

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 30.03.2023
Принята к печати 20.04.2023

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-2-24-30

Молекулярно-генетические и цитофлуориметрические факторы прогноза в развитии рецидива острого миелоидного лейкоза у детей после аллогенной трансплантации гемопозитических стволовых клеток

Ж.З. Рахманова, О.В. Паина, И.М. Бархатов, А.М. Садыков, С.В. Разумова,
Л.А. Цветкова, Е.В. Бабенко, Т.Л. Гиндина, Е.В. Семенова, Л.С. Зубаровская

Научно-исследовательский институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии
им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский
университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Контактная информация:

Рахманова Жемал Зарифовна,
врач-гематолог отделения трансплантации
костного мозга для детей №1
НИИ детской онкологии, гематологии
и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой
ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова
Минздрава России
Адрес: 197022, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, 6/8
E-mail: rakhmanovazhemal@gmail.com

Рецидив острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) после аллогенной трансплантации гемопозитических стволовых клеток (алло-ТГСК) остается одной из основных причин снижения долгосрочной выживаемости. Современные методы прогнозирования риска рецидива ОМЛ после алло-ТГСК учитывают данные предтрансплантационного уровня минимальной остаточной болезни (МОБ), определяемые методом проточной цитометрии и с помощью молекулярно-биологических исследований рекуррентных генетических аномалий, которые в настоящее время широко распространены в клинической практике. В недавних исследованиях экспрессии генов, характерных для лейкоэмических стволовых клеток (ЛСК), была показана их прогностическая значимость для детей с ОМЛ в отношении ответа на проводимую терапию, риска развития рецидива. Изучение персистенции ЛСК в целях прогнозирования риска рецидива после алло-ТГСК у детей с ОМЛ в дополнение к стандартным способам детекции МОБ может иметь большое значение. Целью работы была оценка влияния статуса МОБ, как классическими методами, так и с учетом генов, характерных для ЛСК, на результаты алло-ТГСК у детей с ОМЛ. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. Для оценки МОБ стандартными методами диагностики проанализированы данные 95 детей с ОМЛ в 1–2-й ремиссии (1-я когорта). Отрицательный статус МОБ имели 67 (70,6%) пациентов, у 28 (29,4%) детей был выявлен позитивный статус МОБ по данным молекулярно-генетических исследований и/или по результатам иммунофенотипирования. Для предтрансплантационной оценки экспрессии генов, характерных для ЛСК, была выполнена полимеразная цепная реакция в режиме реального времени биообразцов костного мозга 50 пациентов (2-я когорта). Исследовались гены *DNMT3B*, *GPR56*, *CD34*, *SOC2*, *SPINK2*, *FAM30A* и *ABL* с последующим подсчетом значения *pLSC6* по формуле: $DNMT3b \times 0,189 + GPR56 \times 0,054 + CD34 \times 0,0171 + SOC2 \times 0,141 + SPINK2 \times 0,109 + FAM30A \times 0,0516$. На момент алло-ТГСК 37 (74%) детей с ОМЛ имели 1-ю или 2-ю ремиссию заболевания, 13 (26%) находились вне 1–2-й ремиссии. При медиане наблюдения 5 лет в группе пациентов с положительным статусом МОБ, определенным стандартными способами (1-я когорта), общая выживаемость (ОВ) составила 67,9% vs 73,1% для пациентов с отрицательным статусом МОБ ($p = 0,83$). Кумулятивная частота рецидива составила 50% и 22% соответственно; $p = 0,012$. При оценке уровня экспрессии генов, характерных для ЛСК (2-я когорта), 18/37 (49%) пациентов имели уровень *pLSC6* выше медианы. По результатам линейной регрессии было показано, что предтрансплантационный уровень экспрессии генов, характерных для ЛСК, не был ассоциирован с количеством blasts/МОБ (отношение шансов 1,002; 95% доверительный интервал 0,979–1,025). Однолетняя ОВ у детей в 1–2-й ремиссии ОМЛ в зависимости от экспрессии генов *pLSC6* значимо не различалась и составила 84,2% при значении ниже медианы и 72,2% при значении выше медианы ($p = 0,4$), бессобытийная выживаемость в соответствующих группах – 68,4% и 61,1% ($p = 0,34$). Кумулятивная частота раннего рецидива после алло-ТГСК в группе пациентов с ОМЛ с высоким значением *pLSC6* значимо выше, чем у детей с низким значением *pLSC6* перед алло-ТГСК (22% и 0% соответственно; $p = 0,03$). МОБ не оказывает статистически значимого влияния на ОВ. Однако МОБ-позитивность перед алло-ТГСК повышает кумулятивную частоту рецидива. Уровень экспрессии генов, характерных для ЛСК, определенный перед алло-ТГСК, показал прогностическую значимость в отношении развития раннего рецидива ОМЛ после алло-ТГСК.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз у детей, аллогенная трансплантация гемопозитических стволовых клеток, минимальная остаточная болезнь, лейкоэмические стволовые клетки

