

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ КОСТНОГО МОЗГА

BONE MARROW TRANSPLANTATION

Анализ хромосомных нарушений у детей и подростков с посттрансплантационными рецидивами острых лейкозов

Т.Л. Гиндина, Н.Н. Мамаев, Е.Н. Николаева, И.А. Петрова, С.Н. Бондаренко, А.Л. Алянский, Н.В. Станчева, О.А. Слесарчук, М.Ю. Аверьянова, Л.С. Зубаровская, Б.В. Афанасьев

НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197022

Analysis of Karyotype Aberrations in Children and Adolescents with Post-Transplantation Relapses of Acute Leukemias

TL Gindina, NN Mamaev, EN Nikolaeva, IA Petrova, SN Bondarenko, AL Alyanskiy, NV Stancheva, OA Slesarchuk, MYu Aver'yanova, LS Zubarovskaya, BV Afanas'ev

R.M. Gorbacheva Scientific Research Institute of Pediatric Hematology and Transplantation; Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, 6/8 L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197022

РЕФЕРАТ

Цель. Анализ изменений кариотипа при рецидивах после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) у детей и подростков с острыми лейкозами, оценка связи изменений кариотипа с показателями безрецидивной и общей выживаемости (ОВ) после рецидивов, выделение прогностических групп на основании клинических и цитогенетических характеристик опухоли.

Методы. Цитогенетические исследования были проведены 30 детям и 15 подросткам (26 лиц мужского пола и 19 — женского в возрасте 1,2–21 год, медиана 10 лет) с посттрансплантационными рецидивами (ПТР) острых миелоидных ($n = 27$) и острых лимфобластных лейкозов ($n = 18$). Анализ изменяющихся хромосомных нарушений проводили путем сравнения кариотипов при ПТР с таковыми до аллоТГСК.

Результаты. Изменения кариотипа при ПТР были отмечены у 29 (64 %) больных. Наличие 2 и более аномальных цитогенетических клонов наблюдалось у 10 (34 %) пациентов с ПТР. Дополнительные хромосомные перестройки, приобретаемые при ПТР, касались прежде всего хромосом 1, 11 и 19. ОВ после констатации рецидивов была выше у пациентов, которым аллоТГСК выполнялась в период ремиссии заболевания и при наличии во время рецидивов лейкоза не более 1 аномального цитогенетического клона. На основании этого были выделены три прогностические группы: 1-ю группу составили 8 (18 %) пациентов с 2 неблагоприятными факторами и медианой ОВ после ПТР 40 дней; 2-ю — 20 (44 %) с 1 неблагоприятным фактором и медианой ОВ после ПТР 152 дня, 4-летняя ОВ составила 16 %; 3-ю — 17 (38 %) без отмеченных выше неблагоприятных факторов и с медианой ОВ после рецидивов 549 дней, 4-летняя ОВ 31 %. Многофакторный анализ показал, что число аномальных цитогенетических клонов в лейкозной популяции является независимым предиктором, влияющим на показатели ОВ после ПТР.

Заключение. Важным прогностическим фактором, отрицательно влияющим на показатели ОВ у больных с ПТР,

ABSTRACT

Aim. To analyze the karyotype aberrations at the relapse after allogeneic HSCT (alloHSCT) in children and adolescents with acute leukemias, in order to evaluate their relation with disease-free survival and overall survival (OS) rates after the relapse and to identify prognostic groups of patients based on clinical and cytogenetic characteristic of a tumor.

Methods. Cytogenetic investigations were performed in 30 children and 15 adolescents (26 males and 19 females aged from 1.2 to 21 years; median age 10 years) with a post-transplant relapse (PTR) of acute myeloid leukemia ($n = 27$) and acute lymphoblastic leukemia ($n = 18$). The analysis of aberrating chromosomal abnormalities was performed by comparison of the karyotypes in relapse with those before the alloHSCT.

Results. Karyotype aberrations in PTR were observed in 29 (64 %) patients. 2 and more abnormal cytogenetic clones were observed in 10 (34 %) patients with PTR. Additional chromosomal aberrations acquired in PTR were related primarily to chromosomes 1, 11 and 19. OS after the relapse was higher in patients with alloHSCT performed during the remission and with one abnormal cytogenetic clone in PTR. Based on this, we formed three prognostic groups: the first group consisted of 8 (18 %) patients with 2 adverse factors and median 40-day OS after relapse; the second group included 20 (44 %) patients with 1 adverse factor and median OS after PTR equal to 152 days, and the 4-year survival was 16 %; the third group included 17 (38 %) patients without the above negative factors and median OS after relapse equal to 549 days, and the 4-year survival was 31 %. The multivariate analysis showed that the number of abnormal cytogenetic clones in leukemic population is an independent predictor of OS after PTR.

Conclusion. The presence of leukemic population of ≥ 2 abnormal cytogenetic clones is the most important prognostic factor affecting the OS in PTR patients. Since the clonal evolution of the karyotype may be associated with the use of cy-

является наличие в лейкозной популяции 2 и более аномальных цитогенетических клонов. Поскольку клоновая эволюция кариотипа может быть связана с использованием цитостатических препаратов у детей и подростков с острыми лейкозами при наличии показаний к аллоТГСК, последняя должна выполняться как можно раньше, причем предпочтение следует отдавать немиелоаблативным режимам кондиционирования.

Ключевые слова: острые лейкозы у детей, посттрансплантационные рецидивы, клоновая эволюция кариотипа.

Получено: 13 июня 2015 г.

Принято в печать: 8 ноября 2015 г.

Для переписки: Татьяна Леонидовна Гиндина, канд. мед. наук, ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197022; тел.: +7(812)233-12-43; e-mail: cytogenetics.bmt.lab@gmail.com

Для цитирования: Гиндина Т.Л., Мамаев Н.Н., Николаева Е.Н. и др. Анализ хромосомных нарушений у детей и подростков с посттрансплантационными рецидивами острых лейкозов. Клиническая онкогематология. 2015;8(4):420–427.

DOI: 10.21320/2500-2139-2015-8-4-420-427

totoxic drugs in the therapy of acute leukemia in children and adolescents with indications for alloHSCT, the latter should be done as soon as possible and non-myeloablative conditioning regimen should be preferred.

Keywords: pediatric acute leukemias, post-transplantation relapses, clonal cytogenetic evolution.

