

## ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ ЧАСТЬ 2. ИССЛЕДУЕМЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ

Зуховицкая Е.В., Фиясь А.Т.

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

*В клинических условиях относительно небольшое число генетических аномалий исследуются для установления исхода и для определения тактики лечения при остром миелоидном лейкозе (ОМЛ). Однако у большого числа пациентов с ОМЛ нет каких-либо из этих аномалий. В пределах выделяемых в настоящее время прогностических групп присутствует выраженная гетерогенность. На основании этих наблюдений можно сделать предположение о существовании дополнительных биомаркёров, способных предопределять исход ОМЛ. В недавних молекулярно-генетических исследованиях было выявлено большое число новых соматических мутаций у пациентов с ОМЛ, включая мутации TET2, ASXL1, IDH1 и IDH2, DNMT3A, и RNF6. Для некоторых из этих впервые установленных генетических аномалий была показана прогностическая значимость при ОМЛ.*

**Ключевые слова:** острый миелоидный лейкоз, цитологические изменения, молекулярно-генетические изменения, лечение.

Первая часть данного обзора посвящена биомаркёрам, которые вошли в клиническую практику и оказывают влияние на диагностику, ими руководствуются при определении тактики лечения пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ). В этой части статьи обсуждаются отдельные биомаркёры, которые всё ещё исследуются [1].

### **Мутации TET2**

Мутации TET2 были выявлены у 12%-27% пациентов с ОМЛ и другими миелоидными заболеваниями (миелодиспластический синдром (20%), миелолипролиферативные заболевания (12%), вторичный ОМЛ (25%)). В исследовании 427 пациентов с цитогенетически нормальным ОМЛ (НК-ОМЛ) в возрасте 18-83 года мутации были выявлены в 23% случаев. В многомерных моделях мутации TET2 были ассоциированы с более низкой бессобытийной выживаемостью и выживаемостью без признаков заболевания, но только при НК-ОМЛ с благоприятным прогнозом – ОМЛ, ассоциированный с мутацией SEVPA и/или мутацией NPM1 без FLT3-ITD, но по-прежнему роль TET2 противоречива [2].

### **Мутации IDH1 и IDH2**

Мутации IDH1 и IDH2 встречаются приблизительно у 15%-30% пациентов с ОМЛ, причём у пожилых пациентов с ОМЛ частота IDH мутаций повышается. В нескольких последних работах исследовалось прогностическое влияние мутаций IDH1/2. Существует доказательство того, что прогностическое влияние мутаций IDH1/2 различается: IDH1 в кодоне R132, и IDH2 в кодонах R140 или R172. IDH1R132 и IDH2R140 ассоциированы с цитогенетическим профилем промежуточного риска, особенно при НК-ОМЛ и среди пациентов с NPM1 мутациями. Мутации IDH1 предполагают более плохой исход при НК-ОМЛ, но прогностическое влияние молекулярных подгрупп при НК-ОМЛ противоречиво. В исследованиях CALGB и AMLSG мутации IDH1 предопределяли более плохой исход при ОМЛ с благоприятным риском (мутация NPM1+/FLT3-ITD-), тогда как в исследованиях MRC и Датско-Бельгийской гематолого-онкологической кооперативной группы (HOVON), мутации IDH1 наблюдали более плохой исход при FLT3-ITD- и FLT3-ITD-/NPM1 диком типе ОМЛ, соответственно. В исследовании AMLSG IDH2R140 выявили меньшую безрецидивную (БВ) и

общую выживаемость (ОВ) при молекулярном благоприятном риске НК-ОМЛ. Более высокая общая выживаемость была отмечена у пациентов с НК-ОМЛ при наличии мутантной IDH1, IDH2 и мутантным NPM1 в сравнении с пациентами при наличии мутантного NPM1 и диких типов IDH1 и IDH2. Благоприятное влияние мутаций IDH1 и IDH2 на прогноз позволяет выделить дополнительную группу благоприятного прогноза у пациентов с мутацией NPM1 [3, 4].

