

## Клиническое значение полиморфизма гена тиопуринометилтрансферазы у детей с острым лимфобластным лейкозом при проведении программной терапии

О.В. Петина, А.А. Зборовская, М.Л. Матевосян, Т.В. Савицкая, О.В. Алейникова

ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» Министерства здравоохранения Республики Беларусь; Республика Беларусь, 223053 Минский район, дер. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43

Контактные данные: Ольга Владимировна Петина o.vpetina@mail.ru

Представлены данные оценки генетического полиморфизма тиопуринометилтрансферазы (Thiopurine S-methyltransferase, TPMT) у 97 детей разного возраста, больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ). Полученные частотные характеристики встречаемости генотипов TPMT: \*1 – 90,7 %, \*3A – 8,3 %, \*3C – 1,0 % сопоставимы с опубликованными литературными данными. При анализе связи генетического полиморфизма TPMT с токсичностью проводимого лечения по протоколу ALL-MB-2002 установлено достоверное преобладание тяжелой гематологической токсичности у гетерозиготных носителей мутантных аллелей в сравнении с носителями «дикого» типа. Установлено увеличение длительности тяжелой нейтропении на этапах консолидации при генетическом полиморфизме TPMT. Генетический полиморфизм TPMT не ухудшал результаты терапии ОЛЛ. Выявлена связь генетического полиморфизма TPMT с развитием второй опухоли.

**Ключевые слова:** генетический полиморфизм, острый лимфобластный лейкоз, дети, программная терапия, гематологическая токсичность

DOI: 10.17650/2311-1267-2017-4-2-78-84

### Clinical significance of polymorphism of thiopurine methyltransferase gene in children with acute lymphoblastic leukemia during programmed therapy

O. V. Petina, A. A. Zborovskaya, M. L. Matevosyan, T. V. Savitskaya, O. V. Aleynikova

Republican Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology; 43 Frunzenskaya St., Borovlyany village, Minsk region 223053, Republic of Belarus

Data on estimation of genetic polymorphism thiopurine methyltransferase (TPMT) at 97 children of different ages with acute lymphoblastic leukemia (ALL) presented. Studied frequency characteristics of TPMT genotypes: \*1 – 90.7 %, \*3A – 8.3 %, \*3C – 1.0 % comparable with published data. During the analysis of connection of genetic polymorphism TPMT с toxicity of treatment on ALL-MB-2002 protocol it was established significant predominance of severe hematological toxicity at heterozygous patients with mutant alleles in comparison with “wild type” patients. Increasing of severe neutropenia on consolidation stages showed in case of genetic polymorphism of TPMT. Genetic polymorphism did not affect results of ALL treatment. Correlation between TPMT polymorphism and second cancer established.

**Key words:** genetic polymorphism, acute lymphoblastic leukemia, children, program therapy, hematological toxicity

#### Введение

С внедрением в лечение острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) программной терапии началась новая эра в развитии онкогематологии. Сегодня шанс на выздоровление имеют около 90 % вновь заболевших детей [1]. Однако с внедрением интенсивной полихимиотерапии (ПХТ) отмечалась выраженная токсичность проводимого лечения с развитием широкого спектра ближайших и отдаленных последствий [2–4]. Последующие успехи в лечении ОЛЛ у детей были достигнуты путем снижения токсичности ПХТ,

а также улучшения эффективности лечения, с учетом индивидуальных особенностей организма, включая диагностику генетических факторов недостаточности ферментных систем, участвующих в метаболизме лекарственных средств [5, 6].

В лечении ОЛЛ особую роль играют антиметаболиты, включая 6-меркаптопурин (6-МР), являющийся базовым препаратом протокола ALL-MB-2002 [4, 6]. В метаболизме 6-МР решающая роль принадлежит ферменту тиопуринометилтрансферазе (Thiopurine S-methyltransferase, TPMT). TPMT-фер-

мент, ответственный за II фазу метаболизма 6-MP, катализирует S-метилование препарата и, таким образом, его инактивирует. Активность этого фермента у людей различается, что связано с генетическим полиморфизмом гена *TPMT*. Впервые молекулярный механизм дефицита *TPMT* был описан в 1995 г. [7, 8]. В настоящее время известно более 20 полиморфных вариантов гена, при этом наибольшее клиническое значение у детей с гемобластозами придается следующим генетическим аллелям: *TPMT\*3A*, *TPMT\*3C*, *TPMT\*2* [8–11]. Отмечается выраженная вариабельность встречаемости дефицита *TPMT* в зависимости от этнической принадлежности, в европейской популяции частота выявления гетерозиготного носительства аллелей составляет около 10 %, гомозиготного – около 1 % [8, 10, 12].