Рахманова Ж.З. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (2): 24–30. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-2-24-30

Molecular genetic and cytofluorimetric prognostic factors in the development of acute myeloid leukemia relapse in children after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

Zh.Z. Rakhmanova, O.V. Paina, I.M. Barkhatov, A.M. Sadykov, S.V. Razumova, L.A. Tsvetkova, E.V. Babenko, T.L. Gindina, E.V. Semenova, L.S. Zubarovskaya

The R.M. Gorbacheva Research Institute for Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, the I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 30.03.2023

Accepted 20.04.2023

Relapse of acute myeloid leukemia (AML) after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) remains one of the main causes of reduced long-term survival. Modern methods for predicting the risk of AML relapse after allo-HSCT take into account the data on the pre-transplant level of minimal residual disease (MRD) determined by flow cytometry and molecular biological studies of recurrent genetic abnormalities, which are currently widespread in clinical practice. Recent studies of the expression of genes characteristic of leukemic stem cells (LSCs) have shown prognostic significance for children with AML in relation to treatment response and the risk of relapse. The study of LSC persistence in order to predict the risk of recurrence after allo-HSCT in children with AML in addition to standard MRD detection methods may be of great importance. The aim of the work was to evaluate the impact of MRD status, both using classic methods and taking into account the genes characteristic of LSC, on the results of allo-HSCT in children with AML. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation. To assess MRD using standard diagnostic methods, we analyzed the data of 95 children with AML in their 1st–2nd remission (cohort 1). MRD status was negative in 67 (70.6%) patients; in 28 (29.4%) children, MRD status was positive according to molecular genetic studies and/or immunophenotyping results. For pre-transplant evaluation of the expression of genes characteristic of LSC, we investigated bone marrow samples of 50 patients (cohort 2) using real-time polymerase chain reaction. The *DNMT3B*, *GPR56*, *CD34*, *SOCS2*, *SPINK2*, *FAM30A*, and *ABL* genes were studied by real-time polymerase chain reaction, followed by calculation of the pLSC6 value using the formula: $DNMT3b \times 0.189 + GPR56 \times 0.054 + CD34 \times 0.0171 + SOCS2 \times 0.141 + SPINK2 \times 0.109 + FAM30A \times 0.0516$. At the time of allo-HSCT, 37 (74%) children with AML were in their 1st or 2nd remission of the disease, 13 (26%) were out of the 1st–2nd remission. With a median follow-up of 5 years in the group of patients with a positive MRD status, determined by standard methods (cohort 1), overall survival (OS) was 67.9% vs 73.1% for patients with a negative MRD status ($p = 0.83$). The cumulative incidence of relapse was 50% and 22%, respectively; $p = 0.012$. When assessing the level of expression of genes characteristic of LSC (cohort 2), a pLSC6 level was above the median in 18/37 (49%) patients. The results of linear regression showed that the pre-transplant level of expression of genes characteristic of LSC was not associated with the number of blasts/MRD (odds ratio 1.002; 95% confidence interval 0.979–1.025). One-year OS rates did not differ significantly in children in the 1st–2nd remission of AML, depending on pLSC6 level: 84.2% in patients with low pLSC6 and 72.2% – with high pLSC6 ($p = 0.4$), event-free survival in the corresponding groups – 68.4% and 61.1%, respectively ($p = 0.34$). The cumulative incidence of early relapse after allo-HSCT in the group of AML patients with a high pLSC6 score was significantly higher than in children with a low pLSC6 score before allo-HSCT (22% and 0%, respectively; $p = 0.03$). MRD does not have a statistically significant effect on OS. However, MRD positivity before allo-HSCT increases cumulative incidence of relapse. The level of expression of genes characteristic of LSC, determined before allo-HSCT, showed a prognostic significance in relation to the development of early AML relapse after allo-HSCT.