### **Мутации DNMT3A**

Leu и соавт. секвенировали DNMT3A в 282 образцах ОМЛ и установили мутацию в 22,1% случаев, делая их к настоящему времени вторыми наиболее распространенными соматическими мутациями после мутаций FLT3, мутации преимущественно группировались в аминокислоте R882. Клинически мутации DNMT3A относились к цитогенетическому профилю промежуточного риска и чаще были ассоциированы с мутациями FLT3-ITD, NPM1 и IDH. В исследовании с участием 489 молодых взрослых пациентов, частота мутации составила 17,8%. Мутации DNMT3A были ассоциированы с неблагоприятным прогнозом в сравнении с пациентами с диким типом DNMT3A, а также с более низкой частотой полных ремиссий. Неблагоприятный эффект мутантной DNMT3A на общую выживаемость выражен более значительно у пациентов с диким типом NPM1 при наличии FLT3-ITD+, или мутации SEVPA [5, 6].

### **Мутации WT1**

Более десятилетия назад King-Underwood и соавт. сообщили о генной мутации опухоли Вильмса 1 (WT1) у 10% пациентов с острым лейкозом. Проведенные исследования на больших группах выявили мутации WT1 главным образом при НК-ОМЛ, с частотой 10-13%. Прогностическое значение мутации остаётся не до конца определённым. Тогда как в исследованиях MRC, CALGB и Французской ассоциации по изучению острых лейкозов (ALFA, Acute Leukemia French Association) было показано отрицательное влияние мутации на ОВ, в исследовании AMLSG с участием 617 пациентов с НК-ОМЛ не было выявлено такого влияния. В более позднем исследовании было найдено только возможное отрицательное влияние при ОМЛ с совместными мутациями WT1 и FLT3-ITD. Постремиссионная терапия с высо-

кими дозами цитарабина может аннулировать плохой исход [7].

### Мутации ASXL1 и PHF6

Аналогичные TET2, ASXL1 мутации определяются при ряде миелоидных опухолей, включая миелопролиферативные неоплазмы, миелодиспластический синдром, ОМЛ и наиболее часто хронический миеломоноцитарный лейкоз. Мутации ASXL1 являются относительно редкими у молодых пациентов с ОМЛ (встречается у 3%-5% пациентов), но частота мутаций ASXL1 повышается у пожилых пациентов с ОМЛ (приблизительно у 16% пациентов). Кроме того, мутации ASXL1 и также PHF6 были ассоциированы со снижением ОВ при ОМЛ, что предполагает то, что относительно редкие аллели при ОМЛ указывают на группу пациентов с нежелательным исходом, а также необходимостью определения того, как эти мутации влияют на лейкогенез [7-9].

### Прогностическая значимость недавно выявленных генов

Несмотря на ряд исследований за последнее десятилетие, в которых была установлена большая группа новых мутаций генов, при ОМЛ в клинических условиях большинство центров с целью определения прогностического риска при ОМЛ и постремиссионной терапии применяют относительно малое число исследований генов. Относительный недостаток клинического применения биомаркёров ассоциирован с несколькими факторами. Во-первых, большинство исследований биомаркёров сфокусированы на отдельных генетических аномалиях и их прогностической значимости, без учёта полного набора известных мутаций. Во-вторых, в большинстве исследований каждый мутантный аллель рассматривается как отдельная переменная без учёта комплексного генотипа, при котором наличие/отсутствие и соотношение множественных аллелей заболевания обладает большим влиянием на исход, чем самостоятельные отдельные мутации. И наконец, учитывая установленную важность 3 широких категорий цитогенетического риска при ОМЛ важно установить, влияет ли мутационный статус по отдельным мутациям или по комбинации мутаций на исход в различных цитогенетических категориях риска. В большинстве исследований не были установлены точные факторы, определяющие исход у пациентов с благоприятным или неблагоприятным цитогенетическим риском, что позволяет предположить, что хромосомные aberrации остаются наилучшими прогностическими факторами для 40% пациентов с ОМЛ при кариотипе благоприятного или неблагоприятного риска. В отличие от этого, мутационные исследования всё в большей мере становятся способными определять прогноз у пациентов с ОМЛ, ассоциированным с кариотипом промежу-

