

ОНКОКЛИНИЧЕСКАЯ ГЕМАТОЛОГИЯ

КЛИНИКА, ДИАГНОСТИКА
И ЛЕЧЕНИЕ МИЕЛОИДНЫХ
ОПУХОЛЕЙ

ONCOCLINICAL HEMATOLOGY

MYELOID
MALIGNANCIES

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при миелодиспластических синдромах и клиническое значение гиперэкспрессии гена *WT1*

*Н.Н. Мамаев¹, А.В. Горбунова¹, Т.Л. Гиндина¹,
Е.В. Морозова¹, Я.В. Гудожникова¹, О.А. Слесарчук¹,
В.Н. Овечкина¹, А.А. Рац¹, Э.Г. Бойченко²,
Е.А. Украинченко³, В.М. Кравцова¹, А.В. Евдокимов¹,
И.М. Бархатов¹, С.Н. Бондаренко¹, Б.В. Афанасьев¹*

¹ НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, ул. Рентгена, д. 12, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197022

² Детская городская больница № 1, ул. Авангардная, д. 14, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 198205

³ Александровская городская больница № 17, пр-т Солидарности, д. 4, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 193312

Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Myelodysplastic Syndromes and Clinical Significance of *WT1* Gene Overexpression

*N.N. Mamaev¹, A.V. Gorbunova¹, T.L. Gindina¹,
E.V. Morozova¹, Ya.V. Gudozhnikova¹, O.A. Slesarchuk¹,
V.N. Ovechkina¹, A.A. Rats¹, E.G. Boichenko²,
E.A. Ukrainchenko³, V.M. Kravtsova¹, A.V. Evdokimov¹,
I.M. Barkhatov¹, S.N. Bondarenko¹, B.V. Afanas'ev¹*

¹ RM Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, 12 Rentgena str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197022

² Municipal Children's Hospital No. 1, 14 Avangardnaya str., Saint Petersburg, Russian Federation, 198205

³ Alexandrovskaya Municipal Hospital No. 17, 4 pr-t Solidarnosti, Saint Petersburg, Russian Federation, 193312

РЕФЕРАТ

Представлены результаты аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) у 17 больных (11 — мужского пола, 6 — женского) с миелодиспластическим синдромом (3 — РА/РАКС/РЦМД, 5 — РАИБ-1, 7 — РАИБ-2 и 2 — ЮММЛ) в возрасте от 1 до 55 лет (средний возраст 26 лет). Цитогенетические исследования были проведены у всех пациентов. У 7 (41 %) из них имела место моносомия 7, которая в 4 наблюдениях была связана с другими нарушениями кариотипа. Кроме того, обнаружены делеции 11q23 ($n = 3$), трисомии 8 ($n = 2$) и 21 ($n = 2$), вовлечение в перестройки 3q ($n = 2$), транслокация t(6;9) ($n = 1$) и другие, более редкие нарушения кариотипа. Перед аллоТГСК гипометилирующие агенты (ГА) получили 11 (65 %) из 17 больных. У половины пациентов ГА оказались эффективными. Для подготовки к аллоТГСК были использованы аблативный (бусульфан, циклофосфамид) или с уменьшенной токсичностью (флударабин, циклофосфамид) режимы кондиционирования (4 и 13 больных соответственно). В связи с неприживлением трансплантата или развитием посттрансплантационных рецидивов у 6 больных трансплантации были проведены повторно. Молекулярный мониторинг минимальной остаточной болезни и раннее распознавание возможного посттрансплантационного рецидива осуществляли с помощью серийного измерения уровня экспрессии гена *WT1* и донорского химеризма. Максимальные значения *WT1* варьировали от 15 до

ABSTRACT

The results of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in 17 patients (pts, 11 male, 6 female) with myelodysplastic syndromes (3 RA/RARS/RCMD, 5 RAEB-1, 7 RAEB-2, 2 JMML) are presented. The median age was 26 years with a range between 1 and 55 years. Serial cytogenetic investigations were carried out in all of them. Seven pts demonstrated monosomy 7, which was associated with other chromosome abnormalities in 4 cases. In addition, deletion at 11q23 ($n = 3$), trisomy 8 ($n = 2$) and 21 ($n = 2$), involvement into rearrangement at 3q ($n = 2$), t(6;9) translocation, and others more rare abnormalities were found. Prior to aHSCT, 11 of 7 received hypomethylating agents (HA) which proved to be effective in a half of them. In order to prepare for aHSCT, ablative (busulfan, cyclophosphamide) or non-ablative (fludarabine, cyclophosphamide) conditioning regimens were applied (4 and 13 respectively). Repeated aHSCT was carried out in 6 pts because of transplant rejection or post-transplant relapses. Molecular monitoring of minimal residual disease as well as early diagnosis of these relapses was performed by means of serial tests of the *WT1* gene level expression and donor chimerism. Maximum *WT1* values varied between 15 and 43133 copies/ 10^4 copies of *ABL* gene; and molecular relapses were registered in a half of them, including 5 patients with transformation into acute leukemia (AL). HA were used for prevention and treatment of relapses in 4 (24 %) patients; and HA were combined with donor lymphocyte infusions. Standard chemo-

43 133 копий/10⁴ копий гена *ABL*, а молекулярные рецидивы заболевания были отмечены у половины, в т. ч. у 5 больных с трансформацией миелодиспластического синдрома (МДС) в острый лейкоз (ОЛ). Для профилактики и лечения рецидивов у 4 (24 %) больных использовали гипометилирующие агенты, которые комбинировали с инфузиями донорских лимфоцитов. Стандартные противоопухолевые средства подключали к лечению рецидивов относительно редко. В настоящем исследовании подтверждено, что гиперэкспрессия гена *WT1* является не только важным молекулярным параметром своевременной диагностики посттрансплантационных рецидивов МДС/ОЛ, но и может использоваться для оценки качества лечения пациентов.

Ключевые слова: миелодиспластические синдромы, аллогенная ТГСК, посттрансплантационные рецидивы, минимальная остаточная болезнь, серийная экспрессия гена *WT1*.

Принято в печать: 30 сентября 2014 г.

Для переписки: Н.Н. Мамаев, д-р мед. наук, профессор, ул. Рентгена, д. 12, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197022; тел.: +7(812)233-12-43; e-mail: nikmamaev524@gmail.com

Для цитирования: Мамаев Н.Н., Горбунова А.В., Гиндина Т.Л., Морозова Е.В., Гудожникова Я.В., Слесарчук О.А., Овечкина В.Н., Рац А.А., Бойченко Э.Г., Украинченко Е.А., Кравцова В.М., Евдокимов А.В., Бархатов И.М., Бондаренко С.Н., Афанасьев Б.В. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток при миелодиспластических синдромах и клиническое значение гиперэкспрессии гена *WT1*. *Клин. онкогематол.* 2014; 7(4): 551–563.

therapy was applied for these purposes relatively rarely. This study demonstrated *WT1* gene overexpression to be not only an important marker for diagnosis of post-transplant MDS/AL relapses, but it also can be used for evaluation of the treatment efficacy.

Keywords: myelodysplastic syndromes, allogeneic HSCT, post-transplant relapses, minimal residual disease, molecular monitoring, serial *WT1* gene expression.

Accepted: September 30, 2014

For correspondence: N.N. Mamaev, MD, PhD, DSci, Professor, 2 Rentgena str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197022; Tel: +7(812)233-12-43; e-mail: nikmamaev524@gmail.com

For citation: Mamaev N.N., Gorbunova A.V., Gindina T.L., Morozova E.V., Gudozhnikova Ya.V., Slesarchuk O.A., Ovechkina V.N., Rats A.A., Boichenko E.G., Ukrainchenko E.A., Kravtsova V.M., Evdokimov A.V., Barkhatov I.M., Bondarenko S.N., Afanas'ev B.V. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Myelodysplastic Syndromes and Clinical Significance of *WT1* Gene Overexpression. *Klin. Onkogematol.* 2014; 7(4): 551–563 (In Russ.).

ВВЕДЕНИЕ

Миелодиспластические синдромы (МДС) — группа клональных заболеваний системы крови, для которых характерны различной степени выраженности дисплазия 1, 2 или 3 ростков кроветворения и цитопении с возможной трансформацией в один из вариантов острых миелоидных лейкозов (ОМЛ). Единственным способом излечения этих заболеваний является аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК), которую из-за пожилого возраста больных, а также сопутствующих заболеваний выполнить непросто. Кроме того, ситуация с лечением МДС усугубляется высокой частотой посттрансплантационных рецидивов [1].