Key words: acute myeloid leukemia in children, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, minimal residual disease, leukemic stem cells

Rakhmanova Zh.Z., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (2): 24–30.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-2-24-30

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) является потенциально излечивающим методом терапии детей с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ). За последние годы результаты алло-ТГСК значительно улучшились за счет оптимизации сопроводительной терапии, режимов кондиционирования, успехов в профилактике и лечении реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) [1, 2]. Несмотря на это, рецидив ОМЛ остается одной из основных причин летальности и, следовательно, снижения долгосрочной выживаемости детей после алло-ТГСК [3].

Известно, что наличие минимальной остаточной болезни (МОБ) перед алло-ТГСК значимо ухудшает прогноз пациентов с ОМЛ в связи со снижением безрецидивной выживаемости (БРВ), повышением кумулятивной частоты рецидива [4]. Так, по данным исследования Leung и соавт., 5-летняя кумулятивная частота рецидивов после алло-ТГСК составила 40% у пациентов с высоким уровнем МОБ по результатам иммунофенотипирования (ИФТ) ($\geq 1,0\%$), 16% среди детей с низким уровнем МОБ ($0,1\% - < 1\%$) и 6% среди пациентов с отрицательным статусом МОБ ($p = 0,0002$) [5].

В настоящее время основными методами диагностики МОБ остаются мультипараметрическая проточная цитометрия и определение рекуррентных генетических аномалий (слитых транскриптов) с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Преимуществом определения МОБ методом мультипараметрической проточной цитометрии является более широкая применимость, которая возможна более чем у 90% пациентов с ОМЛ, однако чувствительность метода на порядок ниже, чем при ПЦР-РВ и составляет 0,1–0,01% [6]. С помощью ПЦР-РВ слитых транскриптов можно обнаружить МОБ с уровнем чувствительности до 0,001%, однако данный метод применим только в 50–60% случаев ОМЛ у детей с обнаруживаемыми в момент постановки диагноза рекуррентными поломками вследствие молекулярной гетерогенности и нестабильности генетических изменений [7].

Одни из основных причин развития рецидива ОМЛ и резистентности заболевания к проводимой терапии – сложность полной эрадикации и персистенция клона лейкоэмических стволовых клеток (ЛСК) [8], основными характеристиками которых являются способность к самоподдержанию и неограниченная

Correspondence:

Zhemal Z. Rakhmanova, a hematologist at the Department of Bone Marrow Transplantation for Children №1 at the R.M. Gorbacheva Research Institute for Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation of the I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Address: Leo Tolstoy St. 6/8, St. Petersburg 197022, Russia
E-mail: rakhmanovazhemal@gmail.com

пролиферация. Изучение ЛСК на основе экспрессии генов, характерных для этой популяции, позволяет визуализировать их присутствие, в том числе использовать в качестве маркера МОБ с высокой степенью чувствительности после проведения химиотерапии различной интенсивности (стандартная, высокодозная, режим кондиционирования). Изучение персистенции ЛСК в целях прогнозирования риска рецидива после алло-ТГСК у детей с ОМЛ имеет большое значение.

Недавние исследования экспрессии генов, характерных для ЛСК в дебюте заболевания, показали независимую прогностическую значимость для детей с ОМЛ, которые получали стандартную химиотерапию. Это послужило основой для создания панели Pediatric Leukemic Stem Cell score (pLSC6), состоящей из 6 генов (*DNMT3B*, *GPR56*, *CD34*, *SOCS2*, *SPINK2*, *FAM30A*), которая может использоваться для прогноза риска рецидива и ответа на проводимую терапию. Было показано, что высокий уровень экспрессии генов pLSC6, определяемый в дебюте ОМЛ, связан с худшим прогнозом даже у последующих реципиентов алло-ТГСК. Тем не менее к настоящему моменту не опубликованы данные о прогностической ценности уровня экспрессии генов pLSC6 на разных этапах терапии [9]. Особенно важно, что уровень экспрессии генов pLSC6, определяемый до алло-ТГСК, может быть критерием обоснованности показаний, выбора режима кондиционирования, необходимости назначения профилактики рецидива после алло-ТГСК.