Самое крупное исследование частоты встречаемости полиморфизма *TPMT* проведено Е.В. Самочатовой (2009) в Российской Федерации (РФ). В анализ вошло 995 человек, из них 446 детей со злокачественными новообразованиями, из них – 272 ребенка с ОЛЛ. Установлено, что самый частый полиморфный вариант *TPMT\*3A* при общей частоте вариантных аллелей в исследовании – 5,5 %. В этом же исследовании изучено влияние полиморфизма *TPMT* на исходы лечения ОЛЛ у детей, статистической достоверности не получено [8]. Н.В. Чупова (2004) изучала связь токсичности 6-MP в группах гетерозиготных по *TPMT* пациентов в сравнении с носителями «дикого» типа на консолидирующей терапии ОЛЛ. Всего в исследование включено 59 детей, жителей РФ. Выявлено преобладание эпизодов анемий и тромбоцитопений, длительности нейтропении и количества инфекционных эпизодов у пациентов с гетерозиготным генотипом *TPMT*. Статистически значимых различий по гематологической токсичности и количеству инфекционных эпизодов в исследовании Н.В. Чуповой обнаружено не было. Однако гетерозиготные пациенты в 2 раза чаще пропускали терапию 6-MP в сравнении со 2-й группой, причем почти в половине случаев вследствие развития агранулоцитоза ( $p = 0,0087$ ) [13]. Имеются данные, что пациенты с ОЛЛ в сочетании с генетическим полиморфизмом *TPMT* в отдаленном периоде имеют повышенный риск развития вторичных опухолей головного мозга [14].

Все вышесказанное определяет актуальность изучения частотных характеристик носительства гена *TPMT* и влияние генетического полиморфизма на переносимость проводимой терапии и исходы у детей с ОЛЛ. До настоящего времени в Республике Беларусь (РБ) исследование частоты встречаемости полиморфизма *TPMT* и его влияние на токсичность проводимой терапии ОЛЛ с использованием 6-MP не проводилось.

## Материалы и методы

### Пациенты

В анализ частоты встречаемости полиморфизма гена *TPMT* включены 97 детей с ОЛЛ, получавших лечение по протоколу ALL-MB-2002 в 2005–2007 гг. на базе ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» (Минск, РБ). Подробное описание и схема протокола ALL-MB-2002 были опубликованы ранее [4, 6]. Медиана возраста составила 5 (1–18) лет, отношение мальчики/девочки – 1,37:1. Большинство пациентов имели не Т-фенотип – 88 (90,7 %) пациентов. У 9 (9,3 %) был выявлен Т-фенотип. Из 97 детей с ОЛЛ, включенных в исследование в соответствии с критериями протокола, 70 отнесены к стандартной группе риска, 21 – к промежуточной и 6 – к группе высокого риска. При проведении терапии умерли от осложнений 5 детей, из них 2 ребенка на этапе индукции ремиссии и 3 ребенка в состоянии ремиссии. При этом 3 детей относились к группе высокого риска и по 1 ребенку – к группе стандартного и к группе промежуточного риска.

Связь полиморфизма *TPMT* с токсичностью оценивалась у 91 пациента на этапах консолидации ремиссии, так как 6 детей, относящихся к группе высокого риска, не получали оцениваемый этап терапии. Для оценки интенсивности побочного действия цитотоксической терапии в исследовании была использована шкала оценки токсичности Common Toxicity Criteria (СТС), рекомендованная Всемирной организацией здравоохранения для применения в практической онкологии.

Анализ выживаемости и риск развития второй опухоли оценен у 97 пациентов по состоянию на 01.10.2016 г., медиана наблюдения – 110 мес. За период наблюдения у 1 пациента через 6 лет после окончания терапии ОЛЛ диагностирована опухоль центральной нервной системы (ЦНС) (ребенок не получал профилактическое облучение ЦНС).