В исследованиях последних лет показано, что в ряде своевременно диагностированных рецидивов после аутоТГСК при МДС с успехом могут использоваться инфузии донорских лимфоцитов (ИДЛ) и гипометилирующие агенты (ГА) [2]. Следует отметить, что предсказать или своевременно диагностировать начинающийся рецидив при МДС с помощью широко распространенных специфических молекулярных и цитогенетических маркеров не всегда представляется возможным [3], что ставит исследователей перед необходимостью поиска других, возможно менее специфичных, но прогностически более важных, параметров опухолей. Одним из таких предикторов может быть высокая экспрессия в опухолевых клетках гена *WT1*. К настоящему времени наибольший опыт оценки прогностического значения данного показателя в клинике накоплен при ОМЛ [4–17]. В то же время

подобных работ при МДС [18–26], особенно у больных, которым выполнена аллоТГСК [27], опубликовано значительно меньше.

Свое необычное название ген *WT1* получил от опухоли Вильмса, в развитии которой он имеет приоритетное значение. Ген *WT1* расположен на коротком плече хромосомы 11 в локусе 11p13 и ответственен за кодирование важного транскрипционного фактора. В физиологических условиях этот ген высоко экспрессируется в клетках развивающейся мочеполовой системы, в мезотелии, а также в незрелых элементах костного мозга, крови и селезенки [28]. При этом уровень экспрессии данного гена в костном мозге здоровых лиц выше, чем в крови [29]. Немаловажно и то, что гиперэкспрессия гена *WT1* может иметь место в условиях регенерации кроветворения [30].

По сравнению с ОМЛ исследований уровня экспрессии гена *WT1* при МДС проводилось меньше [2, 18–26], а полученные результаты порой противоречивы. Вместе с тем надежность этого параметра в диагностике минимальной остаточной болезни и рецидивов заболевания [23, 26], в т. ч. посттрансплантационных [2, 27], по мнению различных исследователей, довольно высокая. Установлена также его корреляционная связь с международным индексом IPSS [20]. На основании данных первых опубликованных исследований создалось впечатление, что при рецидивах МДС ген *WT1* экспрессируется сильнее, чем на момент постановки диагноза, в то время как после успешно проведенной аллоТГСК уровень его экспрессии закономерно снижается. Поскольку большинство упомянутых выше исследований

было сфокусировано на прогностической значимости данного показателя в плане выживаемости пациентов, возможности мониторинга уровня экспрессии гена в посттрансплантационный период изучены пока недостаточно [27]. Не вызывает сомнений, что подобные исследования вскоре могут иметь чрезвычайно важное значение как в теоретическом, так и клиническом плане [2].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучена в динамике экспрессия в опухолевых клетках гена *WT1* у 17 больных (11 — мужского пола, 6 — женского) в возрасте от 1 до 55 лет (средний возраст 26 лет) с различными вариантами МДС: 3 — РА/РАКС/РЦМД (рефрактерная анемия/рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами/рефрактерная цитопения с многолинейной дисплазией), 5 — РАИБ-1 (рефрактерная анемия с избытком бластов), 7 — РАИБ-2, в т. ч. один из апластической анемии, и 2 — ЮММЛ (ювенильный миело monocитарный лейкоз). ТГСК проводили от HLA-совместимых родственных ($n = 9$) и неродственных ($n = 14$) доноров (включая вторые аллоТГСК). В 6 наблюдениях выполнена повторная аллоТГСК из-за неприжизнения трансплантата или из-за развития раннего посттрансплантационного рецидива (табл. 1). В качестве режимов кондиционирования у большинства больных использовались немиелоаблативные с флударабином и циклофосфамидом. Миелоаблативные режимы кондиционирования с бусульфаном и циклофосфамидом применены у 4 пациентов. Для профилактики реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) чаще всего использовали метотрексат и микофенолат, реже — антилимфоцитарный глобулин.

Молекулярный мониторинг минимальной остаточной болезни и раннюю диагностику рецидивов заболевания осуществляли тестированием уровня экспрессии гена *WT1* методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (RT-PCR) на выделенной из клеток костного мозга и крови РНК. Донорский химеризм и уровень экспрессии гена *EVI1* определяли стандартным способом [31].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Серийные цитогенетические исследования

Серийные цитогенетические исследования были проведены у всех пациентов (табл. 2). У 7 из них имела место моносомия 7 (№ 1–7), которая в 4 наблюдениях (№ 3, 5, 6, 7) была связана с другими нарушениями кариотипа. Следует отметить, что у 2 больных (№ 1 и 2) моносомия 7

Таблица 1. Характеристика больных

Показатель	Число больных
Число больных	17
Средний (диапазон) возраст, лет	26 (1–55)
Пол (мужской/женский)	11/6
Вариант МДС перед аллоТГСК	
РА/РАКС/РЦМД	3
РАИБ-1	5
РАИБ-2	7
ЮММЛ	2
Результаты цитогенетического и молекулярно-биологического исследований	
Моносомия 7	4
–7 с другими перестройками	3
Делеция 11q23	3
Трисомия 8	2
Вовлечение 3q	2
Другие повреждения	3
Гиперэкспрессия гена <i>EVI1</i>	4
Тип донора, n (%)	
Неродственный совместимый	13 (76)
Сиблинг	2 (12)
Родственный, частично совместимый	1 (6)
Гаплоидентичный родственный	1 (6)
Вторая аллоТГСК, n (%)	6 (35)
Гаплоидентичный родственный	4 (66)
Сиблинг	1 (17)
Неродственный совместимый	1 (17)
Среднее (диапазон) количество пересаживаемых CD34+, $\times 10^6$ /кг	3,49 (1,3–12,3)
Среднее (диапазон) время наблюдения, мес.	17,6 (2–47)
Трансформация в острый лейкоз, n (%)	5 (30)
Гипометилирующие агенты, n (%)	11 (65)
До аллоТГСК	7
До и после аллоТГСК	4
Инфузии донорских лимфоцитов	4
Медиана (диапазон) общей выживаемости после аллоТГСК, мес.	17,6 (2–47)
Летальный исход, n (%)	7 (41)
Причины смерти	
Прогрессирование заболевания, n (%)	5 (72)
Неприжизнение трансплантата, n (%)	1 (14)
РТПХ, инфекция, n (%)	1 (14)

после аллоТГСК перестала определяться, а у 3-го (№ 3) сохранялась в период всего наблюдения (рис. 1). В одном из наблюдений (№ 7) моносомия 7 первоначально была выявлена до аллоТГСК методом FISH (флуоресцентная

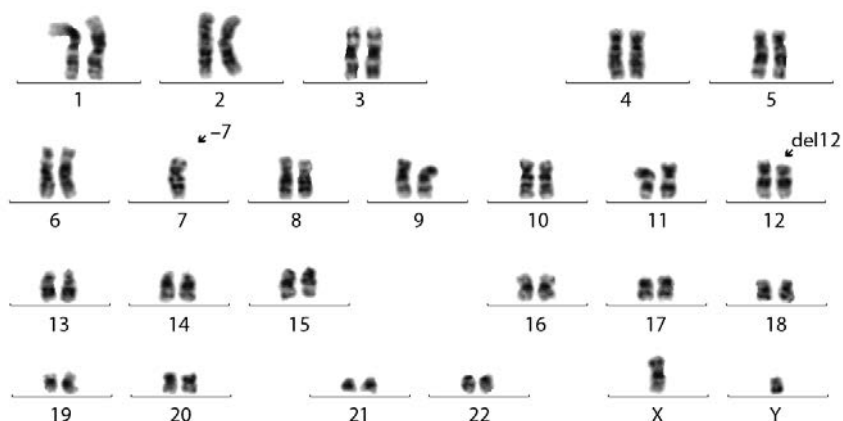


Рис. 1. Кариотип клеток костного мозга ребенка (№ 3) с ювенильным вариантом миело monocитарного лейкоза. Иллюстрация сочетания моносомии 7 с интерстициальной делецией короткого плеча хромосомы 12 [45,XY, -7, del(12)(p11p13)]

Таблица 2. Результаты серийных цитогенетических исследований у больных с миелодиспластическими синдромами и аллоТГСК