Цель работы – провести оценку влияния статуса МОБ, определенного с помощью стандартных методов, а также на основании уровня экспрессии генов, характерных для ЛСК, на общую (ОВ) и бессобытийную (БСВ) выживаемость, кумулятивную частоту рецидива после алло-ТГСК у детей с ОМЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. На первом этапе для оценки влияния МОБ, определенной стандартными методами (ИФТ, молекулярно-биологические исследования рекуррентных генетических аномалий) проанализированы данные 95 детей с ОМЛ в 1–2-й ремиссии (1-я когорта), которым была выполнена алло-ТГСК в период с 2008 по 2021 г. Медиана возраста на момент проведения алло-ТГСК составила 8 лет (5 месяцев – 19 лет). Отрицательный статус МОБ имели 67 (70,6%) пациентов, у 28 (29,4%) детей был выявлен позитивный статус МОБ, в том числе в 26 случаях по данным ИФТ, в 2 – по резуль-

татам молекулярно-генетических исследований (*KMT2A::MLLT3* и *RUNX1::RUNX1T1*). В таблице представлена характеристика особенностей алло-ТГСК у пациентов ОМЛ.

Профилактика рецидива ОМЛ после алло-ТГСК включала:

- 5-азацидин 20–70 мг/м² от 3 до 5 курсов у 10 (53%) пациентов;
- инфузию донорских лимфоцитов в суммарной дозе CD3⁺/кг $1,5 \times 10^6$ – 2×10^8 у 5 (26%) пациентов;
- инфузию донорских лимфоцитов + 5-азацидин у 4 (21%) больных.

На втором этапе в целях оценки экспрессии генов, характерных для ЛСК, и их влияния на результаты алло-ТГСК, была выполнена ПЦР-РВ 50 биообразцов костного мозга пациентов (2-я когорта), биоматериал которых был доступен в биобанке НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой.

Методом ПЦР-РВ исследовали гены *DNMT3B*, *GPR56*, *CD34*, *SOCS2*, *SPINK2*, *FAM30A* относительно уровня экспрессии референс-гена *ABL* по формуле: $\Delta Ct = (2^{-(Ct(\text{gene of interest}) - Ct(\text{housekeeping gene}))}) \times 100$.

В дальнейшем значение pLSC6 рассчитывали следующим образом: $DNMT3b \times 0,189 + GPR56 \times 0,054 + CD34 \times 0,0171 + SOCS2 \times 0,141 + SPINK2 \times 0,109 + FAM30A \times 0,0516$.

На момент алло-ТГСК в данной группе 37 (74%) детей с ОМЛ были в 1-й или 2-й ремиссии заболевания, 13 (26%) – вне 1–2-й ремиссии.

Медиана возраста во 2-й когорте составила 6 (1–18) лет. Среди пациентов в 1–2-й ремиссии ОМЛ 3 (8%) ребенка получили алло-ТГСК от полностью совместимого сиблинга, 15 (41%) – от неродственного донора, 19 (51%) – от гаплоидентичного донора. Профилактику РТПХ на основе циклофосфамида получили 29 (78%) пациентов.

Результаты алло-ТГСК оценивали на основании показателей ОВ, БСВ с помощью метода Каплана–Майера, для сравнения использовали логарифмический критерий. Для оценки кумулятивной частоты рецидива проводился сравнительный анализ с помощью теста Грея.

ОВ определялась как время от дня 0 алло-ТГСК до смерти от любой причины, БСВ – как время от дня 0 алло-ТГСК до рецидива/прогрессирования или смерти от любой причины. Пациенты, в отношении которых не произошло события, цензурировались на дату последнего контакта.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка влияния статуса МОБ, определенного с помощью стандартных методов, на результаты алло-ТГСК у детей с ОМЛ

Таблица

Характеристика пациентов с ОМЛ в зависимости от статуса МОБ до алло-ТГСК, определенного с помощью стандартных методик

Table

Characteristics of patients with acute myeloid leukemia (AML) depending on their minimal residual disease (MRD) status before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) determined using standard methods

