

МУТАЦИИ В ГЕНАХ IDH1 И IDH2 У ПАЦИЕНТОВ С ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННОЙ ОСТРОЙ МИЕЛОИДНОЙ ЛЕЙКЕМИЕЙ: РОЛЬ В ЛЕЙКОГЕНЕЗЕ, ЧАСТОТА ВОЗНИКНОВЕНИЯ, АССОЦИАЦИЯ С ПРОГНОЗОМ

¹Доктор медицинских наук Татьяна Петровна Перехрестенко,

²Кандидат медицинских наук Оксана Андреевна Карнабеда,

²Врач-интерн Зинаида Владимировна Ступакова,

³Заведующая отделением гематологии №1 Ульяна Игоревна Мельник

Украина,

¹ГУ "Институт гематологии и трансфузиологии НАМН Украины";

²Национальный Медицинский Университет имени А. А. Богомольца;

³Киевская городская клиническая больница №9

Abstract. Acute myeloid leukemia (AML) is a malignant hematologic disease characterized by clonal proliferation of myeloid blasts in the peripheral blood, bone marrow and their further accumulation in organs and tissues due to congenital or acquired genetic mutations. Mutations in the IDH1/2 genes represent a new class of point mutations in patients with AML. The prognostic effect of this mutations is the subject of research and so far remains controversial. The aim of this study is to present the overview of modern clinical literature in order to better understanding biochemistry, mechanisms of leukogenesis and influence of these class of mutations on prognosis and clinical outcome of patients with AML.

Keywords: acute myeloid leukemia (AML), IDH1/2 mutations, biochemistry, clinical outcome, myeloid blasts, leukogenesis.

Вступление. Острая миелоидная лейкемия (ОМЛ) – это моноклональное гематологическое заболевание, которое характеризуется злокачественной пролиферацией миелоидных бластов в периферической крови, костном мозге и дальнейшим их накоплением в органах и тканях, вследствие врожденных или приобретенных генетических мутаций. Согласно классификации миелоидных опухолей и острой лейкемии ВОЗ 2016 года, диагноз ОМЛ может быть поставлен при наличии 20 % и более миелоидных бластов в мазках костного мозга или периферической крови [1].

Трудно недооценить важность цитогенетической классификации ОМЛ по группам риска и прогноз пациентов с моносомальным кариотипом (больше 2 аутосомных моносомий, или моносомия со структурной аномалией), моносомией 5 и 7 хромосомы, а также комплексным кариотипом (больше 3 клональных цитогенетических аномалий). 5-ти летняя выживаемость среди взрослого населения согласно данных Southwest Oncology Group (SWOG)/Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) составляет 55 %, 38 % и 11 % в группах благоприятного, промежуточного и неблагоприятного прогностического риска соответственно [2]. Данные исследования Dutch-Belgian-Swiss cooperative group (HOVON/SAKK) установили корреляционную связь у пациентов моложе 60 лет с ОМЛ: 4-летняя общая выживаемость (ОВ) с моносомальным кариотипом составила 4 %; ОВ с комплексным кариотипом (при условии отсутствия моносомий) – 26 % [3].

Согласно данным крупных ретроспективных исследований от 40 до 50 % пациентов с ОМЛ входят в группу промежуточного риска [4], но клинически эти пациенты имеют различный ответ на терапию и исход. Таким образом, появилась необходимость исследования новых молекулярно-генетических маркеров, многие из которых уже являются независимыми предикторами: NPM 1, FLT3-ITD, СЕВРА, а некоторые еще нуждаются в дополнительных исследованиях: KIT, DNMT3A, TET2 и IDH 1/2. Так у пациентов в группе промежуточного цитогенетического риска, мутации гена NPM1 признаны благоприятным фактором прогноза ОВ, безрецидивной выживаемости (БРВ) и частоты получения полного ответа на терапию (ПО) [5, 6]. Мутации в гене FLT3-ITD (internal tandem duplications) имеют крайне неблагоприятный прогноз у пациентов с нормальным кариотипом; медиана общей выживаемости составляет от 6 до 12 месяцев [7, 8].

Результаты исследования. Биохимия изоцитратдегидрогеназ и их участие в туморогенезе. Мутации в генах изоцитрат дегидрогеназы 1 и 2 типа – IDH 1/2 (isocitrate dehydrogenase) – представляют новый класс точечных мутаций у пациентов с ОМЛ, впервые выявленные в 2009 году Mardis E.R. и коллегами с помощью полного секвенирования генома у пациента с впервые выявленной ОМЛ [9].