### Методы

Полиморфизм генов определяли методом анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ-метод), принцип которого заключается в полимеразной цепной реакции-амплификации интересующего фрагмента ДНК и его последующем расщеплении соответствующей рестриктазой [15, 16].

### Статистический анализ

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы R-statistics, версия 3.2.0, R Foundation for Statistical Computing, лицензия GNU GPL. Оценка статистической значимости различий между сравниваемыми количественными показателями проводилась U-тестом Манна–Уитни.

Бессобытийная выживаемость (EFS) и кумулятивная частота (CI) второй опухоли были оценены с помощью метода Каплана–Майера. Сравнение в группах по индивидуальным параметрам проводилось с помощью  $\chi^2$  теста. Все различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

Частота встречаемости генетического полиморфизма *TPMT* у пациентов, получавших лечение ОЛЛ в белорусском центре, соответствует аналогичным данным исследования, проведенного в Великобритании на сопоставимой группе пациентов (табл. 1) [12]. При этом самым частым полиморфным аллелем в нашем исследовании был *TPMT\*3A*, реже встречался *TPMT\*3C*, что согласуется с данными большого исследования Е.В. Самочатовой (2009) для детей со злокачественными новообразованиями, другой патологией и здоровых доноров РФ [8, 13]. Нами не выявлено ни одного гомозиготного носителя полиморфного гена *TPMT*, что, вероятно, обусловлено низкой частотой встречаемости данного варианта.

Таблица 1. Генотип гена *TPMT* у детей с ОЛЛ в РБ

Генотип <i>TPMT</i>	РНПЦ ДОГИ <i>n</i> = 97 (%)	H.L. Mc-Leod [12] <i>n</i> = 147 (%)	<i>p</i>
W/W (гомозиготный «дикий» тип <i>TPMT*1</i> )	88 (90,7)	130 (88,4)	0,57
W/M (мутантный гетерозиготный тип <i>TPMT*3A</i> и <i>TPMT*3C</i> )	9 (9,3) Из них: <i>TPMT*3A</i> – 8 (8,3); <i>TPMT*3C</i> – 1 (1)	16 (10,9)	0,69
M/M (мутантный гомозиготный тип <i>TPMT*3A</i> и <i>TPMT*3C</i> )	0 (0)	1 (0,7)	0,42

Среди детей с «диким» типом *TPMT\*1* ( $n = 88$ ) – 62 ребенка были распределены в группу стандартного риска, 21 – в группу промежуточного риска и 5 – в группу высокого риска, а из 9 носителей полиморфных генов – 8 были отнесены к группе стандартного риска и 1 – к группе промежуточного риска.

Учитывая сопоставимые дозы химиопрепаратов на консолидирующих этапах лечения для стандартной и промежуточной групп риска, мы посчитали возможным для целей настоящего анализа объединить эти 2 группы пациентов. Оценка клинического значения влияния полиморфизма гена *TPMT* на развитие гематологической токсичности и частоты инфекционных

Таблица 2. Частота токсичности у пациентов с ОЛЛ групп стандартного и промежуточного риска на этапе консолидации 1 протокола ALL-MB-2002 в зависимости от полиморфных вариантов гена *TPMT*,  $n = 91$

Показатель	Токсичность III–IV степени по шкале СТС		
	<i>TPMT*1</i> , <i>n</i> = 82	<i>TPMT*3A</i> , <i>*3C</i> , <i>n</i> = 9	<i>p</i>
Гемоглобин	5 (6,1 %)	2 (22,2 %)	0,08
Лейкоциты	21 (25,6 %)	4 (44,4 %)	0,23
Нейтрофилы, из них:	62 (75,6 %)	9 (100 %)	0,09
III степень по шкале СТС	25 (30,5 %)	2 (22,2 %)	0,6
IV степень по шкале СТС	37 (45,1 %)	7 (77,8 %)	0,06
Тромбоциты	5 (6,1 %)	3 (33,3 %)	0,006 <sup>a</sup>
Билирубин	2 (2,4 %)	0 (0 %)	0,64
АЛТ/АСТ	35 (42,7 %)	5 (55,6 %)	0,46
Инфекционные осложнения	6 (7,3 %)	2 (22,2 %)	0,13

Примечание (здесь и в табл. 3 и 4). <sup>a</sup> –  $p < 0,05$  по сравнению с «диким» типом гена *TPMT*; АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспартатаминотрансфераза.