Received: June 13, 2015

Accepted: November 8, 2015

For correspondence: Tat'yana Leonidovna Gindina, PhD, 6/8 L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197022; Tel.: +7(812)233-12-43; e-mail: cytogenetics.bmt.lab@gmail.com

For citation: Gindina TL, Mamaev NN, Nikolaeva EN, et al. Analysis of Karyotype Aberrations in Children and Adolescents with Post-Transplantation Relapses of Acute Leukemia. Clinical oncohematology. 2015;8(4):420–427 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2015-8-4-420-427

ВВЕДЕНИЕ

Было показано, что клоновая эволюция кариотипа возможна не только у больных хроническим миелолейкозом, но и при острых лейкозах, причем у 40 % больных она ассоциируется с развитием рецидивов [1]. До последнего времени эту проблему преимущественно изучали у взрослых с острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ). При этом сравнительный анализ частоты клоновой эволюции кариотипа у больных с посттрансплантационными рецидивами (ПТР) острых лейкозов показал, что она была отчетливо выше, чем у пациентов после химиотерапии (без трансплантации гемопоэтических стволовых клеток [ТГСК]) [2]. Обнаруженная в этой работе разница объяснялась тем, что опухолевые клетки больных, направляемых на ТГСК, содержали хромосомные маркеры высокого риска. Частота клоновой эволюции кариотипа и его осложнения в виде дополнительных хромосомных аномалий у детей с острыми лейкозами стали изучаться недавно [3], а полученные в этих работах данные представляют несомненный теоретический и практический интерес.

Несмотря на то что аллогенная ТГСК (аллоТГСК) к настоящему времени является самым эффективным способом лечения больных с прогностически неблагоприятными вариантами острых лейкозов, у половины из них развиваются посттрансплантационные рецидивы (ПТР). Наилучший эффект аллоТГСК у детей с острыми лейкозами достигается при выполнении ее в первой ремиссии [4]. Одним из важных факторов, коррелирующих с общей выживаемостью больных при острых лейкозах, является характер хромосомных нарушений, влияние которых на развитие ПТР до конца не изучено. Детальных исследований кариотипа при ПТР острых лейкозов опубликовано мало, и касаются они в основном взрослых пациентов [1, 2, 5–8]. Суммируя полученные данные, следует отметить, что частота клоновой эволюции и увеличение сложности

хромосомных нарушений у больных с ПТР выше, чем при рецидивах после стандартной химиотерапии [8]. По некоторым данным, клоновая эволюция кариотипа после аллоТГСК более свойственна молодым пациентам, а из структурных перестроек, связанных с ухудшением общей выживаемости в посттрансплантационный период, обращает на себя внимание вовлечение в перестройки хромосом 1-й пары [1].

В настоящей работе представлены результаты цитогенетического мониторинга в большой группе детей и подростков с ПТР острых лейкозов. Эти данные позволяют расширить имеющиеся представления о характере и прогностической ценности хромосомных нарушений у этой категории больных.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 45 детей и подростков с ПТР острых лейкозов, которые лечились в НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой в период с 2009 по 2014 г. Серийные цитогенетические исследования (до и после аллоТГСК) с использованием GTG-окрашивания и многоцветной флуоресцентной гибридизации *in situ* были выполнены стандартными методами [9] в лаборатории цитогенетики института. Интерпретацию выявленных хромосомных нарушений осуществляли согласно Международной классификации цитогенетических нарушений у человека [10].

Выявление клоновой эволюции кариотипа или других его изменений осуществляли в ходе серийно проведенных исследований, т.е. в дебюте заболевания, если была такая возможность, перед аллоТГСК и на этапе ПТР. В итоге все посттрансплантационные изменения хромосом были классифицированы следующим образом:

- 1) идентичный кариотип;
- 2) смена нормального кариотипа на аномальный;

- 3) клоновая эволюция, проявляющаяся более сложным кариотипом при ПТР по сравнению с таковым до аллоТГСК;
- 4) формирование нового независимого клона, т. е. появление аномального клона, не связанного с имевшим место до аллоТГСК;
- 5) клоновая регрессия, предусматривающая формирование менее сложного кариотипа при ПТР по сравнению с таковым до аллоТГСК;
- 6) клоновая эволюция в сочетании с клоновой регрессией.

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение Statistica 7.0, а для многофакторного анализа — программу R. Кривые выживаемости были построены с использованием метода Каплана—Мейера. Сравнительный анализ выживаемости осуществляли с помощью лог-рангового теста. Статистически значимыми считали различия при уровне $p < 0,05$. Многофакторный анализ проводили методом регрессии Кокса.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследование включено 30 детей и 15 подростков с ПТР ОМЛ ($n = 29$) и ОЛЛ ($n = 16$). Среди них было 19 лиц женского пола и 26 — мужского в возрасте 1,2–21 год (медиана 10 лет). Как видно из данных, представленных в табл. 1, у 27 (60 %) больных ТГСК была выполнена в активной фазе заболевания, т. е. вне ремиссии. Источником стволовых клеток у 28 (62 %) детей был костный мозг, у 11 (24 %) — клетки периферической крови, а у 6 (14 %) — и то, и другое. У 24 (53 %) больных для кондиционирования использовали миелоаблативные режимы, а у 21 (47 %) — немиелоаблативные. У 13 (29 %) больных HLA-совместимыми донорами были родственники, в то время как у 15 (33 %) — HLA-совместимые неродственные доноры. В случае отсутствия в семье и в регистрах HLA-совместимого донора у 17 (38 %) детей была выполнена родственная гаплоидентичная ТГСК.