Изоцитратдегидрогеназы (IDH) представляют собой ферменты, которые катализируют окислительное декарбоксилирование изоцитрата до α- кетоглутарата (α-KG) при участии

никотинамидадениндинуклеотида (NAD) для получения NAD-фосфата (NADPH) [10]. IDH 1 кодирует NADPH-зависимую цитоплазматическую/пероксисомную изоцитратдегидрогеназу, IDH 2 – митохондриальную; расположены у человека на длинном плече хромосом 2q33.3 [11] и 15q26.1 [12] соответственно. Согласно последних данных все мутации IDH связаны с заменой одной аминокислоты в аргининовом остатке (R) в кодоне 132 гена IDH1, кодонах 140 и 172 гена IDH2. Эти аргининовые остатки создают гидрофильные связи, которые способны присоединить изоцитрат. Замещенные остатки аргинина (R) также часто представлены гистидном, серином, глицином или лейцином, что может означать полную замену аргинина, а не одной аминокислоты в остатке, влияя таким образом на присоединение изоцитрата что, возможно, является ведущим механизмом туморогенеза. Вследствие мутаций IDH1 и IDH2 не способны нормально катализировать изоцитрат, взамен этому происходит уменьшение α -KG до стереоспецифического D-стереоизомера 2-гидроксиглутарата (D-2HG), который считается предположительным онкометаболитом [13]. Результаты анализов in vitro у пациентов с ОМЛ и мутациях в генах IDH1 и IDH2 показали, что уровень D-2HG в 100 раз выше, чем у пациентов с немутированными (wild-type, WT) IDH1 и IDH2. Также метаболический анализ с определением уровня D-2HG может идентифицировать пациентов с опухолеассоциированными мутациями IDH [14, 15].

Повышение уровня D-2HG и ингибирование α -KG-зависимых ферментов, необходимых для нормального метилирования ДНК, возможно является эпигенетическим механизмом патогенеза ОМЛ. Важным моментом в отношении роли мутаций в генах IDH1/2 и гиперпродукции D-2HG в aberrантном метилировании ДНК лежит взаимосвязь ферментов IDH с семейством онкогенов TET (Рисунок 1) [16].

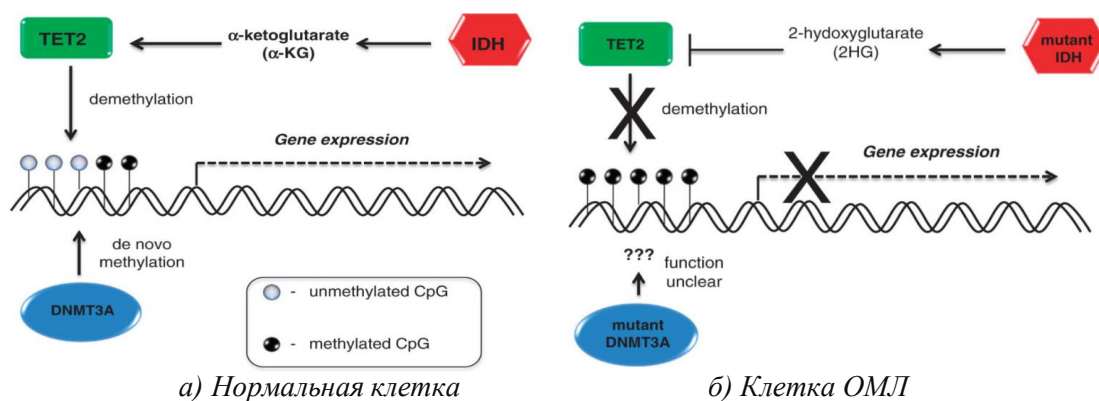


Рис. 1. а – Взаимное функционирование ферментов IDH, TET2, DNMT3A в деметилировании ДНК и экспрессии генов в нормальной клетке; б – патологический механизм при участии мутированной IDH в экспрессии генов в клетках ОМЛ

TET2 является α -KG-зависимым ферментом, с помощью которого происходит гидроксилирование 5-метилцитозина с дальнейшим деметилированием ДНК [13]. Мутации TET2 приводят к потере его нормальной ферментативной функции, при этом мутации IDH1/2 оказываются эксклюзивными в ОМЛ, что создает наслаивающийся биологический эффект [17]. Но дефицит α -KG и наличие D-2HG в клетках, экспрессирующих мутантные IDH1/2, приводит к ослаблению действия TET2, тем самым нарушая TET2 зависимое деметилирование ДНК. Согласно мнению Figueroa M.E. и коллег это означает то, что мутации в генах IDH и TET2 приводит к эпигенетическим дефектам, а мутации в генах IDH1/2 приводят к ослаблению функции TET2 [17], и фактически способствуют ослаблению дифференциации миелоидных клеток и повышенной экспрессии маркеров клеток-предшественниц, предположительно создавая оптимальные условия для дифференциальной блокады в ОМЛ [16].