Таблица 3. Частота токсичности у пациентов с ОЛЛ групп стандартного и промежуточного риска на этапе консолидации 2 протокола ALL-MB-2002 в зависимости от полиморфных вариантов гена *TPMT*,  $n = 89$

Показатель	Токсичность III–IV степени по шкале СТС		
	<i>TPMT*1</i> , <i>n</i> = 80	<i>TPMT*3A</i> , <i>*3C</i> , <i>n</i> = 9	<i>p</i>
Гемоглобин	10 (12,5 %)	1 (11,1 %)	0,9
Лейкоциты	15 (18,8 %)	1 (11,1 %)	0,57
Нейтрофилы, из них:	52 (65 %)	8 (88,9 %)	0,15
III степень по шкале СТС	17 (21,3 %)	1 (11,1 %)	0,47
IV степень по шкале СТС	35 (43,8 %)	7 (77,8 %)	0,05 <sup>a</sup>
Тромбоциты	8 (10 %)	3 (33,3 %)	0,04 <sup>a</sup>
Билирубин	0	0	
АЛТ/АСТ	13 (16,3 %)	1 (11,1 %)	0,69
Инфекционные осложнения	4 (5 %)	1 (11,1 %)	0,45

эпизодов пациентов с ОЛЛ стандартной и промежуточной групп риска при проведении консолидаций 1, 2, 3 представлена в табл. 2–4.

**Таблица 4.** Частота токсичности у пациентов с ОЛЛ групп стандартного и промежуточного риска на этапе консолидации 3 протокола ALL-MB-2002 в зависимости от полиморфных вариантов гена *TPMT*,  $n = 87$

Показатель	Токсичность III–IV степени по шкале СТС		
	<i>TPMT*1</i> , $n = 79$	<i>TPMT*3A</i> , *3C, $n = 8$	$p$
Гемоглобин	9 (11,4 %)	1 (12,5 %)	0,93
Лейкоциты	12 (15,2 %)	2 (25 %)	0,47
Нейтрофилы, из них:			
III степень по шкале СТС	51 (64,6 %)	8 (100 %)	0,04*
IV степень по шкале СТС	12 (15,2 %)	3 (37,5 %)	0,11
	39 (49,4 %)	5 (62,5 %)	0,47
Тромбоциты	8 (10,1 %)	2 (25 %)	0,21
Билирубин	0	0	
АЛТ/АСТ	12 (15,2 %)	0	0,24
Инфекционные осложнения	4 (5,1 %)	1 (12,5 %)	0,39

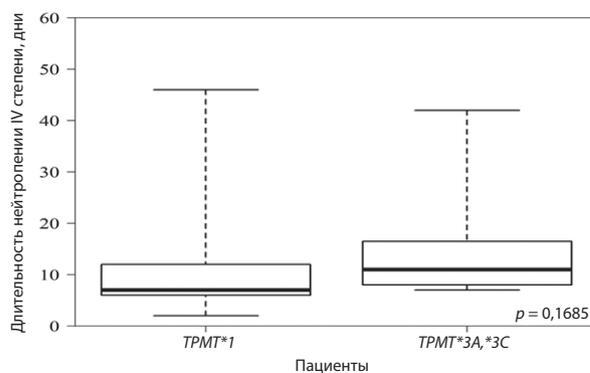
На консолидации 1 у носителей полиморфных генов достоверно чаще регистрировалась тромбоцитопения тяжелой степени (33,3 % и 6,1 % соответственно;  $p = 0,006$ ), а также отмечалась тенденция к учащению анемии (22,2 % и 6,1 % соответственно;  $p = 0,08$ ). Также отмечались заметные различия в частоте нейтропении (100 % и 75,6 % соответственно;  $p = 0,09$ ), при этом нейтропения IV степени по шкале СТС встречалась в 1,7 раза чаще в группе носителей *TPMT\*3A*, \*3C (77,8 % и 45,1 %;  $p = 0,06$ ).