№	Пациент		Дата исследования	Кариотип	Время исследования (до/после аллоТГСК)	
	Инициалы, возраст (лет), пол	Диагноз, дата аллоТГСК				
1	Ф.Т., 22, м	РАИБ-1 2.02.12	25.10.12	46,XX[20]	После	
			27.02.12	46,XX[20]	После	
			28.03.12	46,XX[20]	После	
2	А.В., 16, м	РАИБ-1 11.05.12	2.03.11	45,XY, -7[20]	До	
			7.12.11	45,XY, -7[6]/46,XY[4]	До	
			8.05.12	46,XY[20]	До	
			28.01.13	46,XY[20]	После	
			14.11.13	46,XY[20]	После	
3	С.М., 5, м	ЮММЛ 13.03.12	22.12.09	45,XY, -7[20]	До	
			29.06.10	45,XY, -7[20]	До	
			26.09.11	45,XY, -7[20]	До	
			3.02.13	45,XY, -7[13]/45, idem, del(12)(p11p13)[7]	До	
			9.04.12	46,XY[20]	До	
			5.04.13	45,XY, -7[20]	До	
			23.05.13	45,XY, -7[20]	После	
			16.10.13	45,XY, -7[16]/46,XY[2]	После	
			28.10.13	45,XY, -7[15]/45, idem, del(12)(p11p13)[5]	После	
			18.11.13	45,XY, -7[13]/45, idem, del(12)(p11p13)[7]	После	
			25.11.13	45,XY, -7[18]/45, idem, del(12)(p11p13)[2]	После	
15.04.14	45,XY, -7[14]/46, idem, +21[3]/48, idem, +19, +21[3]	После				
4	З.С., 18, ж	РАИБ-2	30.01.07	46,XX[20]	До	
			15.03.12	46,XX[20]	До	
			25.10.12	45,XX, -7[20]	До	
			7.12.12	26.04.12	45,XX, -7[20]	После
			23.07.12	45,XX, -7[20]	После	
			15.10.12	45,XX, -7[20]	После	
5	М.В., 1, м	ЮММЛ 11.12.13	16.10.13	45,XY, -7[16]/46,XY[2]	До	
			28.10.13	45,XY, -7[15]/45,XY, -7, del(11)(q23)[5]	До	
			25.12.13	45,XY, -7[18]/45,XY, -7, del(11)(q23)[2]	После	
6	П.К., 30, м	РАИБ-1 5.06.13	22.05.13	46,XY, -7, +21[19]/46,XY[1]	До	
			17.07.13	46,XY[20]	После	
			1.08.13	nuc ish(CEP7,D7S486)x2[200]	После	
			5.09.13	46,XY[20]	После	
			3.10.13	46,XY[20]	После	
7	П.Т., 54, ж	РАИБ-2 31.10.13	1.07.13	46,XX[20]	До	
			21.10.13	nuc ish(CEP7,D7S486)x1/(CEP7,S486)x2[40/160]	До	
			9.12.13	46,XY[20]	После	
			12.03.14	45,XX, -7, del(11)(q23)[7]/46,XX[13]	После	
8	П.А., 51, м	РАКС	6.08.09	46,XY, del(11)(q23)[3]/46,XY[17]	До	
			18.10.12	46,XY, del(11)(q23)[12]/46,XY[8]	До	
			29.03.13	15.12.10	46,XY, del(11)(q23)[7]/46,XY[13]	До
			4.05.11	46,XY, del(11)(q23)[16]/46,XY[4]	До	
			9.04.12	46,XY, del(11)(q23)[20]	До	
			10.10.12	46,XY, del(11)(q23)[13]/46,XY[7]	До	
			7.11.12	46,XX[20]	После	
			28.11.12	46,XX[20]	После	
			27.12.12	46,XX[20]	После	
			30.01.13	46,XX[20]	После	
			11.03.13	46,XX[20]	После	
24.04.13	nuc ish(CEPXx2)/(CEPX,CEPYx1)[192/8]	После				
17.06.13	46,XX[20]	После				
22.07.13	46,XX[20]	После				
9	К.Л., 55, ж	РАИБ-2 20.05.10 9.01.14	12.11.09	46,XX[20]	До	
			9.06.10	46,XY[20]	После	
			26.08.10	46,XY[20]	После	
			24.11.10	46,XY[20]	После	
			12.01.11	46,XY[20]	После	
			31.08.11	46,XY[20]	После	
			19.12.11	46,XY[19]/46,XX[1]	После	
			18.01.12	46,XX[7]/46,XY[13]	После	
			26.03.12	46,XX[11]/46,XY[9]	После	
			18.04.12	46,XY[2]/46,XX[9]	После	
			16.05.12	46,XX[20]	После	
			20.06.12	46,XY[2]/46,XX[18]	После	
			25.07.12	46,XY[2]/46,XX, del(11)(q23)[2]/46,XX[16]	После	

Окончание на след. странице

Таблица 2. Окончание

№	Пациент		Дата исследования	Кариотип	Время исследования (до/после аллоТГСК)
	Инициалы, возраст (лет), пол	Диагноз, дата аллоТГСК			
			27.08.12	46,XY[2]/46,XX, del(11)(q23)[4]/46,XX[14]	После
			26.09.12	46,XX, del(11)(q23)[2]/46,XX[17]/46,XY[1]	После
			14.11.12	46,XX[19]/46,XY[1]	После
			14.02.13	46,XX, del(11)(q23)[2]/46,XX[9]/46,XY[9]	После
			4.07.13	46,XX[16]/46,XY[4]	После
			25.09.13	46,XX[20]	После
			2.12.13	46,XX[20]	После
			23.01.14	46,XY[17]/46,XX[3]	После
			6.02.14	46,XY[20]	После
			10	Л.Е., 18, ж	РА 19.12.12
14.11.12	46,XX,+8[15]	До			
24.01.13	46,XX[20]	После			
14.02.13	nuc ish(CEP8)x2[200]	После			
27.03.13	46,XX[20]	После			
16.05.13	46,XX[20]	После			
15.07.13	46,XX[20]	После			
24.10.13	46,XX[20]	После			
27.01.14	46,XX[20]	После			
14.05.14	46,XX[20]	После			
11	Н.П., 12, м	РАИБ-1 9.08.12 2.04.13	29.02.12	46,XY[20]	До
			29.02.12	nuc ish(D7S486,CEP7)x2[166]	До
			19.07.12	46,XY[20]	До
			8.10.12	46,XY[20]	После
			23.10.12	46,XY[20]	После
			26.11.12	46,XY[20]	После
			20.03.13	47,XY,+8[2]/46,XY[18]	После
			29.04.13	46,XX[20]	После
			20.06.13	46,XY[10]/46,XX[20]	После
			15.08.13	47,XY,t(2;19)(q21;q13),+8[7]/46,XX[1]/46,XY[12]	После
12	М.Л., 40, ж	РАИБ-2 14.06.12	14.12.11	46,XX,t(2;3)(p23;q26)[20]	До
			23.05.12	46,XX,t(2;3)(p23;q26)[20]	До
			27.06.12	46,XY[20]	После
			8.08.12	46,XY[20]	После
			5.09.12	46,XY[20]	После
			19.12.12	46,XY[20]	После
			28.02.13	46,XY[20]	После
			21.08.13	46,XY[20]	После
			30.10.13	46,XY[20]	После
			18.06.14	46,XY[20]	После
13	Б.А., 54, м	РАИБ-2 24.04.12 2.06.12	5.12.11	46,XY,t(3;5)(q25;q34)[20]	До
			4.04.12	46,XY,t(3;5)(q25;q34)[15]/46,XY[5]	До
			4.06.12	46,XY,t(3;5)(q25;q34)[8]/46,XY[12]	После
			26.09.12	46,XY,t(3;5)(q25;q34)[4]/46,XY[16]	После
			3.04.13	46,XY,t(3;5)(q25;q34)[20]	После
			5.02.14	46,XY,t(3;5)(q25;q34)[20]	После
14	Р.А., 7, ж	РАИБ-2 5.11.09 (аутоТГСК) 28.05.10	16.02.09	46,XX,t(6;9)(p23;q34)	До
			23.09.09	46,XX[20]	До
			26.11.09	46,XX[20]	До
			21.04.10	47,XX,t(6;9)(p23;q34),+8[20]	До
			17.05.10	47,XX,t(6;9)(p23;q34),+8[1]/46,XX[19]	До
			16.06.10	46,XY[2]/46,XX[18]	До
			24.06.10	46,XX[18]	После
			8.07.10	46,XX[10]	После
15	М.А., 10, м	РЦМД 19.02.13	11.02.10	46,XY[22]/92,<4n>[3]	До
			7.02.13	46,XY,del(21)(q12)[5]/92,<4n>[2]/46,XY[13]	До
			20.05.13	46,XY[20]	После
			27.02.14	46,XY[20]	После
16	М.С., 16, м	РАИБ-1 14.04.11	4.04.08	46,XY,+1,dic(1;15)(p11;p11)[20]	До
			5.10.10	46,XY,+1,dic(1;15)(p11;p11)[20]	До
			3.02.11	46,XY,+1,dic(1;15)(p11;p11)[19]/46,XY[1]	До
			4.04.11	46,XY,+1,dic(1;15)(p11;p11)[20]	До
			3.05.11	46,XX[20]	После
			12.05.11	46,XX[20]	После
			16.06.11	46,XX[20]	После
			27.07.11	46,XX[20]	После
			20.10.11	46,XX[20]	После
			20.02.12	46,XX[20]	После
17	Г.А., 33, м	РАИБ-2 27.02.13 6.06.13	21.03.13	46,XX[19]/46,XY[1]	После
			3.04.13	46,XY,t(6;12)(p21;p13)[3]/46,XY[16]	После
			6.06.13	46,XX[20]	После

Таблица 3. Терапия гипометилирующими агентами до/после аллоТГСК и инфузии донорских лимфоцитов