Таблица 1. Клиническая характеристика детей и подростков с посттрансплантационными рецидивами острых лейкозов

Показатель	Число больных, n (%)
Общее число больных	45 (100)
Вариант лейкоза	
ОМЛ	27 (60)
ОЛЛ	18 (40)
Пол	
Женский	19 (42)
Мужской	26 (58)
Возраст	
0–14 лет	30 (67)
14–21 год	15 (33)
Медиана (диапазон) возраста на момент аллоТГСК, лет	10 (1,2–21)
Медиана (диапазон) времени от постановки диагноза до аллоТГСК, дни	473 (47–1559)
Медиана (диапазон) времени от аллоТГСК до рецидива, дни	187 (25–1280)
Медиана (диапазон) бластных клеток в костном мозге, %	36 (6–96)
Статус на момент аллоТГСК	
1 ремиссия	10 (22)
≥ 2 ремиссий	8 (18)
Вне ремиссии	27 (60)
Источник стволовых клеток	
Костный мозг	28 (62)
Периферическая кровь	11 (24)
Костный мозг и периферическая кровь	6 (14)
Режим кондиционирования	
Миелоаблативный	24 (53)
Немиелоаблативный	21 (47)
Донор	
Родственный	13 (29)
Неродственный	15 (33)
Гаплоидентичный	17 (38)
Медиана (диапазон) клеток CD34+, $\times 10^6/\text{кг}$	6,3 (1,3–17,9)

Цитогенетическая характеристика рецидивов

Результаты цитогенетических исследований, выполненных в дебюте до аллоТГСК или при прогрессировании заболевания, а также в период ПТР, представлены в табл. 2.

Таблица 2. Сравнительный анализ кариотипа больных острыми лейкозами до аллоТГСК и при посттрансплантационном рецидиве

№	Пациент, пол, возраст (лет)		Кариотип в дебюте или при прогрессировании острого лейкоза до аллоТГСК	Кариотип после установления ПТР	Количество клонов	Категория изменений кариотипа
	№	Диагноз				
1	М., муж., 1,2	ОМЛ	45,XY, -7[18]/45, idem, del(11)(q23)[2]	45,XY, -7[14]/46,XY, -7, +21[3]/48,XY, -7, +19, +21, +21[3]	3	Эволюция + регрессия
2	Г., муж., 2	ОМЛ	47,XY, +21[6]/46,XY[14]	47,X, add(Y)(q12), +21[6]/46,XX[14]	1	Эволюция
3	Б., жен., 3	ОМЛ	47,XX, del(11)(p12p15), +22[6]/47,XX, del(11)(p12p15), +21[2]/48,XX, +21, +mar[2]/46,XX[10]	47,XX, del(5)(q31q33), add(10)(p11), del(11)(q13.1q13.3), del(14)(q32), t(16;21)(q24;q22), +22[2]/47, idem, der(9)t(1;9)(q12;p24)[2]/46,XX[16]	2	Эволюция + регрессия
4	Б., жен., 3	ОМЛ	47,XX, t(9;11)(p12;q23)[12]/46,XX[8]	47,XX, t(9;11)(p12;q23), +21[4]/46,XY[16]	1	Эволюция
5	Ж., муж., 3	ОМЛ	48,XY, t(6;9)(p23;q34), +8, +13[16]/46,XY[4]	49,XY, t(6;9)(p23;q34), +8, +13, -15, +der(21), t(15;21)(q22;q22)x2[6]/47,XY, t(6;9)(p23;q34), +8, add(18)(q23)[4]/46,XY[10]	2	Эволюция
6	Ф., муж., 3	ОМЛ	46,XY, dup(1)(q21q32)[4]/46,XY[16]	48,XY, add(1)(p36), -2, add(3)(q2?), add(4)(q32), +14, +22, +mar[5]/46,XY[15]	1	Новый независимый клон
7	К., муж., 3	ОМЛ	67<3n>, XY, -X, -1, der(1)ins(1;1)(q21;p32p36), del(1)(p32)x2, -7, +8, del(8)(q11q23), -9, -10, +13, der(13)t(1;13)(q21;q34)x2, -17, -18, +19, +21, +22[6]/46,XY[14]	75<3n>, XY, -X, -1, der(1)ins(1;1)(q21;p32p36), del(1)(p32)x2, +3, +4, +5, del(5)(q13)x2, +6, -7, +8, -9, +13, der(13)t(1;13)(q21;q34)x2, +15, -17, +19, +20, +21, +22[4]/46,XY[16]	1	Эволюция + регрессия
8	С., муж., 5	ОМЛ	45,XY, -7[20]	45,XY, -7, del(12)(p11p13)[15]/46,XY[5]	1	Эволюция
9	С., жен., 7	ОМЛ	46,XX[20]	46,XX, der(1)t(1;17)(p36;q21), -7, +9, del(9)(q13), -17, +mar[6]/46,XX[14]	1	Смена нормального кариотипа на аномальный
10	С., жен., 7	ОМЛ	46,XX, t(11;19)(q23;p13)[15]/46,XX[5]	46,XX, t(1;8)(p36;q13), t(11;19)(q23;p13)[5]/46,XX, der(11), del(11)(p11p15), t(11;19)(q23;p13), der(19)t(11;19)[3]/46,XY[12]	2	Эволюция