IDH мутации у пациентов с ОМЛ. Частота выявления мутаций в генах IDH1 у пациентов с ОМЛ, согласно данным разных исследований, составляет от 6 % до 9 % [19, 23-25]; в группе пациентов с нормальной цитогенетикой (CN-ОМЛ) 8-16 % [18, 21, 22]. Мутации в генах IDH2 встречаются несколько чаще и по данным разных источников составляют от 8 % до 19 % [18-23].

По результатам исследований ОМЛ с мутациями в генах IDH1 и IDH2 ассоциируется с повышенным количеством тромбоцитов, у пациентов более старшего возраста (старше 67 лет) и более высоким процентным содержанием бластов в костном мозге [19, 20, 23, 26, 27], а также чаще ассоциированы с нормальной цитогенетикой и мутациями в генах NPM1 и FLT3-ITD [21-29].

Анализ выживаемости и влияние мутаций в генах IDH на прогноз ОМЛ. Прогностическое влияние мутаций в генах IDH1/2 является предметом дискуссий и исследований и пока остается противоречивым.

Таблица 1. Частота возникновения и ассоциация с прогнозом IDH 1/2 мутаций у пациентов с ОМЛ согласно данным разных исследований

Исследование (n – количество пациентов)	IDH 1	IDH 2	Ассоциация с прогнозом	Ссылка
P. Paschka и коллеги (n = 805)	7,6 %	8,7 %	Негативное прогностическое влияние мутации в генах IDH 1/2 у пациентов с $^{mut}NPM1 + FLT3-ITD^{neg}$: – ассоциированы со сниженной 5-ти летней RFS – 37 % IDH mut vs 67 % IDH unmut – ассоциированы со сниженной 5-ти летней OS – 41 % IDH mut vs 65 % IDH unmut	22
S. Abbas и коллеги (n = 893)	6 %	11 %	Негативное прогностическое влияние мутации в генах IDH 1 у пациентов с $NPM1^{wild-type} + FLT3^{wild-type}$: – выраженное снижение OS у пациентов с IDH1 mut + $NPM1^{wild-type} + FLT3^{wild-type}$	19
G. Marcucci и коллеги (n = 358)	14 %	19 %	Негативное прогностическое влияние мутации в генах IDH 1 (R132) у пациентов с $^{mut}NPM1 + FLT3-ITD^{neg}$: – ассоциированы со сниженной 5-ти летней DFS – 42 % IDH1 mut vs 59 % IDH1/2 $^{wild-type}$ – тенденция к снижению 5-ти летней OS – 50 % IDH1 mut vs 63 % IDH1/2 $^{wild-type}$ Негативное прогностическое влияние мутации в генах IDH 2 (R172) у пациентов с $^{mut}NPM1 + FLT3-ITD^{neg}$: – тенденция к снижению CR у пожилых пациентов по сравнению с IDH1 unmut + IDH2 $^{wild-type}$ (20 % vs 67 %) – тенденция к снижению 3-х летней OS у пожилых пациентов по сравнению с IDH1 unmut + IDH2 $^{wild-type}$ (0 % vs 17 %)	21
C.D. DiNardo и коллеги (n = 826)	7 %	13 %	Тенденция к благоприятному прогностическому влиянию мутации в генах IDH1/2 mut у пациентов с $^{mut}NPM1$: – ассоциированы с 2-х летней OS – 51 % IDH1/2 mut + $NPM1^{mut}$ vs 43 % IDH1/2 unmut + $NPM1^{mut}$ Прогностическое влияние мутации в генах IDH mut + $NPM1^{mut}$ 2-летняя OS 100 % vs IDH mut 2-летняя OS 60 % vs $NPM1^{mut}$ 2-летняя OS 58 %	26
E.R. Mardis и коллеги (n = 80)	16 % NC-ОМЛ	-	Возможно негативное прогностическое влияние мутации в генах IDH 1 (R132) у пациентов с $NPM1^{wild-type}$ и NC-ОМЛ	9
W.C. Chou и коллеги (n = 493) (n = 446)	5,5 %	12,1 %	Прогностическое влияние мутации в генах IDH 1 (R132) – <u>отсутствует негативное влияние на OS</u> Прогностическое влияние мутации в генах IDH 2 – разница в получении CR у пациентов с IDH1 unmut и IDH1 mut – <u>отсутствует</u> Тенденция к неблагоприятному прогнозу в группе IDH2 unmut + FLT3-ITD positive	18, 30
Y. Shen и коллеги (n = 605)	9,3 %	9,8 %	<u>Ассоциация с неблагоприятным прогнозом отсутствует</u> - мутации в генах IDH 1/2 у пациентов с $^{mut}NPM1$ не влияют на OS и RFS	24
S. Chotirat и коллеги (n = 230)	8,7 %	10,4 %	<u>Ассоциация с неблагоприятным прогнозом отсутствует</u> - мутации в генах IDH 1/2 у пациентов с $^{mut}NPM1$ не влияют на OS	20
M. Koszarska и коллеги (n = 376)	8,5 %	7,5 %	<u>Ассоциация с неблагоприятным прогнозом отсутствует</u> - мутации в генах IDH 1/2 не влияют на OS в сравнении с IDH unmut IDH 1 (R132) – негативное влияние на OS (0 % vs 31 %) IDH 1/2 unmut	23
J.P. Patel и коллеги (n = 398)	7 %	8 %	Ассоциация с благоприятным прогнозом у пациентов с IDH2 mut R140 – 3 летняя OS 66 % Позитивное прогностическое влияние мутации в генах IDH1/2 mut у пациентов с $^{mut}NPM1$: – ассоциированы с улучшенной 3-х летней OS – 89 % IDH1/2 mut + $NPM1^{mut}$ vs 31 % IDH1/2 unmut + $NPM1^{mut}$	28