Пациент №	Дата аллоТГСК	ГА (срок, препарат)			ИДЛ (срок, доза CD3/кг)	Последний визит или дата смерти	ОВ после аллоТГСК, дни
		До ТГСК	После ТГСК				
1	2.02.12	1 курс А	3 курса А	н/д		29.06.12	150
2	11.05.12	1 курс Д	н/д	н/д		19.06.14+	738+
4	15.03.12	3 курса Д	н/д	н/д		22.12.12	58
	25.10.12						
	7.12.12						
6	5.06.13	3 курса Д	5.09–11.09.13, А	н/д		19.06.14+	379+
7	31.10.13	4 курса А	18.02–24.02.14, А 18.03–22.03.14, А	27.02.14 (1 × 10 ⁶) 15.03.14 (5,5 × 10 ⁶)		19.06.14+	549+
8	18.10.12	2 курса А	н/д	н/д		19.06.14+	549+
	29.03.13	н/д	н/д	н/д			
9	20.05.10	3 курса Д	27.09–4.10.12, А 25.10–1.11.12, А 22.11–29.11.12, А 20.12–27.12.12, А 17.01–24.01.13, А 19.03–26.03.13, А 26.04–3.05.13, А 5.09–11.09.13, А 17.10–24.10.13, А 23.11–30.11.13, А	24.02.12 (1 × 10 ⁵) 21.03.12 (5 × 10 ⁵) 20.04.12 (1 × 10 ⁶) 29.05.12 (5 × 10 ⁶) 20.06.12 (1 × 10 ⁷) 25.07.12 (1,2 × 10 ⁷) 28.08.12 (5 × 10 ⁷)		8.04.14	1461
	9.01.14	н/д	10.04–14.04.12, Д	24.01.12			
10	19.12.12	2 курса Д	н/д	н/д		19.06.14+	488+
11	9.08.12	3 курса Д	н/д	14.11.12 23.07.13		27.09.13	414*
	2.04.13	н/д	н/д	н/д			
13	24.04.12	3 курса Д	27.04–4.05.13, А 6.06–13.06.13, А 7.07–14.07.13, А 27.09–4.10.13, А 26.10–3.11.13, А 10.12–17.12.13, А	н/д		19.06.14+	786+
	2.06.12						
17	27.02.13	3 курса А	н/д	11.04.13 (1 × 10 ⁶) 14.05.13 (5 × 10 ⁶)		29.06.13	123
	6.06.13						

А — азацитидин; Д — децитабин; н/д — не делали; ОВ — общая выживаемость.

* Трансформация МДС в острый лейкоз.

гибридизация *in situ*), а после трансплантации в комбинации с делецией 11q23 стала определяться и при стандартном цитогенетическом исследовании. Делеция 11q23 обнаружена еще у 2 больных (№ 8 и 9). В 2 наблюдениях (№ 10 и 11) в кариотипе клеток была зафиксирована трисомия 8, причем в первом случае это имело место до аллоТГСК, а во втором — после нее. Вовлечение в перестройки хромосом 3-й пары было зарегистрировано у 2 пациентов (№ 12 и 13), причем у одной из них (№ 12) с присущей этой перестройке гиперэкспрессией гена *EVII*. Из других изменений кариотипа заслуживали внимания транслокация t(6;9) (№ 14), трисомия 21 (№ 3 и 6), делеция длинного плеча хромосомы 21 (21q) (№ 15), а также такие более редкие перестройки кариотипа, как: а) 46,XY, +1, dic(1;15)(p11;p11) (№ 16); б) 46,XY, t(6;12)(p21;p13) (№ 17). Следует отметить, что у 4 пациентов с различными изменениями кариотипа (№ 1, 3, 5 и 12) имела место гиперэкспрессия гена *EVII* с максимальными показателями экспрессии 16–34 копии/10⁴ копий гена *ABL*.

Поскольку на результаты основного исследования могло повлиять назначение части больных ГА в предтрансплантационный период и/или после аллоТГСК с подготовительной и/или лечебной целью, мы представили эту информацию отдельно ниже, в табл. 3. Число курсов ГА варьировало от 1 до 13, причем часть из них

комбинировалась с ИДЛ. Естественно, в условиях такой терапии состояние гемопозеза у некоторых больных существенно улучшалось.

Терапия гипометилирующими агентами и инфузии донорских лимфоцитов

Перед аллоТГСК 65 % больных получали азацитидин (Вайдаза) или децитабин (Дакоген). В дополнение эти же препараты подключали к проводимой терапии на посттрансплантационном этапе у больных с повышенным риском развития рецидивов (№ 9 и 11), а также при обнаружении молекулярных маркеров — предшественников рецидивов (№ 13). У больных № 7, 9, 11 и 17 лечение ГА комбинировали с ИДЛ (табл. 3).

Экспрессия гена *WT1*

Как видно из данных, представленных на рис. 2 и в табл. 4, повышенная экспрессия гена *WT1* (> 250 копий/10⁴ копий гена *ABL*) имела место у 14 из 17 обследованных больных, а ее максимальный уровень был в пределах 275–43 113 копий. По нашим данным, у половины больных (№ 1, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12 и 16) максимальный уровень экспрессии гена *WT1* был выше 1000/10⁴ копий гена *ABL*. У 3 других пациентов (№ 3, 8 и 10) уровень экспрессии *WT1* занимал промежуточное положение и составлял 250–1000/10⁴ копий гена *ABL*, а у

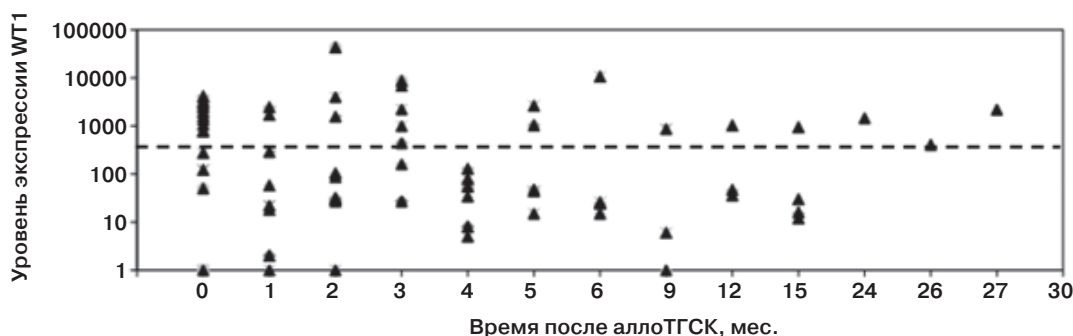


Рис. 2. Результаты серийного измерения уровня экспрессии гена *WT1* у 17 больных МДС до и в различные сроки после аллотГСК. Иллюстрация сохранения повышенной экспрессии гена *WT1* у большинства пациентов. Пунктирной линией обозначен пороговый уровень экспрессии гена *WT1* 250 копий/ 10^4 копий гена *ABL*

2 больных РАИБ-1 и 2 — с РАИБ-2 (№ 2, 13, 15 и 17) не превышал порогового значения. Уровень экспрессии гена *WT1* прогностически не зависел от возраста и пола пациентов, варианта МДС, кариотипа клеток и даже относительного содержания бластных клеток в изучаемых тканях. Что касается литературных данных, то такая корреляция с содержанием бластных элементов была отмечена как при ОМЛ ($r = 0,56; p < 0,01$) [17, 32], так и у больных МДС без предшествующего лечения ($r = 0,51$) [26]. Отсюда правомочно допущение, что основной причиной несоответствия содержания бластных клеток и уровня экспрессии гена *WT1* у этих больных МДС могло быть лечение ГА, с помощью которого возможно достижение гематологических и даже цитогенетических ремиссий приблизительно в половине наблюдений [33–35]. В качестве альтернативного объяснения может быть также рассмотрена возможность экспрессии гена *WT1* клетками, не входящими в бластный и стволово-клеточный субстрат МДС [26].

Иллюстрацией сказанному служит история болезни больной с РАИБ-2 (№ 9), у которой начальный кариотип клеток был не изменен, а 7,8–17,0 % кроветворных элементов в костном мозге были представлены бластными клетками. После аллотГСК содержание бластных элементов на какое-то время достигло контрольных цифр, что сопровождалось высоким уровнем донорского химеризма. Однако в марте — июне 2012 г. содержание бластных клеток в костном мозге стало увеличиваться, нарастала экспрессия гена *WT1* до уровня 942 копии/ 10^4 копий гена *ABL* (см. табл. 4). С другой стороны, в период с августа 2012 г. по декабрь 2013 г. уровень экспрессии гена *WT1* стал неуклонно увеличиваться, а донорский химеризм уменьшаться (до 10–5 %), в то время как умеренное повышение содержания бластных элементов в костном мозге (до 6,4 %) было зафиксировано лишь однократно. Из данных табл. 3 следует, что именно в это время больная получала азациитин и ИДЛ как с профилактической, так и с лечебной целью, что, естественно, могло положительно отразиться на снижении уровня бластных клеток. Однако ввиду явных морфологических и молекулярных признаков посттрансплантационного рецидива МДС больной была предложена повторная неродственная аллотГСК от полностью совместимого неродственного донора, которая была выполнена 09.01.2014 г. Несмотря на достигнутое после аллотГСК восстановление гемопоэза и донорского химеризма, больная умерла. Причиной смерти стало прогрессирование заболевания на фоне инфекционных осложнений и полиорганной недостаточности.