Как видно из данных, представленных в табл. 3, у обследованных пациентов достоверно чаще отмечались эпизоды тромбоцитопении в группе с полиморфизмом *TPMT\*3A*, \*3C в сравнении с «диким» типом (33,3 % и 10 % соответственно;  $p = 0,04$ ). Также в группе с полиморфизмом чаще регистрировалась нейтропения III–IV степени по шкале СТС (88,9 % и 65 % соответственно;  $p = 0,15$ ), при этом эпизоды тяжелой нейтропении наблюдались в 1,8 раза чаще (77,8 % и 43,8 % соответственно;  $p = 0,05$ ).

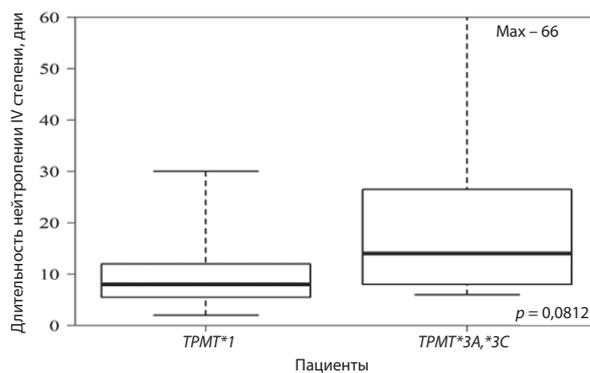
Согласно данным, представленным в табл. 2–4, наиболее частым осложнением, связанным с химиотерапией (ХТ), является нейтропения III–IV степени – 64,6–75,6 % пациентов с «диким» типом *TPMT* и 88,9–100 % детей с генетическим полиморфизмом *TPMT*. При этом тяжелая лейкопения встречалась несколько реже и достоверно не различалась при «диком» и мутантном генотипе *TPMT*. Критическое снижение гемоглобина в нашем исследовании встречалось редко – 6,1–22,2 %. Частота глубокой тромбоцитопении достоверно преобладала в группе детей

с полиморфизмом *TPMT*: на консолидации 1 – 33,3 % и 6,1 % ( $p = 0,006$ ) и на консолидации 2 – 33,3 % и 10 % ( $p = 0,04$ ), на консолидации 3 – в 2,5 раза чаще, без статистической достоверности различий – 25 % и 10,1 % ( $p = 0,21$ ). При этом необходимо отметить, что 1 ребенку из группы носителей полиморфного гена консолидация 3 не была проведена в связи с выраженной токсичностью при проведении предшествующих курсов терапии.

Учитывая, что нейтропения IV степени по шкале СТС была самым частым регистрируемым осложнением на лечении по протоколу ALL-MB-2002, мы провели сравнительный анализ длительности тяжелой нейтропении между пациентами с генетическим полиморфизмом и «диким» типом *TPMT* на консолидациях 1, 2, 3 (рис. 1–3, табл. 5–7). Согласно данным, представленным в табл. 5, при проведении консолидации 1 нейтропения IV степени была зарегистрирована у 37 пациентов с генотипом *TPMT\*1* и у 7 больных с генотипом *TPMT\*3A*, \*3C. Медиана длительности тяжелой нейтропении в группе носителей мутантного аллеля была в 1,6 раза выше.



**Рис. 1.** Медианно-квартильное распределение длительности нейтропении IV степени, консолидация 1



**Рис. 2.** Медианно-квартильное распределение длительности нейтропении IV степени, консолидация 2

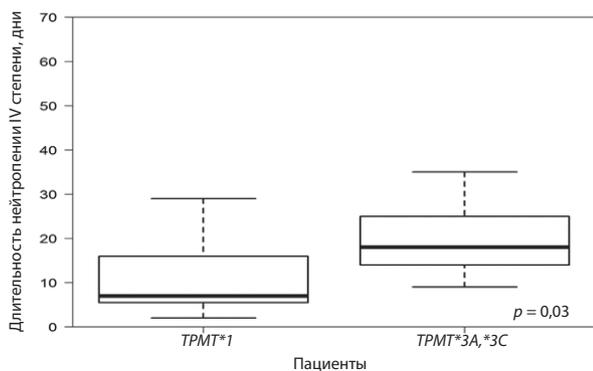


Рис. 3. Медианно-квартильное распределение длительности нейтропении IV степени, консолидация 3