**Таблица 1** - Стратификации риска на основе молекулярного профилирования

Цитогенетическая классификация	Мутации	Мутационное профилирование	
Благоприятный	t(8;21)(q22;q22- inv(16)(p13.1;q22) или	t(16;16)(p13.1;q22);	Благоприятный
Нормальный кариотип или промежуточный цитогенетический риск	FLT3-ITD отрицательный	Мутации NPM1 и IDH1/2	Промежуточный
	FLT3-ITD отрицательный	Дикий тип ASXL1, MLL-PTD, PHF6, TET2	
	FLT3-ITD-отрицательный или положительный	CEBPA <sup>dm</sup>	
	FLT3-ITD-положительная	Дикий тип MLL-PTD, TET2, DNMT3A и трисомия 8-негативная	Неблагоприятный
	FLT3-ITD отрицательный	TET2, MLL-PTD, ASXL1 или PHF6	
	FLT3-ITD-положительная	TET2, MLL-PTD, DNMT3A или трисомия 8, без мутации CEBPA	
Неблагоприятный	inv(3)(q21;q26.2)или t(34;3)(q21;q26.2) -t(6;9)(p23;q34) -t(v;11)(v;q23) --5 или del(5q) --7 -комплексный кариотип (наличие трех или более хромосомных аномалий)		

точного риска (т.е. при нормальном кариотипе) [10].

В предшествующих исследованиях предполагалось, что мутационный анализ CEBPA, NPM1 и FLT3-ITD может применяться для стратификации групп риска у пациентов с промежуточным риском. Однако с помощью мутационного анализа можно лучше выделить среди пациентов с ОМЛ, ассоциированным с промежуточным риском, отдельные клинически значимые группы риска (таблица 1).

В подгруппе пациентов с FLT3-ITD-отрицательном ОМЛ промежуточного риска существуют 3 отдельные группы риска, основанные на мутационном статусе и обладающие сильно различающимися исходами. FLT3-ITD-отрицательные, с мутациями NPM1/IDH обладают более хорошими исходами, чем пациенты с ОМЛ, ассоциированным с inv(16) или t(8;21), что позволяет предположить, что они составляют отдельную подгруппу ОМЛ, ассоциированного с благоприятным прогнозом, основанную на выявлении специфического мутационного генотипа. В отличие от этого пациенты с FLT3-ITD-отрицательные, с мутациями NPM1 без сопутствующих мутаций IDH обладают намного менее благоприятным исходом. Более важно, что наличие мутаций высокого риска, особенно TET2, ASXL1, PHF6 и/или MLL-PTD связано с очень невысокой ОВ у пациентов группы промежуточного прогноза при «диком типе» FLT3-ITD. Эти данные указывают на то, что наличие или отсутствие дополнительных аллелей заболевания определяет риск рецидива при «диком типе» FLT3-ITD ОМЛ группы промежуточного прогноза.

Кроме того, мутационные исследования позволя-

ют улучшить прогнозирование у пациентов с промежуточным риском, являющихся FLT3-ITD-положительными. Среди пациентов с мутациями FLT3-ITD сопутствующие мутации TET2, DNMT3A, MLL-PTD или трисомия 8 были ассоциированы с очень плохим исходом. Это относительно большая подгруппа и приблизительно 47% от всех FLT3-ITD пациентов с промежуточным риском попадают в эту подгруппу очень высокого риска. Поэтому категория FLT3-ITD пациентов с промежуточным риском у пациентов с ОМЛ формирует отдельную подгруппу и может значительно влиять на выбор лечения. Кроме того, пациенты с мутацией FLT3-ITD без любой из 4 генетических аномалий действительно обладают схожим исходом с FLT3-ITD-положительными пациентами с при наличии двойной мутации СЕВРА.