У другого больного с РАИБ-1 (№ 11) и исходно неизменным кариотипом содержание бластных клеток в костном мозге на предтрансплантационном этапе достигало 5,6–10,0 %, а уровень экспрессии гена *WT1* был достаточно высоким (3204 копии/ 10^4 копий гена *ABL*). АллотГСК (09.08.2012 г.) была неэффективной, поскольку уменьшение донорского химеризма до 5–10 % было зафиксировано уже через месяц. Начиная с октября 2012 г. число бластных клеток в костном мозге и в крови увеличилось до 49 и 21 % соответственно. В свою очередь, рост числа бластных клеток сопровождался отчетливым увеличением уровня экспрессии гена *WT1* до 11 486 копий/ 10^4 копий гена *ABL*. На основании полученных данных была констатирована трансформация МДС в острый лейкоз (ОЛ), что послужило поводом для проведения повторной аллотГСК (02.04.2013 г.). К сожалению, эффект аллотГСК был недолгим. Высокий донорский химеризм и отсутствие бластных элементов в костном мозге сохранялись лишь до июня 2012 г. К этому времени результаты контрольных исследований позволили диагностировать рецидив ОЛ с увеличением содержания бластных клеток в костном мозге и крови до 32–50 и 41 % соответственно. Неудивительно, что на этом фоне увеличение экспрессии гена *WT1* достигло наивысших значений (43 113 и 38 895 копий/ 10^4 копий гена *ABL*). Справиться с таким посттрансплантационным рецидивом ОЛ не удалось. Как и у предыдущей больной, причиной смерти стало прогрессирование основного заболевания.

Напротив, у больного № 13 с диагнозом РАИБ-2 и кариотипом клеток 46,XY, t(3;5)(q25;q34) (рис. 3) из-за быстрого неприживания трансплантата аллотГСК оказалась неэффективной, что привело к восстановлению исходного патологического гемопоэза. Несмотря на это, с помощью длительной (13 курсов) поддерживающей терапии азациитином удовлетворительное качество жизни сохранялось у этого пациента в течение 1,5 года.

На наш взгляд, определенный теоретический и клинический интерес представляют также данные больной № 4, у которой МДС сформировался на фоне апластической анемии, что сопровождалось наличием в кариотипе моносомии 7, нарастанием в костном мозге числа бластных клеток до 12,6 % и отчетливо повышенным уровнем экспрессии гена *WT1* до 1597 и 795 копий/ 10^4 копий гена *ABL*. АллотГСК от полностью совместимого неродственного донора (25.10.2012 г.) из-за неприживания трансплантата оказалась неэффективной, так же как и предпринятая вскоре после этого (07.12.2012 г.) трансплантация от гаплоидентичной матери. Однако

Таблица 4. Лабораторный мониторинг больных с миелодиспластическими синдромами, перенесших аллотГСК

Пациент №	Диагноз	ТГСК		Молекулярные маркеры		Бластные клетки в костном мозге/крови, %	Дата смерти, причина	
		Вид	Дата	Дата анализа	WT1			Донорский химеризм, %
1	РАИБ-1	Алло, н/р, ж	2.02.12	18.01.12	3151		3,4/7,0	РТПХкш 30.10.12
				25.01.12	н/о		-/2,0	
				2.02.12	н/о		-/-	
				27.02.12	2,1	80–90	0,6/0	
				16.04.12	29,5	80–90	0,8/0	
				14.05.12	27,3	90–95	1,6/0	
				27.06.12	8,1	> 95	0,2/0	
2	РАИБ-1	Алло, н/р, м	11.05.12	7.06.11	н/о		0,4/0	
				21.12.11	122,0		6,4/0	
				28.05.12	21,5	90–95	3,2/0	
				29.06.12	н/о	> 95	7,0/0	
				3.07.12	н/о	> 95	0,8/0	
				12.07.12	н/о	> 95	0,4/0	
				9.08.12	н/о	> 95	2,0/0	
				4.09.12	н/о	> 95	2,6/0	
				15.10.12	44	н/о	-/-	
				14.01.13	н/о	> 95	2,4/0	
				28.02.13	н/о	> 95	5,0/0	
				29.07.13	н/о	> 95	-/-	
				14.08.13	36,2	-	-/-	
				14.11.13	12	-	3,4/0	
3	ЮММЛ	Гапло, р, ж	13.03.12	15.07.10	н/о		-/-	19.06.14+
				28.02.11	н/о		11,0/5,0	
				26.09.11	н/о		12,2/-	
				2.04.12	н/о	< 5	-/-	
				9.04.12	н/о	< 5	18,0/	
				16.04.12	н/о	< 5	-/-	
				28.05.12	н/о	< 5	5,0/-	
				17.07.12	н/о	н/о	8,0/-	
				21.03.13	н/о	н/о	5,6/-	
				18.11.13	н/о	н/о	10,0/-	
				23.12.13	н/о	н/о	-/5,0	
				3.02.14	864	н/о	42,2/-	
				5.03.14	н/о	н/о	14,0/-	
4	РАИБ-2	Алло, н/р, ж	15.03.12	30.01.07	н/о	н/о	0,8/0	
				13.05.08	н/о	н/о	0,6/0	
				5.03.09	н/о	н/о	0,2/0	
				15.03.12	н/о	н/о	0,8/0	
				26.04.12	1597	н/о	1,8/0	
				23.07.12	н/о	н/о	0,6/0	
				15.10.12	795	н/о	12,6/0	
				22.10.12	н/о	н/о	-/0	
				19.11.12	н/о	< 5	0/0	
				4.12.12	н/о	н/о	-/0	
				18.12.12	н/о	н/о	-/0	
				22.12.12	н/о	н/о	-/0	
				22.12.12				
5	ЮММЛ	Алло, р, ж	11.12.13	17.10.13	н/о		12,0/7,0	11.05.14
				25.11.13	1072		10,8/8,0	
				5.12.13	н/о		8,2/6,0	
				9.01.14	288	80–90	2,8/-	
				5.02.14	1565	10–20	8,2/-	
				23.03.14	н/о	н/о	-/0	
				24.04.14	6917	н/о	33,4/0	
6	РАИБ-1	Алло, н/р, м	5.06.13	22.05.13	4162		9,0/0	19.06.14+
				24.06.13	н/о	90–95	0,4/0	
				17.07.13	2462	> 95	6,2/0	
				1.08.13	86,5	> 95	5,0/0	
				5.09.13	н/о	> 95	3,8/0	
				4.10.13	129	> 97	н/о	
				10.12.13	48	100	0,2/0	
				12.03.14	24	> 97	1,8/0	
				21.10.13	н/о		5,6/0	
				18.11.13	18	80–89	0,8/0	
7	РАИБ-2	Сиблинг, м	31.10.13	18.12.13	н/о	> 97	1,2/0	19.06.14+
				27.01.14	441	80–89	н/о	
				5.02.14	н/о	80–89	11,0/0	
				17.03.14	1033	40–49	28,2/0	
				18.04.14	н/о	70–79	31,4/1,0	
				16.05.14	30	> 97	1,2/1,0	
				28.05.14	72	> 97	0/0	
				19.06.14	н/о	н/о	н/о	
				18.11.13	н/о	> 97	1,2/0	
				27.01.14	441	80–89	н/о	