| Параметр Parameter | МОБ(–) MRD(–) | МОБ(+) MRD(+) | p |
|--|------------------|------------------|-------|
| Режим кондиционирования Conditioning regimen | | | |
| МАК: MAC: | 43 (64%) | 13 (46,4%) | 0,111 |
| бусульфан 10–16 мг/кг busulfan 10–16 mg/kg | 33 (49%) | 10 (36%) | |
| треосульфан 14 мг/м² treosulfan 14 mg/m² | 10 (15%) | 2 (7%) | |
| РИК: RIC: | 24 (36%) | 15 (53,6%) | |
| бусульфан 8 мг/кг busulfan 8 mg/kg | 10 (15%) | 6 (5%) | |
| мелфалан 140 мг/м² melphalan 140 mg/m² | 11 (16%) | 9 (32%) | |
| другие other | 3 (4%) | 0 | |
| Тип донора Donor type | | | |
| Родственный совместимый Related matched | 8 (12%) | 5 (18%) | 0,29 |
| Неродственный Unrelated | 33 (49%) | 15 (53,5%) | |
| Гаплоидентичный Haploidentical | 26 (39%) | 8 (28,5%) | |
| Другие данные Other data | | | |
| Профилактика РТПХ: Prophylaxis of graft-versus-host disease: | | | 0,3 |
| на основе циклофосфана cyclophosphan-based | 48 (71,6%) | 17 (60,7%) | |
| другая other | 19 (28,4%) | 11 (39,3%) | |
| Профилактика/превентивная терапия рецидива после алло-ТГСК Prophylaxis/preventive therapy for relapse after allo-HSCT | 11 (16,4%) | 8 (28,5%) | 0,18 |

Примечание. МАК – миелоаблативное кондиционирование; РИК – режим кондиционирования со сниженной интенсивностью.
Note. MAC – myeloablative conditioning; RIC – reduced intensity conditioning.

При медиане наблюдения 5 лет в 1-й когорте пациентов с положительным статусом МОБ, определенным с помощью стандартных методик (ИФТ, молекулярно-биологические исследования рекуррентных генетических аномалий), ОВ составила 67,9% vs 73,1% для пациентов с отрицательным статусом МОБ ($p = 0,83$). Приживление было достигнуто в 24 (85%) случаях среди МОБ-положительных пациентов и в 60 (90%) случаях в группе МОБ-негативных пациентов ($p = 0,5$). Медиана срока приживления по нейтрофилам составила 19 и 21 день в соответствующих группах ($p = 0,43$).

В группе МОБ-положительных пациентов БСВ составила 42,9% vs 65,7% у МОБ-негативных больных ($p = 0,06$). Кумулятивная частота рецидива – 50% и 22% соответственно ($p = 0,012$).

Мы оценили БСВ (рисунок 1) и кумулятивную частоту рецидива в следующих группах:

- МОБ(+) перед алло-ТГСК без посттрансплантационной профилактики рецидива: БСВ – 35%, кумулятивная частота рецидива – 60%;

- МОБ(+) перед алло-ТГСК с посттрансплантационной профилактикой рецидива: БСВ – 62,5%, кумулятивная частота рецидива – 25%;

- МОБ(–) перед алло-ТГСК без посттрансплантационной профилактики рецидива: БСВ – 60,7%, кумулятивная частота рецидива – 25%;

- МОБ(–) перед алло-ТГСК с посттрансплантационной профилактикой рецидива: БСВ – 90,9%, кумулятивная частота рецидива – 9%.

Уровень значимости для БСВ – $p = 0,03$, для кумулятивной частоты рецидива – $p = 0,01$.

Оценка влияния уровня экспрессии генов, характерных для ЛСК, на результаты алло-ТГСК у детей с ОМЛ

При оценке уровня экспрессии генов, характерных для ЛСК, медиана значения во 2-й когорте по формуле, описанной ранее, составила 22, у 18 (49%) из 37 пациентов в 1–2-й ремиссии заболевания значения $rLSC6$ были выше медианы.

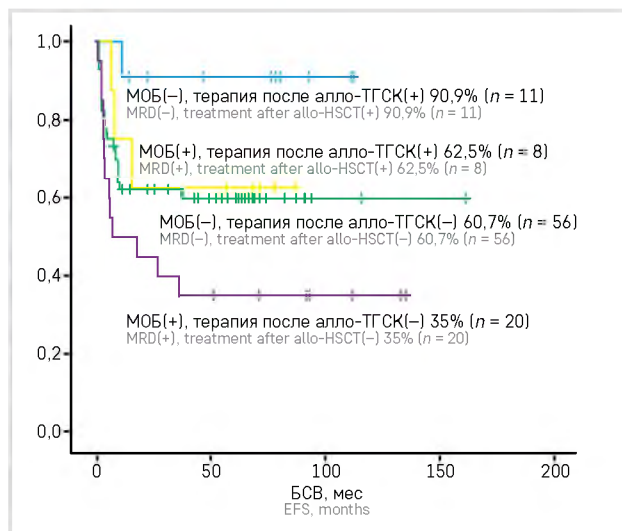
Приживление трансплантата у детей в 1–2-й ремиссии ОМЛ было достигнуто у 17 (89%) пациентов со значением $rLSC6$ ниже медианы и у 14 (78%) детей со значением $rLSC6$ выше медианы ($p = 0,341$). Примечательно, что при отсутствии статистически значимых различий в кинетике приживления по нейтрофилам у пациентов в 1–2-й ремиссии ОМЛ