Таблица 5. Медианно-квартильное распределение длительности нейтропении IV степени (дни) на консолидации 1

Показатель	TPMT*1	TPMT*3A, *3C	p
n	37	7	0,1685 Кри- терий Ман- на- Уитни
Минимум	2,0	7,0	
25 %-й процентиль	6,0	8,0	
Медиана	7,0	11,0	
75 %-й процентиль	12,0	16,5	
Максимум	46	42	

Таблица 6. Медианно-квартильное распределение длительности нейтропении IV степени (дни) на консолидации 2

Показатель	TPMT*1	TPMT*3A, *3C	p
n	35	7	0,0812 Кри- терий Ман- на- Уитни
Минимум	2,0	6,0	
25 %-й процентиль	5,5	8,0	
Медиана	8,0	14,0	
75 %-й процентиль	12,0	26,5	
Максимум	30,0	66,0	

Таблица 7. Медианно-квартильное распределение длительности нейтропении IV степени (дни) на консолидации 3

Показатель	TPMT*1	TPMT*3A, *3C	p
n	39	5	0,0291 Кри- терий Ман- на- Уитни
Минимум	2,0	9,0	
25 %-й процентиль	5,5	14,0	
Медиана	7,0	18,0	
75 %-й процентиль	16,0	25,0	
Максимум	29,0	35,0	

Согласно данным, представленным в табл. 7, при проведении консолидации 3 нейтропения IV степени зарегистрирована у 39 пациентов с генотипом *TPMT\*1* и у 5 больных с генотипом *TPMT\*3A, \*3C*. Медиана длительности тяжелой нейтропении в группе носителей мутантного аллеля была в 2,6 раза выше, различия имели статистическую достоверность.

В соответствии с данными, представленными в табл. 5–7 и на рис. 1–3, для детей с генетическим полиморфизмом *TPMT* длительность нейтропении IV степени была выше, чем в группе без полиморфизма при проведении ХТ по протоколу ALL-MB-2002.

Для оценки влияния генетического полиморфизма *TPMT* на EFS мы разделили пациентов на 2 группы: носители мутантных аллелей *TPMT\*3A, \*3C* (группа *TPMT+*) и носители «дикого» типа *TPMT\*1* (группа *TPMT-*). В качестве событий учитывали рецидивы, вторые опухоли и летальные исходы. Также оценили риск развития второй опухоли в этих группах (рис. 4).

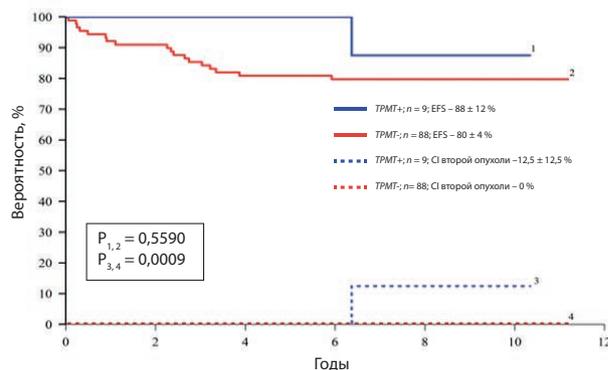


Рис. 4. EFS и риск развития второй опухоли у детей с ОЛЛ в зависимости от генетического полиморфизма *TPMT*

Длительная EFS составила 88 % и 80 % соответственно в группе *TPMT+* и *TPMT-*, различия не имели статистической значимости ( $p = 0,56$ ). Однако риск развития второй опухоли в группе *TPMT+* составил 12,5 %, что было достоверным отличием ( $p = 0,0009$ ).

### Заключение

Распознавание генетических факторов, влияющих на метаболизм лекарственных средств, позволяет индивидуализировать терапию, оптимизировать эффективность назначенных препаратов и минимизировать токсичность [17–22]. Генетический полиморфизм *TPMT* представляет собой наиболее частый вариант, влияющий на метаболизм так называемых тиапуринов, включая 6-МР. Полиморфизм может приводить к значительному снижению активности фермента и повышению риска лейкопении, ассоциированной с лечением [23–26]. В настоящее время известно более 20 генетических вариантов с низкой функциональной активностью *TPMT*, 2 из которых – *TPMT\*2*

и *TPMT*\*3 – составляют более 95 % случаев нарушения активности *TPMT* у пациентов [9–11]. Около 10 % людей имеют сниженную активность *TPMT* и в 0,3% случаев активность фермента не определяется [27, 28].