Посттрансплантационные рецидивы при ОЛ у детей и подростков

№	Пациент, пол, возраст (лет)		Кариотип в дебюте или при прогрессировании острого лейкоза до аллоТГСК	Кариотип после установления ПТР	Количество клонов	Категория изменений кариотипа
	Пациент	Диагноз				
11	Б., муж., 7	ОМЛ	46,XY[20]	46,XY, del(2)(q37), del(5)(q27), add(19)(q13)[2]/46, idem, add(X)(p22), del(5)(q31), add(6)(q25), add(9)(p24)[6]/46,XX[12]	2	Смена нормального кариотипа на аномальный
12	У., муж., 11	ОМЛ	47, XY, +X[6]/46,XY[14]	46,XY, del(11)(q13q23)[14]/46,XY[6]	1	Новый независимый клон
13	Б., жен., 13	ОМЛ	45,X,-X, der(1)t(1;17)(p32;q21), t(8;21)(q22;q22)[6]/45,X,-X, der(2)t(2;17)(q37;q21), t(8;21)(q22;q22)[4]/45,X,-X, t(8;21)(q22;q22), der(13)t(13;17)(p13;q21)[2]/45,X,-X, t(8;21)(q22;q22), der(14)t(14;17)(p13;q21)[6]/45,X,-X, t(8;21)(q22;q22), der(15)t(15;17)(p13;q21)[2]	45,X,-X, t(8;21)(q22;q22), der(1)t(1;17)(p32;q21)[10]/46,XX[10]	1	Регрессия
14	Н., муж., 13	ОМЛ	47,XY, +8[5]/46,XY[15]	47,XY, t(2;19)(q21;q13), +8[4]/46,XX[16]	1	Эволюция
15	Б., жен., 14	ОМЛ	49,XX, +X, +4, t(8;21)(q22;q22), +15[15]/46,XX[5]	49,XX, +X, ins(1;?)p(13;??), inv(2)(p21;q21), +4, t(8;21)(q22;q22), +15, der(17)del(17)(p11p13)add(17)(q25)[10]/49, idem, del(20)(q11)[2]/49, idem, add(22)(q13)[2]/46,XX[6]	3	Эволюция
16	С., жен., 18	ОМЛ	46,XX[20]	46,XX, del(15)(q21)[4]/46,XX[16]	1	Смена нормального кариотипа на аномальный
17	П., жен., 19	ОМЛ	46,XX, t(9;11)(p22;q23)[16]/46,XX[4]	46,XX, t(9;11)(p22;q23), del(11)(q23)[4]/46,XX[16]	1	Эволюция
18	В., жен., 20	ОМЛ	45,XX, inv(3)(q21;q26), -7[20]	45,XX, inv(3)(q21;q26), t(2;3)(q12;q21), -7[16]/46,XY[4]	1	Эволюция
19	К., жен., 2	ОМЛ	47,XX, +21[10]/46,XX[10]	47,XX, +21[5]/46,XY[15]	1	Нет
20	Х., жен., 5	ОМЛ	46,XX, t(8;12)(q12;p13)[6]/46,XX[14]	46,XX, t(8;12)(q12;p13)[4]/46,XX[16]	1	Нет
21	Т., муж., 7	ОМЛ	45,XY, -7[20]	45,XY, -7[5]/46,XX[15]	1	Нет
22	М., жен., 7	ОМЛ	46,XX, t(9;11)(p22;q23)[16]/46,XX[4]	46,XX, t(9;11)(p22;q23)[5]/46,XY[15]	1	Нет
23	П., жен., 9	ОМЛ	46,XX, t(8;21)(q22;q22)[18]/46,XX[2]	46,XX, t(8;21)(q22;q22)[20]	1	Нет
24	Д., муж., 14	ОМЛ	46,XY, del(2)(q33q37)[17]/46,XY[3]	46,XY, del(2)(q33q37)[16]/46,XX[4]	1	Нет
25	Г., жен., 16	ОМЛ	46,XX, t(1;2)(q12;q37), t(9;2;11)(p22;q37;q23)[18]/46,XX[2]	46,XX, t(1;2)(q12;q37), t(9;2;11)(p22;q37;q23)[12]/46,XX[8]	1	Нет
26	Ш., жен., 18	ОМЛ	45,XX, -7[20]	45,XX, -7[12]/46,XX[8]	1	Нет
27	А., муж., 20	ОМЛ	45,X,-Y, t(8;21)(q22;q22)[20]	45,X,-Y, t(8;21)(q22;q22)[20]	1	Нет
28	Т., муж., 1,6	ОЛЛ	46,XY, t(4;11)(q21;q23), add(7)(p21), add(17)(p13)[14]/46,XY[6]	46,XY, t(4;11)(q21;q23), add(7)(p21)[5]/46, idem, der(17)t(8;17)(q11;p13)[4]/46,XY, t(3;4)(q21;q31), t(4;11)(q21;q23), add(7)(p21)[4]/46,XY[7]	3	Эволюция
29	Ч., муж., 6	ОЛЛ	46,XY, t(1;7)(q32;p22), t(4;12)(q31;p13), t(11;12)(q13;p13)[10]/46,XY[10]	46,XY, del(1)(p32), t(4;12)(q31;p13), t(11;12)(q13;p13)[4]/46,XY[16]	1	Эволюция + регрессия
30	А., муж., 7	ОЛЛ	50,XY, +X, +14, +21, +21[7]/46,XX[13]	51,XY, +X, +8, +14, add(19)(p13), +21, +21[7]/46,XX[13]	1	Эволюция
31	М., муж., 7	ОЛЛ	46,XY, t(3;4)(p21;p16), del(6)(q21q25)[15]/46,XY[5]	46,XY, del(6)(q21q25)[5]/46, idem, t(3;4)(p21;p16)[11]/46,XY, del(6)(q21q25), add(16)(p13)[4]	3	Эволюция
32	Б., муж., 7	ОЛЛ	45,XY, t(4;6)(q27;p21), -7, del(7)(p15), t(9;22)(q34;q11)[10]/46,XY[10]	45,XY, -7, del(8)(p21), der(9)add(9)(p15), t(9;22)(q34;q11), add(20)(q13), der(22)t(9;22)[12]/46,XY[8]	1	Эволюция + регрессия
33	К., муж., 13	ОЛЛ	48,XY, add(5)(q35), t(9;22)(q34;q11), +17, i(17)(q10), +19[18]/46,XY[2]	49,XY, +X, del(2)(q33), +5, del(5)(q15q33), +8, t(9;22)(q34;q11), del(11)(p15), add(19)(q13)[6]/46,XY[14]	1	Эволюция + регрессия
34	К., жен., 16	ОЛЛ	46,XX, t(4;11)(q21;q23)[14]/46,XX[6]	47,XX, +X, +i(3)(q10), t(4;11)(q21;q23), del(16)(p13), -17, add(21)(q22)[6]/46,XX[14]	1	Эволюция
35	С., муж., 17	ОЛЛ	45,XY, t(2;9)(p21;q13), t(4;12)(q25;q13), t(11;14)(p13;q11), del(17)(p11)[15]/46,XY[5]	45,XY, der(2)t(2;9)(p21;q13), t(4;12)(q25;q13), -9, t(11;14)(p13;q11), del(17)(p11)[5]/46,XX[15]	1	Регрессия
36	Р., муж., 17	ОЛЛ	47,XY, +X[20]	45,XY, +X, -5, -16, -17, add(19)(p13), +mar[6]/46, idem, +Y[4]/46,XY[10]	2	Эволюция
37	Д., муж., 19	ОЛЛ	46,XY, t(1;11)(q21;p15), del(2)(q23), del(6)(q15q23)[6]/46,XY[14]	46,XY, del(2)(q23), del(6)(q15;q23), +8, del(16)(q22), -20[6]/46,XY, t(1;11)(q21;p15), del(2)(q23), del(6)(q15q23)[4]/46,XY[10]	2	Эволюция
38	З., муж., 20	ОЛЛ	46,XY, t(9;22)(q34;q11)[19]/46,XY[1]	46,XY, t(9;22)(q34;q11), i(8)(q10), add(11)(p13), del(12)(p12p13), add(15)(p11)[6]/46,XX[14]	1	Эволюция
39	Ю., жен., 0,8	ОЛЛ	46,XX, t(4;11)(q21;q23)[16]/46,XX[4]	46,XX, t(4;11)(q21;q23)[6]/46,XX[14]	1	Нет
40	Д., жен., 1,3	ОЛЛ	46,XX, t(4;18;11)(q21;p11;q23), der(13)t(1;13)(q21;q34)[18]/46,XY[2]	46,XX, t(4;18;11)(q21;p11;q23), der(13)t(1;13)(q21;q34)[18]/46,XY[2]	1	Нет
41	Н., жен., 6	ОЛЛ	46,XX, del(8)(q24)[6]/46,XX[14]	46,XX, del(8)(q24)[4]/46,XY[16]	1	Нет
42	М., муж., 6	ОЛЛ	46,XY, del(9)(p21)[8]/46,XY[12]	46,XY, del(9)(p21)[3]/46,XY[17]	1	Нет
43	Г., муж., 7	ОЛЛ	46,XY, t(9;22)(q34;q11)[20]	46,XY, t(9;22)(q34;q11)[4]/46,XX[16]	1	Нет
44	П., муж., 17	ОЛЛ	48,XY, del(5)(q31q35), +10, der(10)t(10;17)(q22;q21), +22[14]/46,XY[6]	48,XY, del(5)(q31q35), +10, der(10)t(10;17)(q22;q21), +22[4]/46,XY[16]	1	Нет
45	К., муж., 20	ОЛЛ	46,Y, der(X)t(X;8)(q28;q13)[17]/46,XY[3]	46,Y, der(X)t(X;8)(q28;q13)[6]/46,XX[14]	1	Нет