Рисунок 1

Влияние посттрансплантационной профилактики на БСВ у пациентов с разным статусом МОБ ОМЛ перед алло-ТГСК

Figure 1

The impact of post-transplant prophylaxis on event-free survival (EFS) in patients with different AML MRD statuses before allo-HSCT



медиана срока приживления для детей с низким значением pLSC6 составила 18,5 дня и 21 день для детей с высоким значением pLSC6 ($p = 0,141$), в общей группе, включающей также пациентов вне ремиссии, получены статистически значимые различия – 18 и 21,5 дня соответственно ($p = 0,011$).

Только 6 из 18 пациентов в 1–2-й ремиссии с высокими значениями экспрессии генов pLSC6 были МОБ-положительными по данным стандартных методик.

По результатам линейной регрессии, оцениваемым у детей как вне ремиссии ОМЛ, так и в ремиссии заболевания, было показано, что значение pLSC6 до алло-ТГСК не было ассоциировано с количеством злокачественных бластов в костном мозге и МОБ по данным ИФТ (отношение шансов 1,002; 95% доверительный интервал 0,979–1,025).

Однолетняя ОВ у детей в 1–2-й ремиссии ОМЛ в зависимости от экспрессии генов pLSC6 значимо не различалась и составила 84,2% при значении ниже медианы и 72,2% при значении выше медианы ($p = 0,4$), БСВ в соответствующих группах – 68,4% и 61,1% ($p = 0,34$). Медиана развития рецидива ОМЛ после алло-ТГСК в данной группе составила 5 (1,5–52) мес. Кумулятивная частота раннего рецидива после алло-ТГСК у пациентов с ОМЛ и высоким значением экспрессии генов pLSC6 была значимо выше, чем у детей с низким уровнем экспрессии генов pLSC6 перед алло-ТГСК – 22% и 0% соответственно; $p = 0,03$ (рисунок 2).

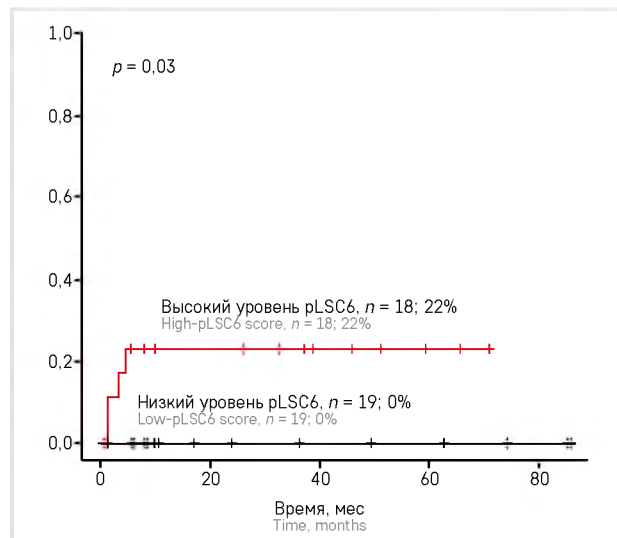
Из 4 пациентов, развивших ранний рецидив после алло-ТГСК, только 2 имели положительный статус МОБ: 1 – по данным ИФТ и 1 – по данным исследования

Рисунок 2

Кумулятивная частота раннего рецидива после алло-ТГСК в 1–2-й ремиссии ОМЛ в зависимости от экспрессии генов pLSC6

Figure 2

The cumulative incidence of early relapse after allo-HSCT in the 1st–2nd remission of AML depending on the expression of LSC enriched genes (pLSC6)



стандартных молекулярно-генетических маркеров (рисунок 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