Продолжение на след. странице

Таблица 4. Продолжение

Пациент №	Диагноз	ТГСК		Молекулярные маркеры		Бластные клетки в костном мозге/крови, %	Дата смерти, причина	
		Вид	Дата	Дата анализа	WT1			Донорский химеризм, %
8	РАКС	Сиблинг, ж	18.10.12	6.08.09	н/о		2,6/-	
				9.04.12	н/о		-/-	
				15.05.12	н/о		9,0/-	
				10.10.12	н/о	н/о	1,4/0	
				7.11.12	н/о	80–90	-/0	
				27.12.12	н/о	90–95	0/0	
				10.01.13	н/о	70–80	0,2/0	
				30.01.13	н/о	90–95	0/-	
				11.03.13	н/о	90–95	0,6/	
				29.03.13	20.03.13	55	90–95	-/0
				24.04.13	н/о	90–95	1,0/0	
				6.05.13	н/о	> 95	-/0	
				22.07.13	н/о	> 95	-/0	
				27.11.13	н/о	> 95	-/0	
23.05.14	н/о	> 95	1,2/0	19.06.14+				
9	РАИБ-2	Алло, н/р, м	20.05.10	30.09.09	н/о	н/о	7,8/0	
				12.11.09	н/о	н/о	10,4/0	
				12.01.10	н/о	н/о	4,0/-	
				8.02.10	н/о	н/о	17,0/0	
				18.03.10	н/о	н/о	16,4/0	
				9.06.10	н/о	97	1,5/0	
				21.06.10	н/о	80–90	4,8/0	
				5.07.10	н/о	> 95	3,8/0	
				26.08.10	н/о	> 95	1,2/0	
				17.09.10	н/о	> 95	-/0	
				7.10.10	н/о	> 95	1,2/0	
				19.11.10	н/о	80–90	-/0	
				24.11.10	н/о	90–95	2,8/0	
				17.12.10	н/о	> 95	-/0	
				30.12.10	н/о	80–90	-/0	
				13.01.11	н/о	90–95	-/0	
				16.02.11	н/о	н/о	-/0	
				2.03.11	н/о	н/о	-/0	
				30.03.11	н/о	н/о	-/0	
				23.05.11	н/о	н/о	-/0	
				31.08.11	н/о	80–90	3,0/0	
				21.12.11	н/о	50–60	4,2/0	
				18.01.12	н/о	40–50	3,4/0	
				26.03.12	н/о	30–40	7,6/0	
				18.04.12	н/о	30–40	3,4/0	
				16.05.12	н/о	н/о	0,6/0	
				20.05.12	н/о	5–10	0,6/2,0?	
				20.06.12	942	30–40	5,2/0	
				27.06.12	н/о	30–40	-/0	
				25.07.12	н/о	20–30	2,4/0	
				20.08.12	1450	10–20	-/0	
				26.09.12	407	10–20	3,2/0	
				5.10.12	н/о	10–20	-/-	
				14.11.12	1225	5–10	0,4/0	
14.02.13	1221	20–30	0,6/0					
17.06.13	н/о	30–40	2,6/0					
4.07.13	н/о	10–20	-/0					
25.09.13	2190	< 5	7,6/0					
2.10.13	н/о	н/о	0,8/					
12.11.13	н/о	н/о	6,4/0					
2.12.13	2747	н/о	0,8/0					
9.01.14	23.01.14	н/о	20–29	2,0/0				
30.01.14	н/о	н/о	-/0					
6.02.14	н/о	> 97		Прогрессирование				
6.03.14	н/о	> 97	0,4/0	8.04.14				
10	РА	Алло, н/р, ж	19.12.12	14.11.12	275	н/о	4,0/0	
				24.01.13	0	> 95	0,6/0	
				14.02.13	0	> 95	0/0	
				16.05.13	н/о	> 95	1,0/0	
				15.07.13	н/о	> 95	0,4/0	
				29.10.13	26	> 97	2,0/0	
				27.01.14	6	> 97	1,0/0	
				29.03.14	5	> 95	0/0	
14.05.14	15	> 97	1,0/0	19.06.14+				
11	РАИБ-1			12.01.12	н/о		5,6/0	
				24.02.12	н/о		-/0	

Продолжение на след. странице

Таблица 4. Продолжение

Пациент №	Диагноз	ТГСК		Молекулярные маркеры		Бластные клетки в костном мозге/крови, %	Дата смерти, причина
		Вид	Дата	Дата анализа	WT1		
12	РАИБ-2	Алло, н/р, ж	9.08.12	29.02.12	3204		10,0/-
				17.04.12	н/о		4,0/-
				19.07.12	н/о		2,0/-
				6.08.12	н/о		-/0
				28.08.12	н/о	80–90	-/0
				20.09.12	н/о	5–10	-/0
				8.10.12	27	< 5	3,8/0
				18.10.12	н/о	< 5	-/0
				23.10.12	н/о	н/о	6,6/0
				8.11.12	2220	н/о	5,0/0
				21.11.12	80	н/о	-/0
				26.11.12	2638	< 5	2,8/0
				4.01.13	н/о	н/о	-/20,0
				7.01.13	н/о	н/о	/4,0
				31.01.13	11 468	< 5	31,6/13,0
				14.02.13	10 687	н/о	31,8/21,0
				21.03.13	50	< 5	49,4/20,0
				29.04.13	н/о	> 95	0,4/-
				16.05.13	н/о	> 95	-/-
				31.05.13	н/о	> 95	-/-
				20.06.13	43 113	80–90	31,8/-
				25.06.13	н/о	> 95	-/0
				8.07.13	н/о	н/о	-/5,0
				11.07.13	н/о	80–90	-/14,0
				15.07.13	н/о	80–90	-/21,0
				23.07.13	8686	10–20	49,8/41,0
				13.08.13	н/о	20–30	26,0/0
				15.08.13	н/о	н/о	41,0/0
				29.08.13	н/о	н/о	-/0
				Прогрессирование 27.09.2013			
13	РАИБ-2	Алло, н/р, ч/с, м	14.06.12	2.12.10	н/о		7,2/-
				2.02.11	н/о		6,6/-
				25.04.11	н/о		6,4/-
				18.01.12	764		-/-
				18.04.12	н/о		7,4/-
				23.05.12	1361		11,2/0
				13.06.12	н/о		0/-
				27.06.12	58		3,8/0
				11.07.12	105	> 95	5,0/0
				5.09.12	34	> 97	2,2/0
				28.02.13	15	> 97	1,4/0
				21.08.13	н/о	> 95	1,2/0
				25.09.13	0	> 95	0,8/0
				6.11.13	47	> 97	7,0/0
				18.06.14	16	> 97	1,4/0
14	РАИБ-2	Алло, н/р, м	24.04.12	23.12.11	н/о		3,0/0
				4.04.12	2439		0,4/0
				14.05.12	н/о	< 5	4,0/-
				21.05.12	н/о	< 5	0,5/-
				24.05.12	н/о	н/о	2,5/
				31.05.12	н/о	< 5	-/0
				4.06.12	н/о	н/о	0,8/0
				13.06.12	н/о	< 5	0/0
				26.09.12	160	н/о	-/-
				Прогрессирование 9.02.14			
15	РЦМД	Алло, н/р, ж	28.05.10	15.02.09	н/о		8,4/-
				3.03.09	н/о		12,2/-
				23.09.09	н/о		2,6/0
				26.11.09	н/о		0,2/0
				21.04.10	н/о		2,8/0
				7.05.10	1952		-/-
				5.06.10	н/о		2,4/0
				24.06.10	н/о		0/0
				8.07.10	н/о	> 95	1,0/0
				2.08.10	н/о	> 95	2,4/0
				9.08.10	н/о	> 95	-/-
				17.04.11	н/о	н/о	-/-
				19.08.10	н/о	н/о	0/0
15	РЦМД	Алло, н/р, м	19.02.13	9.01.10	н/о		3,8/0
				28.04.11	н/о		-/0
				17.01.12	0		-/0
				7.02.13	н/о		0/0
				5.03.13	н/о	> 95	-/-
19.03.13	н/о	> 95	-/-				

Таблица 4. Окончание

Пациент №	Диагноз	ТГСК		Молекулярные маркеры		Бластные клетки в костном мозге/крови, %	Дата смерти, причина					
		Вид	Дата	Дата анализа	<i>WT1</i>			Донорский химеризм, %				
16	РАИБ-1	Алло, н/р, ж	14.04.11	28.03.13	н/о	> 95	3,2/0	19.06.14+				
				18.04.13	н/о	> 95	-/0					
				20.05.13	н/о	> 95	2,2/0					
				19.06.13	н/о	н/о	2,2/0					
				4.04.08	н/о		6,0/0					
				10.02.09	н/о		6,0/0					
				5.10.10	н/о		0,2/0					
				3.05.11	н/о	80–90	-/0					
				26.05.11	н/о	90–95	-/0					
				16.06.11	н/о	90–95	-/0					
				28.08.11	н/о	> 95	1,0/0					
				24.10.11	н/о	> 95	3,8/0					
				5.12.11	н/о	> 95	1,2/0					
				20.02.12	н/о	> 95	2,4/0					
28.05.12	1025	н/о	3,4/0									
1.10.12	30	> 95	0,6/0									
20.03.13	163	> 95	2,8/0									
20.05.13	н/о	н/о	2,4/0									
5.09.13	137	> 95	0,8/0									
10.04.14	24	> 95	2,0/0									
17	РАИБ-2	Алло, н/р, ж	27.02.13	16.08.12	н/о		6,0/6,0	Прогрессирование 29.06.13				
				15.11.12	н/о		15,0/6,0					
				18.12.12	н/о		7,7/					
				20.02.13	н/о		2,6/0					
				21.03.13	147	90–95	2,6/0					
				27.03.13	1706	н/о	1,8/0					
				3.04.13	4000	10–20	31,8/-					
				22.04.13	н/о	н/о	-/0					
				6.05.13	997	10	3,0/0					
				20.05.13	н/о	10	24,0/0					
				ОЛ	Гапло, р, ж	6.06.13	20.05.13					

«-» — данные неизвестны; алло — аллогенная; ауто — аутологичная; гапло — гаплоидентичная; н/о — не определяли; н/р — неродственная; ОЛ — острый лейкоз; р — родственная; РТПХкш — реакция «трансплантат против хозяина» с поражением кишечника; ч/с — частично совместимая.