ПРИМЕЧАНИЕ. Синим цветом выделены хромосомные нарушения, утраченные при ПТР. Красным цветом выделены хромосомные нарушения, приобретенные при ПТР.

Изменения кариотипа при ПТР были отмечены у 29 (64 %) больных. При этом у 16 (55 %) из них имела место клоновая эволюция, у 2 (7 %) — клоновая регрессия, у 2 (7 %) — зарегистрировано появление нового независимого клона, у 6 (21 %) — клоновая эволюция сочеталась с регрессией, а у 3 (10 %) больных нормальный кариотип на этапе ПТР сменился аномальным. Кариограммы больной ОМЛ (№ 15) с клоновой эволюцией кариотипа при ПТР представлены на рис. 1.

Среди пациентов с измененным при ПТР кариотипом ($n = 29$) хромосомный набор в дебюте заболевания и на этапе ПТР был псевдодиплоидным у 12 (41 %) и 11 (38 %) больных соответственно. У 11 (38 %) пациентов в дебюте заболевания и у такого же числа при ПТР кариотип был гипердиплоидным, в то

время как у 6 (21 %) и 7 (24 %) пациентов соответственно — гиподиплоидным.

Большинство выявленных нами изменений кариотипа касалось структурных хромосомных перестроек, которые встретились у 17 (59 %) больных. Менее частыми оказались количественные хромосомные нарушения, которые были отмечены в 3 (10 %) случаях. Кроме того, у 9 (31 %) больных было выявлено сочетание структурных и количественных хромосомных нарушений. Наличие 2 и более аномальных цитогенетических клонов наблюдалось у 3 (10 %) больных до аллотГСК и у 10 (34 %) — при ПТР. Дополнительные перестройки, приобретаемые при ПТР, касались прежде всего хромосом 1, 11 и 19, причем хромосомы 1 и 11 вовлекались в перестройки у 8 (28 %) больных каждая, а хромосома 19 — у 7 (24 %).