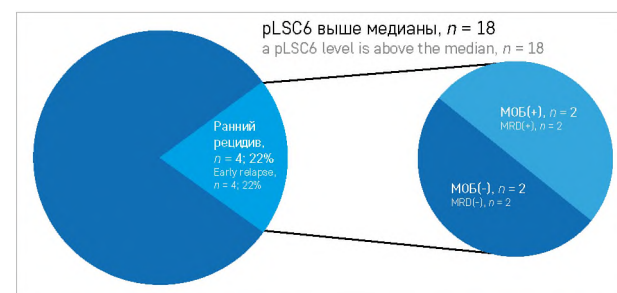
Определение статуса МОБ до алло-ТГСК с помощью стандартных методик показало неоднозначные результаты, все еще есть серые зоны, которые могут быть заполнены новыми маркерами. По данным международных исследований известно, что МОБ-положительность перед алло-ТГСК связана со снижением ОВ и повышением кумулятивной частоты рецидивов [4]. Однако даже для группы пациентов с МОБ-негативным статусом сохраняется риск возврата ОМЛ после алло-ТГСК. В исследуемой нами когорте кумулятивная частота рецидива у пациентов, имеющих МОБ-негативный статус, составила 22%, что может быть связано как с техническими ограни-

Рисунок 3

Структура раннего рецидива после алло-ТГСК в исследуемой когорте

Figure 3

Structure of an early relapse after allo-HSCT in the study cohort



чениями чувствительности и специфичности оценки МОБ, так и с биологическими причинами.

Рецидив может возникать вследствие персистенции популяции резистентных к проводимой терапии бластов, распространенных во фракции ЛСК, которые не могут быть обнаружены с помощью стандартных методик определения МОБ [10]. Поиск биомаркеров, отражающих количественное значение ЛСК, является сложной задачей, так как с иммунофенотипической и геномной точки зрения фракции ЛСК являются гетерогенными [11]. Тем не менее на основании недавних исследований сначала на когорте взрослой популяции пациентов с ОМЛ удалось выявить генетический профиль ЛСК, включающий 17 генов – LSC17, а затем, основываясь на этих данных, для педиатрической когорты был разработан суррогатный маркер, характеризующий популяцию ЛСК, включающий 6 генов, – pLSC6 [9, 12]. Нами было проведено исследование уровня экспрессии генов, характерных для ЛСК (pLSC6) у детей с ОМЛ перед алло-ТГСК, и было показано, что кумулятивная частота раннего рецидива после трансплантации составила 22% у пациентов со значением pLSC6 выше медианы vs 0% для детей с ОМЛ с низким значением pLSC6 ($p = 0,03$). При этом из 4 пациентов, развивших ранний рецидив после алло-ТГСК, только 2 имели позитивный статус МОБ по данным стандартных методик. Учитывая снижение кумулятивной частоты рецидива у пациентов, получавших профилактику возврата ОМЛ после алло-ТГСК, уровень экспрессии генов, характерных для ЛСК может использоваться как дополнительный инструмент при принятии решения о необходимости проведения профилактической терапии у детей с ОМЛ после алло-ТГСК.

Также, по данным проведенного исследования, в общей когорте пациентов было показано, что кинетика приживления донорского костного мозга при высоком уровне экспрессии генов, характерных для ЛСК, определенном до алло-ТГСК, более медленная, что, вероятно, может быть ассоциировано с прямым или опосредованным ингибирующим влиянием популяции ЛСК на нормальный гемопоэз. По данным литературы, провоспалительные цитокины, продуцируемые ЛСК, также могут быть причиной данного феномена. Так, например, аутокринная продукция

TNF- α ЛСК увеличивает активацию пути NF κ B и способствует прогрессированию острого лейкоза, в то же время TNF- α подавляет колониобразующую способность lin-CD34⁺-стволовых клеток/клеток-предшественников человека и гемопоэтических стволовых клеток мышей *in vitro*, а также их способность к приживлению в организме мышей-реципиентов [13–15].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Позитивный статус МОБ перед алло-ТГСК ассоциирован с более высокой кумулятивной частотой рецидива после алло-ТГСК, значимого влияния в исследуемой когорте на показатели ОВ выявлено не было.

Проведение профилактики рецидива ОМЛ после алло-ТГСК значимо снижает кумулятивную частоту рецидива после трансплантации у пациентов как с позитивным, так и с негативным статусом МОБ, определенным до алло-ТГСК.