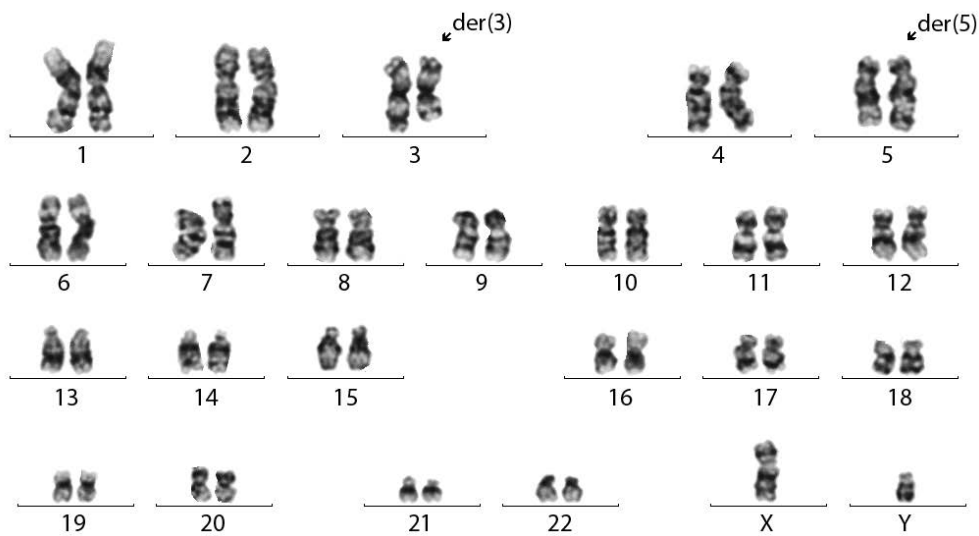


Рис. 3. Кариотип клеток костного мозга больного (№ 13) с РАИБ-2 [46,XY, t(3;5)(q25;q34)]. В условиях неприживления трансплантата заболевание протекало относительно благоприятно на фоне непрерывной (13 курсов) терапии азацитидином

следует иметь в виду, что на предтрансплантационном этапе этой пациентке было проведено 3 курса терапии децитабином, что могло способствовать как двукратному снижению уровня экспрессии гена *WT1*, так и углублению цитопении. Альтернативным объяснением нарастающей цитопении могло быть прогрессирование заболевания, на что указывает наибольший (12,6 %) для данной больной уровень бластных клеток в костном мозге.

Анализ результатов экспрессии гена *WT1* при МДС показал, что динамика этого молекулярного маркера

была неоднозначной как на этапе подготовки к аллоТГСК, так и после ее выполнения. В частности, у ряда больных уровень экспрессии гена *WT1* после аллоТГСК стойко снижался (№ 1, 6, 10, 12 и 13), что сопровождалось снижением числа бластных клеток в костном мозге и исчезновением их из крови. Напротив, у других пациентов уровень экспрессии гена *WT1* после аллоТГСК оставался высоким (№ 5, 9 и 11). Следует отметить, что у большинства больных с посттрансплантационными рецидивами МДС (№ 4, 7, 8, 10 и 12) зафиксированное

молекулярным исследованием изменение уровня экспрессии гена *WT1* и выявленные цитологическими методами изменения содержания бластов в анализируемых тканях носили сопряженный характер. С другой стороны, у некоторых пациентов (№ 11) морфологические признаки рецидива существенно отставали от молекулярных. Это давало реальный шанс как для предупреждения развития рецидива, так и его коррекции. В соответствии с общепринятой тактикой при появлении молекулярных, цитогенетических или морфологических признаков посттрансплантационных ремиссий иммуносупрессивную терапию следует отменять, а в протоколы лечения следует включать ИДЛ, а также ГА и, реже, цитостатические средства.

ОБСУЖДЕНИЕ

Основная цель данного исследования — оценить возможности серийного измерения уровня экспрессии гена *WT1* для раннего распознавания посттрансплантационных рецидивов МДС, которые встречаются приблизительно у половины пациентов с аллоТГСК.

Как видно из представленного материала, уровень экспрессии гена *WT1* был повышен у подавляющего большинства больных МДС и может быть использован в диагностике и мониторинге. В нашей, довольно гетерогенной по возрасту, цитологическим и цитогенетическим параметрам группе больных МДС эти уровни варьировали в очень широких пределах (от 0 до 43 133 копий/10⁴ копий гена *ABL*). Они практически не зависели от возраста и пола больных, цитогенетического профиля опухолевых элементов и даже от относительного содержания бластных клеток в костном мозге или крови.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что посттрансплантационные рецидивы МДС, включая трансформацию их в ОЛ, имели место у 9 (53 %) из 17 пациентов. Главными критериями для их документации стали: а) увеличение (> 5 %) содержания бластных клеток в костном мозге; б) появление бластных клеток в крови; в) обнаружение в исследуемых тканях клеток с исходным аномальным кариотипом. В свете этих данных повышенная экспрессия гена *WT1* в некоторых наблюдениях (№ 11) явно предшествовала цитологически распознаваемому рецидиву, в то время как у других пациентов эти события по времени совпадали. При этом средний уровень экспрессии гена *WT1* в период трансформации МДС в ОЛ ($n = 5$) равнялся 4305 копиям при диапазоне 864–11 468 копий/10⁴ копий гена *ABL*. Для сравнения, в недавно опубликованной работе [17] средний уровень экспрессии гена *WT1* ко времени постановки диагноза ОМЛ у 110 больных равнялся 9379 копиям при диапазоне от 1 до 83 200 копий/10⁴ копий гена *ABL*. При этом была отмечена высокая зависимость уровня экспрессии гена *WT1* от содержания бластных клеток в костном мозге ($p = 0,024$), но не в крови пациентов молодого возраста ($p = 0,019$), а также наличия у них мутации гена *FLT3* ($p = 0,0008$).

На наш взгляд, помимо неоднородности обследованной группы пациентов с МДС одной из причин большого диапазона данных по экспрессии гена *WT1* могла быть предпринятая нами попытка предупредить рецидив с помощью ГА и ИДЛ (см. табл. 3), что хорошо иллюстрирует приведенная выше история болезни № 9. Нельзя также игнорировать тот факт, что феномен по-

вышения числа бластных клеток при МДС и ОЛ может по-разному отражаться на течении заболевания. В частности, в случае прогрессирования или успешного лечения ОЛ опухолевая масса изменяется значительно быстрее, чем при МДС, в т. ч. трансформирующегося в ОЛ. При МДС бластные клетки в костном мозге могут сохраняться длительное время, в т. ч. за счет дисрегуляции апоптоза [35]. Если это так, то сам факт повышения экспрессии гена *WT1* у большинства больных МДС представляется чрезвычайно важным и в теоретическом, и в практическом плане. Во-первых, этот феномен позволяет отграничить МДС от различных гипопластических состояний [26]. Во-вторых, сам факт регистрации у больных МДС нарастания уровня экспрессии гена *WT1* может быть одним из признаков увеличения опухолевой массы, что может служить аргументом в пользу применения как ИДЛ, так и ГА. Важно то, что такое лечение желательно проводить в условиях молекулярного мониторинга, включающего серийное измерение уровня экспрессии гена *WT1*.

По нашим данным, эффект ГА и ИДЛ в посттрансплантационный период у ряда пациентов был несомненным. В частности, один из пациентов (№ 13), несмотря на неприживление трансплантата и быстрое восстановление аутологичного патологического гемопоэза, на фоне повторных курсов азациитидина в течение 1,5 года сохранял удовлетворительное состояние. Кроме того, терапия ГА и ИДЛ оказались также эффективными у нескольких больных с возникшими после аллоТГСК вторичными ОЛ (№ 11 и 17).