RFS – relapse free survival – безрецидивная выживаемость = DFS – disease free survival

OS – overall survival – общая выживаемость

$^{wt}NPM1$ - wild-type NPM 1

FLT3-ITD wt - wild-type FLT3-ITD

CR – complete response – частота получения полного ответа

Выводы. Мутации в генах IDH 1/2 представляют собой новый класс точечных мутаций у пациентов с ОМЛ. Согласно данным проведенных исследований IDH 1/2 мутации чаще происходят в группе промежуточного цитогенетического риска у пациентов более старшего возраста (старше 67 лет) и часто ассоциированы с мутациями в генах NPM1, FLT3-ITD, повышенным числом тромбоцитов и процентом миелоидных бластов в костном мозге. Прогностическое значение в достижении ответа на лечение, длительности ремиссии и прогноза у пациентов группы CN-ОМЛ и ОМЛ в общем остается предметом исследований и дискуссий.

Возможно, такое расхождение в результатах исследований связано с широким спектром мутаций IDH в кодонах и их тесной взаимосвязи с другими точечными мутациями, а также различным подходом к формированию статистических групп. В любом случае, группа мутаций IDH1/2 остается предметом для дальнейших исследований и внедрения таргетной терапии, что поможет затронуть многофакторные патогенетические процессы у пациентов с ОМЛ и значительно улучшить прогноз заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016;127:2391-2405.
2. Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA, et al. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study. *Blood* 2000; 96: 4075-4083.
3. Breems DA, Van Putten WL, De Greef GE, et al. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype. *J Clin Oncol* 2008;26:4791-4797.
4. Byrd JC, Mrozek K, Dodge RK, et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood* 2002;100:4325-4336.
5. Dohner K, Schlenk RF, Habdank M, et al. Mutant nucleophosmin (NPM1) predicts favorable prognosis in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: interaction with other gene mutations. *Blood* 2005;106:3740-3746.
6. Falini B, Nicoletti I, Martelli MF, Mecucci C. Acute myeloid leukemia carrying cytoplasmic/mutated nucleophosmin (NPMc+ AML): biologic and clinical features. *Blood* 2007;109:874-885.
7. Frohling S, Schlenk RF, Breitnick J, et al. Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML Study Group Ulm. *Blood* 2002;100:4372-4380.
8. Whitman SP, Maharry K, Radmacher MD, et al. FLT3 internal tandem duplication associates with adverse outcome and gene- and microRNA-expression signatures in patients 60 years of age or older with primary cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *Blood* 2010;116:3622-3626.
9. Mardis ER, Ding L, Dooling DJ, et al. Recurring mutations found by sequencing an acute myeloid leukemia genome. *N Engl J Med* 2009;361:1058-66.
10. Haselbeck RJ, McAlister-Henn L. Function and expression of yeast mitochondrial NAD- and NADP-specific isocitrate dehydrogenases. *J Biol Chem* 1993; 268:12116-22.
11. Geisbrecht BV, Gould SJ. The human PICD gene encodes a cytoplasmic and peroxisomal NADP(+)-dependent isocitrate dehydrogenase. *J Biol Chem* 1999; 274:30527-33.
12. Oh IU, Inazawa J, Kim YO, Song BJ, Huh TL. Assignment of the human mitochondrial NADP(+)-specific isocitrate dehydrogenase (IDH2) gene to 15q26.1 by in situ hybridization. *Genomics* 1996;38:104-6.
13. Rakheja D., Konoplev S., Medeiros J. et al. IDH mutations in acute myeloid leukemia. *Human Pathology* (2012) 43, 1541–1551.
14. Gross S, Cairns RA, Minden MD, et al. Cancer-associated metabolite 2-hydroxyglutarate accumulates in acute myelogenous leukemia with isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations. *J Exp Med* 2010;207: 339-44.
15. Dang L, White DW, Gross S, et al. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature* 2009;462:739-44.
16. Im AP, Sehgal AR, Carroll MP, Smith BD, Tefferi A, Johnson DE et al. DNMT3A and IDH mutations in acute myeloid leukemia and other myeloid malignancies: associations with prognosis and potential treatment strategies. *Leukemia* 2014; 28: 1774–1783.