Это мутационное профилирование обладает важным клиническим значением, поскольку пациенты с установленным благоприятным риском обладают более хорошим исходом при стандартной индукции и консолидации, чем даже пациенты с ОМЛ, ассоциированным с ядерным связывающим фактором (СВФ-ОМЛ) с t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13.1;q22) или t(16;16)(p13.1;q22). В отличие от этого пациенты с ОМЛ при нежелательном риске, определённом при мутационном анализе, обладают исходом, аналогичным таковому для пациентов с кариотипом неблагоприятного риска, в данном случае стандартная терапия неспособна обеспечить излечение у большинства этих пациентов [11-14].

Самым большим исследованием с выявлением ряда мутаций: TET2, ASXL1, DNMT3A, PHF6, WT1, TP53, RUNX1, EZH2, PTEN, FLT3, NPM1, СЕВРА, HRAS, KRAS, NRAS, KIT, IDH1 и IDH2 с участием 657 пациентов из Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group) является исследование E1900 [15].

В исследовании ECOG E1900 оценивалось использование интенсификации дозы антрациклинов при индукционной терапии. Всего 657 пациентов были рандомизированы на получение либо стандартной дозы 45 мг/м<sup>2</sup> даунорубицина или более высокой дозы 90 мг/м<sup>2</sup>. В группе E1900 было установлено, что высокие дозы даунорубицина выражено улучшают

исходы у пациентов с мутациями DNMT3A. Пациенты с мутантным DNMT3A, получавшие высокие дозы даунорубицина, обладали исходом, схожим с таковым у пациентов с «диким типом» DNMT3A, получавших стандартные дозы даунорубицина. Пациенты с мутацией MLL или с мутациями NPM1 также обладали улучшенной ОВ, когда получали лечение высокими дозами даунорубицина. Пациенты с NPM1 или DNMT3A или транслокациями MLL составили 44,2% от группы E1900; 3-летняя выживаемость для этой целой группы увеличилась от 25% до 44%, когда пациенты получали индукционную терапию высокими дозами даунорубицина [15-17]. Поэтому у пациентов с ОМЛ и мутациями DNMT3A или транслокациями MLL, особенно моложе 60 лет, рекомендуется индукцию ремиссии проводить с применением высоких доз даунорубицина. Авторы рекомендуют у пациентов старше 60 лет при наличии мутации DNMT3A проводить терапию ОМЛ гипометилирующими препаратами (децитабин в виде монокимиотерапии или в сочетании с бортезомибом). Поэтому выявление мутаций DNMT3A у пациентов старшей возрастной группы позволит выделить группу больных для проведения терапии, базирующейся на децитабине.

Эти результаты позволяют предположить, что мутационные исследования могут применяться для выделения группы пациентов, у которых будет успешным применение индукционной химиотерапии в интенсивных дозах, а также приводят пример того, как молекулярное профилирование может применяться для расшифровки клинической гетерогенности при ОМЛ.

### Заключение

В последние годы наблюдается выраженный прогресс в расшифровке молекулярного патогенеза ОМЛ и внедрения полученных результатов в клиническую практику. Тем не менее, учитывая огромную молекулярную гетерогенность заболевания, необходим анализ всех маркеров в большой группе пациентов с целью оценки их взаимодействия и их точного прогностического значения. К тому же первостепенное значение имеет изучение этих маркеров в контексте новых подходов к лечению с целью определения биомаркеров, позволяющих выделить подгруппы пациентов с целью индивидуализации программ терапии.