Таким образом, контролируемая молекулярным мониторингом профилактика и лечение рецидивов МДС, так же как и ОЛ [9, 10], представляются результативными. Однако для более достоверной оценки этого эффекта молекулярный мониторинг должен проводиться не беспорядочно, а строго по протоколу, с обязательным ежемесячным взятием проб крови для контроля уровня экспрессии гена *WT1* в первые 3 мес. после аллоТГСК и дальнейшим урежением анализов крови: сначала до 2 раз в полгода, затем до 2 раз в год. В случае же зафиксированного нарастания уровня экспрессии гена *WT1* в одной из проб все последующие анализы крови на экспрессию гена *WT1* должны проводиться чаще. Можно надеяться, что такой молекулярный подход найдет применение не только для раннего выявления посттрансплантационных рецидивов МДС, но и в повседневной практике ведения больных в условиях стандартного лечения.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы подтверждают отсутствие скрытых конфликтов интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Barrett A.J., Battiwala M. Relapse after allogeneic stem cell transplantation. *Exp. Rev. Hematol.* 2012; 3(4): 429–41.
2. Tamura K., Kanazawa T., Suzuki M. et al. Successful rapid discontinuation of immunosuppressive therapy at molecular relapse after allogeneic bone marrow transplantation in a pediatric patient with myelodysplastic syndrome. *Am. J. Hematol.* 2006; 81: 139–41.
3. Wertheim G.B., Bagg A. Minimal residual disease testing to predict relapse following transplant for AML and high-grade myelodysplastic syndromes. *Exp. Rev. Mol. Diagn.* 2011; 11(4): 361–6.
4. Brieger J., Weidmann E., Fenchel K. et al. The expression of the Wilms' tumor gene in acute myelocytic leukemias as a possible marker for leukemic blast cells. *Leukemia.* 1994; 8: 2138–43.

5. Inoue K., Sugiyama H., Ogawa H. et al. WT1 as a new prognostic factor and a new marker for the detection of minimal residual disease in acute leukemia. *Blood*. 1994; 84: 3071–9.
6. Inoue K., Ogawa H., Yamagami T. et al. Long-term follow-up of minimal residual disease in leukemia patients by monitoring WT1 (Wilms tumor gene) expression levels. *Blood*. 1996; 88: 2267–78.
7. Tamaki H., Ogawa H., Inoue K. et al. Increased expression of the Wilms tumor gene (WT1) at relapse in acute leukemia. *Blood*. 1996; 88: 4396–8.
8. Patmasirivat P., Fraizer G., Kantarjian H. et al. WT1 and GATA1 expression in myelodysplastic syndrome and acute leukemia. *Leukemia*. 1999; 13: 891–900.
9. Ogawa H., Ikegame K., Kawakami M., Tamaki H. WT1 gene transcript assay for relapse in acute leukemia after transplantation. *Leuk. Lymphoma*. 2004; 45: 1747–53.
10. Cilloni D., Gottardi E., De Micheli D. et al. Quantitative assessment of WT1 expression by real time quantitative PCR may be a useful tool for monitoring minimal residual disease in acute leukemia patients. *Leukemia*. 2002; 16: 2115–21.
11. Cilloni D., Messa F., Arruga F. et al. Early prediction of treatment outcome in acute myeloid leukemia by measurement of WT1 transcript levels in peripheral blood samples collected after chemotherapy. *Haematologica*. 2008; 93: 921–4.
12. Candoni A., Tribelli M., Cilloni D. et al. Quantitative assessment of WT1 gene expression after allogeneic stem cell transplantation is a useful tool for monitoring minimal residual disease in acute myeloid leukemia. *Eur. J. Haematol*. 2009; 82: 61–8.
13. Miyawaki S., Hatsumi N., Tamaki T. et al. Prognostic potential of detection of WT1 mRNA level in peripheral blood in adult acute myeloid leukemia. *Leuk. Lymphoma* 2010; 51: 1855–61.
14. Zhao X.-S., Jin S., Zhu H.-H. et al. Wilms' tumor gene 1 expression: an independent acute leukemia prognostic indicator following allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2012; 47: 499–507.
15. Nomdedeu J.F., Hoyos M., Carricondo M. et al. Bone marrow WT1 levels at diagnosis, post-induction and post-intensification in adult de novo AML. *Leukemia*. 2013; 27: 2157–64.
16. Pozzi S., Geroldi S., Tedone E. et al. Leukaemia relapse after allogeneic transplants for acute myeloid leukaemia: predictive role of WT1 expression. *Br. J. Haematol*. 2013; 160: 503–9.
17. Frairia Ch., Aydin S., Riera L. et al. WT1 expression in acute myeloid leukemia: a useful marker for improving therapy response evaluation. *Blood*. 2013; 123(21): 2588.
18. Tamaki H., Ogawa H., Ohyashiki K. et al. The Wilms' tumor gene is a good marker for diagnosis of disease progression of myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 1999; 13: 393–9.
19. Patmasirivat P., Fraizer G., Kantarjian H. et al. WT1 and GATA1 expression in myelodysplastic syndrome and acute leukemia. *Leukemia*. 1999; 13: 891–900.
20. Cilloni D., Gottardi E., Messa F. et al. Significant correlation between the degree of WT1 expression and the international prognostic scoring system score in patients with myelodysplastic syndromes. *J. Clin. Oncol*. 2003; 21: 1988–95.
21. Cilloni D., Saglio G. WT1 as a universal marker for minimal residual disease detection and quantification in myeloid leukemias and in myelodysplastic syndrome. *Acta Haematologica*. 2004; 112: 79–84.
22. Абдулкадыров К.М., Грицаев С.В., Капустин С.И. и др. Экспрессия гена опухоли Вилмса (WT1) в клетках крови больных миелодиспластическим синдромом. *Вопросы онкологии* 2004; 50(6): 668–71.
- [Abdulkadyrov K.M., Gritsaev S.V., Kapustin S.I. et al. Wilms tumor gene (WT1) expression in blood cells of patients with myelodysplastic syndrome. *Voprosy Onkologii*. 2004; 50(6): 668–71. (In Russ.)]
23. Bader P., Niemeier C., Weber G. et al. WT1 gene expression: useful marker for minimal residual disease in childhood myelodysplastic syndromes and juvenile myelomonocytic leukemia? *Eur. J. Haematol*. 2004; 73: 25–8.
24. Iwasaki T., Sugisaki C., Nagata K. et al. Wilms' tumor 1 message and protein expression in bone marrow failure syndrome and acute leukemia. *Pathol. Int*. 2007; 57: 645–51.
25. Qin Y.-Z., Zhu H.-H., Liu Y.-R. et al. PRAME and WT1 transcripts constitute a good molecular marker combination for monitoring minimal residual disease in myelodysplastic syndromes. *Leuk. Lymphoma*. 2012; DOI: 10.3109/10428194.2012.743656.
26. Ueda Y., Mizutani C., Nannya Y. et al. Clinical evaluation of WT1 mRNA expression levels in peripheral blood and bone marrow in patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk. Lymphoma*. 2013; 54(7): 1450–8.
27. Lange T., Hubmann M., Burkhardt R. et al. Monitoring of WT1 expression in PB and CD34+ donor chimerism of BM predicts early relapse in AML and MDS patients after hematopoietic cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Leukemia*. 2011; 25: 498–505.
28. Maurer U., Brieger J., Weidmann E. et al. The Wilms' tumor gene is expressed in a subset of CD34+ progenitors and downregulated early in the course of differentiation in vitro. *Exp. Hematol*. 1997; 25: 945–50.
29. Kwon M., Marti nez-Laperche C., Infante M. et al. Evaluation of minimal residual disease by real-time quantitative PCR of Wilms' Tumor 1 expression in patients with acute myelogenous leukemia after allogeneic stem cell transplantation: correlation with flow cytometry and chimerism. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2012; 18: 1235–42.
30. Jacobsen D.A., Tse W.T., Chaleff S. et al. High WT1 gene expression before haematopoietic stem cell transplant in children with acute myeloid leukaemia predicts poor event-free survival. *Br. J. Haematol*. 2009; 146: 669–74.
31. Мамаев Н.Н., Горбунова А.В., Гиндина Т.Л. и др. Лейкозы и миелодиспластические синдромы с высокой экспрессией гена *EV11*: теоретические и клинические аспекты. *Клин. онкогематол*. 2012; 5(4): 361–4.
- [Mamaev N.N., Gorbunova A.V., Gindina T.L. et al. Leukemias and myelodysplastic syndromes with high *EV11* gene expression: theoretical and clinical aspects. *Klin. Onkogematol*. 2012; 5(4): 361–4. (In Russ.)]
32. Alonso-Dominguez J.M., Tenorio M., Velasco D. et al. Correlation of WT1 expression with the burden of total and residual leukemic blasts in bone marrow samples of acute myeloid leukemia patients. *Cancer Gen*. 2012; 205: 190–1.
33. Gerdts A.T., Deeg H.J. Transplantation for myelodysplastic syndrome in the era of hypomethylating agents. *Curr. Opin. Hematol*. 2012; 19: 71–5.
34. Nishihori T., Perkins J., Mishra A. et al. Pretransplantation 5-Azacytidine in high-risk myelodysplastic syndrome. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2014; 20: 776–80.
35. Raza A., Gezer S., Mundle S. et al. Apoptosis in bone marrow biopsy samples involving stromal and hematopoietic cells in 50 patients with myelodysplastic syndromes. *Blood*. 1995; 86(1): 268–76.