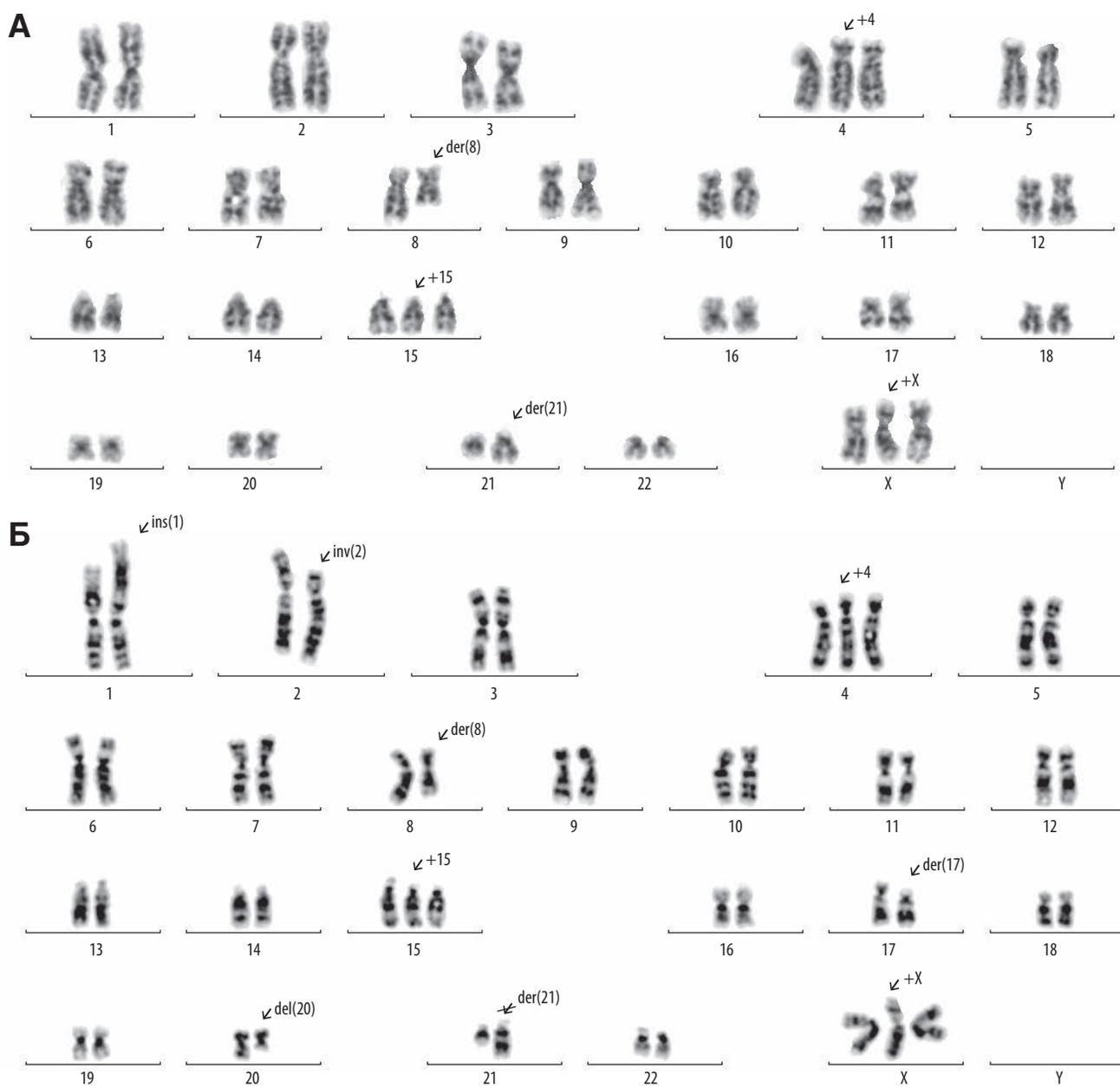


Рис. 1. Кариограммы (GTG-бэндинг) больной в дебюте острого миелоидного лейкоза до аллотГСК. (А) Исходный кариотип: 49,XX,+X,+4,t(8;21)(q22;q22),+15[15]/46,XX[5] и в период посттрансплантационного рецидива. (Б) Клоновая эволюция кариотипа: 49,XX,+X,ins(1;?)p13;?,inv(2)(p21;q21),+4,t(8;21)(q22;q22),+15,der(17)del(17)(p11p13)add(17)(q25)[10]/49,idem,del(20)(q11)[2]/49,idem,add(22)(q13)[2]/46,XX[6]

Fig. 1. Karyograms (GTG-banding) of a female patient with the onset of acute myeloid leukemia before alloHSCT. (A) Baseline karyotype: 49,XX,+X,+4,t(8;21)(q22;q22),+15[15]/46,XX[5] and during the PTR. (B) Clone karyotype evolution: 49,XX,+X,ins(1;?)p13;?,inv(2)(p21;q21),+4,t(8;21)(q22;q22),+15,der(17)del(17)(p11p13)add(17)(q25)[10]/49,idem,del(20)(q11)[2]/49,idem,add(22)(q13)[2]/46,XX[6]

**БЕЗРЕЦИДИВНАЯ И ОБЩАЯ ВЫЖИВАЕМОСТЬ
ПОСЛЕ ПОСТТРАНСПЛАНТАЦИОННОГО РЕЦИДИВА**

Медиана безрецидивной выживаемости (БРВ) составила 187 дней (диапазон 13–1280 дней). У 40 (89 %) детей ПТР развились в течение первого года после аллотГСК и только у 5 (11 %) — на втором или третьем году. По нашим данным, медиана БРВ не зависела от цитогенетической группы риска ($p = 0,41$). В то же время она имела тенденцию к повышению у больных с 1 аномальным цитогенетическим клоном по сравнению с пациентами с 2 аномальными клонами и более (145 vs 76 дней; $p = 0,23$).

Медиана наблюдения пациентов после аллотГСК составила 500 дней (диапазон 40–861 день), в то время как медиана общей выживаемости (ОВ) после констатации рецидива была 192 дня (диапазон 88–549 дней). После рецидива 4-летняя ОВ больных составила 20 % (рис. 2, А). По нашим данным, медиана ОВ после установления рецидива не зависела от таких клинических и лабораторных характеристик, как возраст больных, вариант лейкоза, цитогенетическая группа риска, тип донора,

источник ГСК, режим кондиционирования, количество трансплантированных клеток CD34+ и интервал времени от аллотГСК до диагностики рецидива. В то же время были получены значимые различия в медиане ОВ после рецидива в группе пациентов, у которых трансплантация была выполнена в ремиссии или вне ее (367 vs 88 дней; $p = 0,02$) (рис. 2, Б). Кроме того, более низкая медиана ОВ после рецидива была отмечена у больных, в лейкозной популяции которых был выявлен не 1, а 2 и более аномальных цитогенетических клонов (331 vs 70 дней; $p = 0,016$) (рис. 2, В).

Однофакторный анализ предикторов 4-летней ОВ после рецидива представлен в табл. 3.

Таким образом, показатели ОВ после диагностики ПТР были лучше у пациентов с аллотГСК, выполненной в ремиссии заболевания и при наличии в рецидиве лейкоза не более одного аномального цитогенетического клона. На основании этого были выделены три основных прогностических группы:

- первая — 8 (18 %) пациентов, которые имели 2 неблагоприятных прогностических фактора и самый