### Литература

- Schlenk RF, et al. Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia / RF, Schlenk [et al.] // N. Engl. J. Med. - 2008 N358(18) P.1909-1918.
- Delhommeau, F. Mutation in TET2 in myeloid cancers / F. Delhommeau [et al.] // N. Engl. J. Med.- 2009. – N 360(22)/ - P. 2289-2301.
- Yan, H. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas / H. Yan [et al. - //] N. Engl J Med. 2009. - № 360(8). – P. 765-773.
- Figueroa, M.E, et al. Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation / M.E. Figueroa [et al.] // Cancer Cell. 2010. - №8(6). – P. 553-567.
- Ley TJ, Ding L, Walter MJ [et al.] DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia/ TJ Ley [et al.] // .N Engl J Med. - 2010.- №363(25). – P. 2424-2433.
- Yan, XJ Exome sequencing identifies somatic mutations of DNA methyltransferase gene DNMT3A in acute monocytic leukemia / XJ. Yan [et al.]// Nat Genet.- 2011. - №43(4). – P. 309-315.
- Patel, JP. Prognostic relevance of integrated genetic

profiling in acute myeloid leukemia / JP. Patel [et al.] // N Engl. J Med.- 2012. - №366(12). P.1079-1089.

8. Carubbia N, Murati A, Trouplin V, et al. Mutations of ASXL1 gene in myeloproliferative neoplasms. Leukemia. 2009;23(11): 2183-2186

9. Metzeler, KH. ASXL1 mutations identify a high-risk subgroup of older patients with primary cytogenetically normal AML within the ELN Favorable genetic Category/K.H. Metzeler [et al.] //Blood.- 2011. - №118(26). P.6920-6929.

10. Marcucci G, Haferlach T, Dohner H. Molecular genetics of adult acute myeloid leukemia: prognostic and therapeutic implications / G. Marcucci [et al.] //Clin Oncol.- 2011.- № 29(5). – P.475-486.

11. Grimwald, Refinement of cytogenetic classification in the acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials/ D.Grimwald [et al.]// Blood. – 2010. – Vol. 116. – P.354-365.

12. Patel, J.P. How do novel molecular genetic markers influence treatment decisions in acute myeloid leukemia?/ J.P.Patel,R.L.Levine Hematology. – 2012. – P.28-33.

13. Roboz, G.J. Novel Approaches to the Treatment of Acute Myeloid Leukemia/ G.J.Roboz// Hematology. –2011. –P.43-50.
14. Estey, E. High cytogenetic or molecular genetic risk acute myeloid leukemia / E.Estey// Hematology. Am. Soc. Hematol. Ed. Program. – 2010. – P.474-480.
15. Fernandez, H.F. Anthracycline dose intensification in acute myeloid leukemia / H.F. Fernandez [et al.]// N Engl J Med.- 2009.- №361(13).- P.1249-1259.
16. Lee, J.H. A randomized trial comparing standard versus high-dose daunorubicin induction in patients with acute myeloid leukemia/J.H.Lee[etal.]//Blood.2011.-№118(14).-P.3832-3841.
17. Lowenberg, B. High dose daunorubicin in older patients with acute myeloid leukemia/B. Lowenberg B. [et al.] // N Engl J Med.- 2009.№ 361(13). – P.1235-1248.

## PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF CITOGENETIC AND MOLECULAR CHANGES IN PATIENTS WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA

### PART 2. INVESTIGATIONAL MOLECULAR GENETIC MARKERS

Zuhovitskaya E. V., Fiyas A. T.

Educational Establishment «Grodno State Medical University», Grodno, Belarus

*In the current clinical setting, a relatively small subset of genetic abnormalities are used to predict outcome and to direct therapy in acute myeloid leukemia (AML). However, a large number of AML patients lack any of these abnormalities and there remains significant heterogeneity in clinical outcome within currently classified prognostic groups. These observations suggest there are additional biomarkers that can predict outcome in AML. Recent molecular genetic studies have identified an increasing number of recurrent somatic mutations in AML patients, including mutations in TET2, ASXL1, IDH1 and IDH2, DNMT3A, and PHF6. In addition, several of these newly identified genetic abnormalities have been shown to have prognostic importance in AML.*

**Key words:** acute myeloid leukemia, cytological changes, molecular genetic changes, treatment.

Адрес для корреспонденции: e-mail: e7cm@yandex.by

Поступила 10.01.2014