков, Е.Н. Паровичникова: разработка дизайна статьи, научное редактирование рукописи.

Authors' contributions

A.N. Vasileva: reviewing of publications on the article's topic, laboratory part of research, statistical analysis, article writing;

O.A. Aleshina: reviewing of publications on the article's topic, research design development, article editing;

E.S. Kotova: reviewing of publications on the article's topic, laboratory part of research;

B.V. Biderman: laboratory part of research, research design development, article editing;

T.N. Obukhova I.V. Galtseva, V.N. Dvirnik, E.I. Zakharko: laboratory part of research, article editing;

A.B. Sudarikov, E.N. Parovichnikova: research design development, article editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.Н. Васильева / A.N. Vasileva: <https://orcid.org/0000-0003-4316-4833>

О.А. Алешина / O.A. Aleshina: <https://orcid.org/0000-0002-9969-8482>

Е.С. Котова / E.S. Kotova: <https://orcid.org/0000-0002-7968-1923>

Б.В. Бидерман / B.V. Biderman: <https://orcid.org/0000-0002-6253-3334>

Т.Н. Обухова / T.N. Obukhova: <https://orcid.org/0000-0003-1613-652X>

И.В. Гальцева / I.V. Galtseva: <https://orcid.org/0000-0002-8490-6066>

В.Н. Двирник / V.N. Dvirnik: <https://orcid.org/0000-0002-9877-0796>

Е.И. Захарько / E.I. Zakharko: <https://orcid.org/0000-0002-1884-352X>

А.Б. Судариков / A.B. Sudarikov: <https://orcid.org/0000-0001-9463-9187>

Е.Н. Паровичникова / E.N. Parovichnikova: <https://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России. Протокол № 121 от 24.04.2017.

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of National Medical Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia. Protocol No. 121 dated 24.04.2017.

All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 23.01.2024. **Принята к публикации:** 27.02.2024.

Article submitted: 23.01.2024. **Accepted for publication:** 27.02.2024.