17. Figueroa ME, Abdel-Wahab O, Lu C, Ward PS, Patel J, Shih A et al. Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation. *Cancer cell* 2010; 18: 553–567.
18. Chou WC, Hou HA, Chen CY, et al. Distinct clinical and biological characteristics in adult acute myeloid leukemia bearing isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1) mutation. *Blood* 2010;115(14): 2749-2754.
19. Abbas S, Lugthart S, Kavelaars FG, et al. Acquired mutations in the genes encoding IDH1 and IDH2 both are recurrent aberrations in acute myeloid leukemia: prevalence and prognostic value. *Blood* 2010;116:2122-2126.
20. Chotirat S, Thongnoppakhun W, Promsuwicha O, et al. Molecular alterations of isocitrate dehydrogenase 1 and 2 (IDH1 and IDH2) metabolic genes and additional genetic mutations in newly diagnosed acute myeloid leukemia patients. *J Hematol Oncol* 2012;5:5.
21. Marcucci G, Maharry K, Wu YZ, et al. IDH1 and IDH2 gene mutations identify novel molecular subsets within de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol* 2010;28:2348-2355.
22. Paschka P, Schlenk RF, Gaidzik VI, et al. IDH1 and IDH2 mutations are frequent genetic alterations in acute myeloid leukemia and confer adverse prognosis in cytogenetically normal acute myeloid leukemia with NPM1 mutation without FLT3 internal tandem duplication. *J Clin Oncol* 2010;28:3636-3643.
23. Koszarska M, Bors A, Feczko A et al. Type and location of isocitrate dehydrogenase mutations influence clinical characteristics and disease outcome of acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* 2013 May;54(5):1028-35
24. Shen Y, Zhu YM, Fan X, Shi JY, Wang QR, Yan XJ et al. Gene mutation patterns and their prognostic impact in a cohort of 1185 patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2011; 118: 5593–5603.
25. Wagner K, Damm F, Gohring G, Gorlich K, Heuser M, Schafer I et al. Impact of IDH1 R132 mutations and an IDH1 single nucleotide polymorphism in cytogenetically normal acute myeloid leukemia: SNP rs11554137 is an adverse prognostic factor. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2356–2364.
26. DiNardo CD, Ravandi F, Agresta S, Konopleva M, Takahashi K, Kadia T et al. Characteristics, clinical outcome, and prognostic significance of IDH mutations in AML. *Am J Hematol* 2015; 90: 732–736.
27. Aref S, Kamel Areida el S, Abdel Aal MF, Adam OM, El-Ghonemy MS, El-Baiomy MA et al. Prevalence and clinical effect of IDH1 and IDH2 mutations among cytogenetically normal acute myeloid leukemia patients. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2015; 15: 550–555.
28. Patel JP, Gonen M, Figueroa ME, Fernandez H, Sun Z, Racevskis J et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2012; 366: 1079–1089.
29. Kuang-Guo Zhou, Li-Jun Jiang, Zhen Shang et al. Potential application of IDH1 and IDH2 mutations as prognostic indicators in non-promyelocytic acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *Leukemia & Lymphoma*, 2012; 1–7.
30. Chou WC, Lei WC, Ko BS, Hou HA, Chen CY, Tang JL et al. The prognostic impact and stability of Isocitrate dehydrogenase 2 mutation in adult patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2011; 25: 246–253.