Уровень генов, характерных для ЛСК, определенный до алло-ТГСК, показал прогностическую значимость в отношении развития раннего посттрансплантационного рецидива ОМЛ у детей и в перспективе может быть одним из факторов, помогающим в принятии решения о целесообразности профилактической посттрансплантационной терапии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при поддержке Фонда содействия инновациям «Фонд-М», грант №0059546.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Rakhmanova Zh.Z. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3386-0942>

Paina O.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7263-4326>

Barkhatov I.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8000-3652>

Razumova S.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6918-8510>

Sadykov A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4360-9767>

Tsvetkova L.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4952-0704>

Babenko E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3367-4936>

Gindina T.L. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1302-3311>

Semenova E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5077-9225>

Zubarovskaya L.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2594-7703>

Литература

1. Algeri M., Merli P., Locatelli F., Pagliara D. The Role of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Pediatric Leukemia. *J Clin Med* 2021; 10 (17): 3790. DOI: 10.3390/jcm10173790
2. Бондаренко С.Н., Разумова С.В., Станчева Н.В., Семёнова Е.В., Слесарчук О.А., Алянский А.Л. и др. Эффективность аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток с миелоаблативным режимом и режимом кондиционирования со сниженной интенсивностью у детей и подростков с острым миелобластным лейкозом. *Онкопедиатрия* 2015; 2: 396–403.
3. Uden T., Bertaina A., Abrahamson J., Ansari M., Balduzzi A., Bourquin J.P., et al. Outcome of children relapsing after first allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukaemia: a retrospective I-BFM analysis of 333 children. *Br J Haematol* 2020; 189 (4): 745–50. DOI: 10.1111/bjh.16441
4. Buckley S.A., Wood B.L., Othus M., Hourigan C.S., Ustun C., Linden M.A., et al. Minimal residual disease prior to allogeneic hematopoietic cell transplantation in acute myeloid leukemia: A meta-analysis. *Haematologica* 2017; 102: 865–73. DOI: 10.3324/haematol.2016.159343
5. Leung W., Pui C.H., Coustan-Smith E., Yang J., Pei D., Gan K., et al. Detectable minimal residual disease before hematopoietic cell transplantation is prognostic but does not preclude cure for children with very-high-risk leukemia. *Blood* 2012; 120: 468–72. DOI: 10.1182/blood-2012-02-409813
6. Campana D. Status of minimal residual disease testing in childhood haematological malignancies. *Br J Haematol* 2008; 143: 481–9. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07350.x
7. Schuurhuis G.J., Heuser M., Freeman S., Bené M.C., Buccisano F., Cloos J., et al. Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood* 2018; 131: 1275–91. DOI: 10.1182/blood-2017-09-801498
8. Terwijn M., Zeijlemaker W., Kelder A., Rutten A.P., Snel A.N., Scholten W.J., et al. Leukemic stem cell frequency: a strong biomarker for clinical outcome in acute myeloid leukemia. *PLoS One* 2014; 9 (9): e107587.
9. Elsayed A.H., Rafiee R., Cao X., Raimondi S., Downing J.R., Ribeiro R., et al. A six-gene leukemic stem cell score identifies high risk pediatric acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2020; 34 (3): 735–45. DOI: 10.1038/s41375-019-0604-8.
10. Shlush L.I., Mitchell A., Heisler L., Abelson S., Ng S.W.K., Trotman-Grant A., et al. Tracing the origins of relapse in acute myeloid leukaemia to stem cells. *Nature* 2017; 547 (7661): 104–8.
11. Shin D.Y. Human acute myeloid leukemia stem cells: evolution of concept. *Blood Res* 2022; 57 (S1): 67–74. DOI: 10.5045/br.2022.2021221
12. Ng S.W., Mitchell A., Kennedy J.A., Chen W.C., McLeod J., Ibrahimova N., et al. A 17-gene stemness score for rapid determination of risk in acute leukaemia. *Nature* 2016; 540 (7633): 433–7. DOI: 10.1038/nature20598
13. Selleri C., Sato T., Anderson S., Young N.S., Maciejewski J.P. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha suppress both early and late stages of hematopoiesis and induce programmed cell death. *J Cell Physiol* 1995; 165: 538–46.
14. Dybedal I., Bryder D., Fossum A., Rusten L.S., Jacobsen S.E. Tumor necrosis factor (TNF)-mediated activation of the p55 TNF receptor negatively regulates maintenance of cycling reconstituting human hematopoietic stem cells. *Blood* 2001; 98: 1782–91.
15. Kagoya Y., Yoshimi A., Kataoka K., Nakagawa M., Kumano K., Arai S., et al. Positive feedback between NF-kappaB and TNF-alpha promotes leukemia-initiating cell capacity. *J Clin Invest* 2014; 124: 528–42.