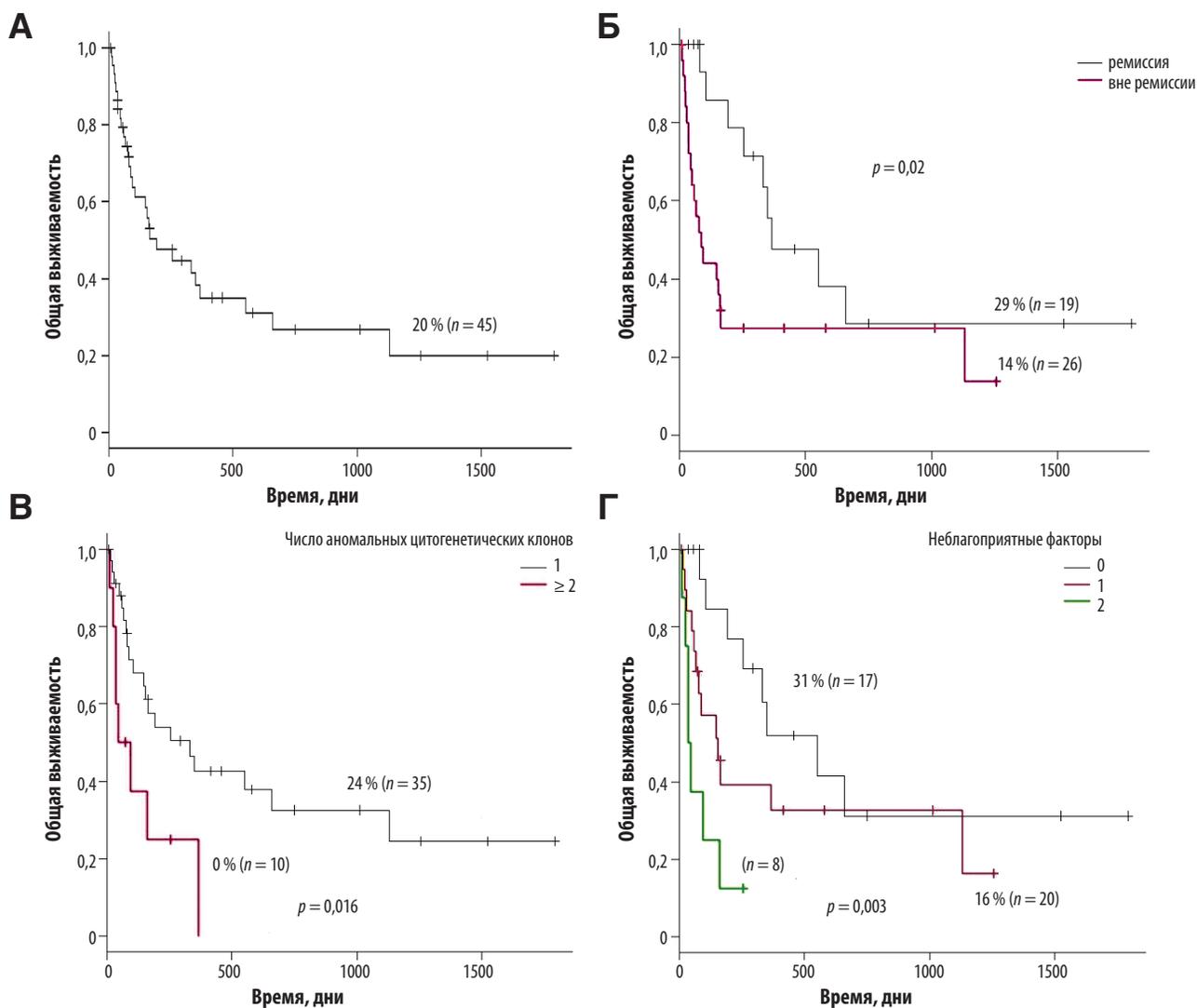


Рис. 2. Общая 4-летняя выживаемость после установления посттрансплантационного рецидива острых лейкозов: А — общая группа больных; Б — группы с различным клиническим статусом пациентов на момент выполнения аллотГСК; В — группы с различным числом аномальных цитогенетических клонов в лейкозной популяции; Г — группы с различным числом неблагоприятных прогностических факторов (0, 1 или 2)

Fig. 2. Overall 4-year survival rate after post-transplantation relapse of acute leukemias: А — all patients; Б — groups with different patients' status by the initiation of alloHSCT; В — groups with different numbers of abnormal cytogenetic clones in the leukemia population; Г — groups with different numbers of unfavorable prognostic factors (0, 1 or 2)

Таблица 3. Анализ предикторов общей выживаемости после установления посттрансплантационных рецидивов острых лейкозов

Фактор	Число больных, n (%)	p
Возраст		0,610
0–14 лет	30 (67)	
14–21 год	15 (33)	
Вариант лейкоза		0,800
ОМЛ	29 (64)	
ОЛЛ	16 (36)	
Группа цитогенетического риска		0,750
Высокий	24 (53)	
Другой	21 (47)	
Статус на момент аллотГСК		0,020
Ремиссия	19 (42)	
Вне ремиссии	26 (58)	
Донор		0,350
Родственный	13 (29)	
Неродственный	15 (33)	
Гаплоидентичный	17 (38)	
Источник стволовых клеток		0,380
Костный мозг	28 (62)	
Периферическая кровь	11 (24)	
Костный мозг и периферическая кровь	6 (14)	
Режим кондиционирования		0,190
Миелоаблативный	25 (55)	
Немиелоаблативный	20 (45)	
Количество трансплантированных клеток CD34		0,880
Медиана $\geq 6 \times 10^6/\text{кг}$	20 (44)	
Медиана $< 6 \times 10^6/\text{кг}$	25 (56)	
Интервал от аллотГСК до рецидива		0,480
Медиана < 187 дней	31 (69)	
Медиана ≥ 187 дней	14 (31)	
Аномальный цитогенетический клон в рецидиве		0,016
1 клон	10 (22)	
≥ 2 клонов	35 (78)	

плохой прогноз с медианой ОВ после ПТР, равной 40 дням;

- вторая — 20 (44 %) пациентов с 1 неблагоприятным фактором, медиана ОВ после рецидива составила 152 дня, а 4-летняя ОВ — 16 %;
- третья — 17 (38 %) пациентов, у которых неблагоприятные прогностические факторы отсутствовали, медиана ОВ после рецидива составила 549 дней, а 4-летняя ОВ — 31 % (рис. 2, Г).

Многофакторный анализ показал (табл. 4.), что независимым предиктором ОВ после рецидива является число аномальных цитогенетических клонов в лейкозной популяции.

ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на имеющийся прогресс в терапии острых лейкозов, включая аллотГСК, рецидивы заболевания, в т. ч. ПТР, все еще являются основной причиной летального исхода у большинства из них [4], причем в равной мере это относится как к взрослым, так и к детям.

К настоящему времени считается общепризнанным, что одним из важных прогностически значимых факторов у больных острыми лейкозами после аллотГСК являются

Таблица 4. Многофакторный анализ предикторов общей выживаемости после установления посттрансплантационных рецидивов острых лейкозов

Фактор	ОР	95% ДИ	p
Клинический статус на момент аллотГСК (ремиссия/вне ремиссии)	2,25	0,9–5,06	0,05
Количество аномальных цитогенетических клонов в лейкозной популяции (1 клон/ ≥ 2 клонов)	2,41	1,01–5,77	0,04

95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; ОР — отношение рисков.

изменения кариотипа, включая клоновую эволюцию. Наиболее полный анализ изменений кариотипа был представлен на конгрессе Американской гематологической ассоциации китайскими и японскими исследователями [6, 7] у взрослых больных острыми лейкозами. Они хорошо дополняют полученные нами аналогичные данные у детей и подростков. Действительно, число пациентов с хромосомными изменениями при ПТР было высоким, но несколько ниже, чем в нашей когорте (53,2 vs 64 %). В то же время клоновая эволюция и регрессия кариотипа, появление нового независимого клона у наших больных встречались примерно с такой же частотой, что и в китайской популяции (93 и 7 % vs 97 и 3 % соответственно). При этом, как и в других исследованиях [1], структурные нарушения хромосом чаще других касались 1-й и 11-й пар.

Дополнительный анализ показал, что важнейшим прогностическим фактором ухудшения выживаемости больных с ПТР является наличие в лейкозной популяции 2 и более аномальных цитогенетических клонов. При этом медиана выживаемости по отношению к группе сравнения снижается с 331 до 70 дней ($p = 0,016$). В свете этих данных установленный факт лучшей выживаемости при ПТР у больных с аллотГСК, выполненной в ремиссии (367 vs 88 дней; $p = 0,02$), может быть обусловлен меньшей вероятностью сохранения и дальнейшего развития сформированных при лейкозе опухолевых клонов. Сама же клоновая эволюция кариотипа на этапе ПТР указывает не только на его сохранение в условиях кондиционирования, но и даже на дальнейшее развитие, когда роль использованных для лечения цитостатических препаратов может быть ведущей. Косвенным подтверждением верности этого суждения могут быть наши данные о тенденции к большей частоте развития хромосомных нарушений в группе больных с использованием при аллотГСК миелоаблативных режимов кондиционирования. Отсюда напрашивается вывод, что при лечении острых лейкозов у детей и подростков, как и у взрослых больных с острыми лейкозами, имеющими сложный кариотип [8, 11], следует отдавать предпочтение немиелоаблативным режимам кондиционирования, а при наличии показаний к аллотГСК последняя должна выполняться как можно раньше. Очевидно и то, что при таком подходе предтрансплантационная цитостатическая нагрузка уменьшится, что, естественно, скажется как на снижении числа сложных хромосомных нарушений у готовящихся к аллотГСК больных, так и на уменьшении частоты ПТР. Насколько верны эти теоретические рассуждения, покажут будущие исследования.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: Т.Л. Гиндина.

Сбор и обработка данных: Т.Л. Гиндина, И.А. Петрова, Е.С. Николаева.

Предоставление материалов исследования: Т.Л. Гиндина, М.Ю. Аверьянова, О.А. Слесарчук, А.Л. Алянский, М.Ю. Аверьянова, Н.В. Станчева, С.Н. Бондаренко.

Анализ и интерпретация данных: Т.Л. Гиндина.

Подготовка рукописи: Т.Л. Гиндина, Н.Н. Мамаев.

Окончательное одобрение рукописи: Б.В. Афанасьев, Л.С. Зубаровская.

Административная поддержка: Б.В. Афанасьев.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Schmidt-Hieber M, Blau I, Richter G, et al. Cytogenetic studies in acute leukemia patients relapsing after allogeneic stem cell transplantation. *Cancer Genet Cytogenet.* 2010;198(2):135–43. doi: 10.1016/j.cancergencyto.2010.01.005.

2. Bacher U, Haferlach T, Alpermann T, et al. Comparison of cytogenetic clonal evolution patterns following allogeneic hematopoietic transplantation versus conventional treatment in patients at relapse of AML. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010;16(12):1649–57. doi: 10.1016/j.bbmt.2010.06.007.

3. Kawamata N, Ogawa S, Seeger K, et al. Molecular allelokaryotyping of relapsed pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Int J Oncol.* 2009;34(6):1603–12. doi: 10.3892/ijo.00000290.

4. Lee J, Jang P, Chung N, et al. Treatment of children with acute myeloid leukaemia who relapsed after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2013;160(1):80–6. doi: 10.1111/bjh.12074.

5. Lawler S, Khokhar M, Davies H, et al. Cytogenetic studies of leukemic recurrence in recipients of bone marrow allografts. *Cancer Genet Cytogenet.* 1990;47(1):249–63. doi: 10.1016/0165-4608(90)90034-8.

6. Yuasa M, Uchida N, Kajii D, et al. Prognostic significance of the cytogenetic evolution after the hematopoietic stem cell transplantation in adult acute myeloid leukemia. *Blood.* 2013;122(21):1391.

7. Cho Y, Chi H, Park S, et al. Comparative analysis of cytogenetic evolution patterns during relapse in the hematopoietic stem cell transplantation and chemotherapy settings of patients with acute leukemia. *Blood.* 2013;122(21):1320.

8. Гиндина Т.Л., Мамаев Н.Н., Бондаренко С.Н. и др. Сложные хромосомные нарушения у больных с посттрансплантационными рецидивами острых лейкозов: клинические и теоретические аспекты. *Клиническая онкогематология.* 2015;8(1):69–77.

[Gindina TL, Mamaev NN, Bondarenko SN, et al. Complex chromosomal aberrations in patients with post-transplantation relapses of acute leukemias: clinical and theoretical aspects. *Clinical oncohematology.* 2015;8(1):69–77. (In Russ)]

9. Гиндина Т.Л., Мамаев Н.Н., Бархатов И.М. и др. Сложные повреждения хромосом у больных с рецидивами острых лейкозов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Терапевтический архив.* 2012;8:61–6.

[Gindina TL, Mamaev NN, Barhatov IM, et al. Complex chromosome damages in patients with recurrent acute leukemias after allogeneic hematopoietic stem cell transplantations. *Terapevticheskii arkhiv.* 2012;8:61–6 (In Russ)]

10. Schaffer L, McGovan-Jordan J, Schmid M. *An International System for Human Cytogenetic Nomenclature.* Basel: S. Karger; 2013.

11. Gindina T, Mamaev N, Bondarenko S, et al. Complex aberrant karyotype in patients with post-transplant relapses of acute myeloid and lymphoid leukemias evaluated by serial cytogenetic assays, including mFISH. *Blood.* 2014;124(21):5313.