Для пациентов с низкой активностью *TPMT* или ее отсутствием необходима редукция доз тиопуриновых препаратов, при этом степень снижения дозы может достигать до 90 % с учетом опыта лечения ОЛЛ у детей [22, 29]. Проспективное исследование *TPMT*-генотипа для коррекции дозы показало свою роль по снижению токсичности без потери эффективности лечения.

Необходимо обратить внимание, что в нашем исследовании отсутствовали гомозиготные носители полиморфного гена, для которых проявления гематологической токсичности более выражены. Однако было 7 пациентов с генетическим полиморфизмом *TPMT*, у которых отмечалась длительная нейтропения IV степени на этапах консолидации 1, 2, 3. Длительность нейтропении была в 1,6–2,6 раза выше, чем в группе без полиморфизма, что согласуется с данными исследования Н.В. Чуповой (2004). Несмотря на нейтропению IV степени, частота тяжелых инфекционных эпизодов регистрировалась в 5–7,3 % случаев среди носителей *TPMT*\*1 и в 11,1–22,2 % среди носителей *TPMT*\*3A, \*3C ( $p > 0,05$ ). Частота тяжелых инфекционных осложнений была несколько выше в группе носителей полиморфных генов, что согласу-

ется с литературными данными [8], однако различия не имели статистической достоверности, что мы связываем с адекватно проводимой сопроводительной терапией.

В нашем исследовании дети с генетическим полиморфизмом *TPMT* имели длительную EFS, сопоставимую с пациентами без наличия мутантных аллелей, что согласуется с литературными данными. Однако нами выявлен 1 ребенок, развивший вторую опухоль через 6 лет после окончания лечения ОЛЛ.

### Выводы

Как показало наше исследование, у больных, получающих ХТ для лечения ОЛЛ, тестирование генетического полиморфизма не выявляет всех пациентов группы риска по развитию тяжелой токсичности, так как супрессия кроветворения может быть связана с другими факторами, включая редкие мутации в гене *TPMT*. С нашей точки зрения, это свидетельствует об актуальности анализа генетического полиморфизма *TPMT*.

Решение вопроса о *TPMT*-тестировании может быть рекомендовано в случае развития тяжелой миелотоксичности в процессе лечения ОЛЛ с целью индивидуализации терапии, снижения токсичности и риска развития вторых опухолей и повышения выживаемости.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Schrappe M., Camitta B., Pui C.-H. et al. Long-term results of large prospective trials in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2000;14:2193–4.
2. Карачунский А.И., Румянцев А.Г., Штакельберг А. и др. Сравнение протоколов ALL-BFM-90 и ALL-MB-91 для лечения острого лимфобластного лейкоза у детей (предварительные результаты). *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского* 1995;2:10–4. [Karachunskiy A.I., Romyantsev A.G., Shtakelberg A. et al. Comparison of the protocols ALL-BFM-90 and ALL-MB-91 for the treatment of acute lymphoblastic leukemia in children (preliminary results). *Pediatrics = Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky* 1995;2:10–4. (In Russ.)].
3. Карачунский А.И., Мякова Н.В., Румянцева Ю.В. и др. Результаты мультицентрового исследования лечения острого лимфобластного лейкоза у детей по программам ALL-MB-91/ALL-BFM-90m: анализ эффективности и токсичности. *Терапевтический архив* 2007;79(7):19–26. [Karachunskiy A.I., Myakova N.V., Romyantseva Yu.V. et al. The results of a multicenter trial of acute lymphoblastic leukemia treatment on ALL-MB91/ALL-BFM90m in children: analysis of efficacy and toxicity. *Терапевтический архив = Therapeutic archive* 2007;79(7):19–26. (In Russ.)].
4. Karachunskiy A., Herold R., von Stackelberg A. et al. Results of the first randomized multicentre trial in childhood acute lymphoblastic leukaemia in Russia. *Leukemia* 2008;22(6):1144–53.
5. Блохина Е.Б. Роль генетического полиморфизма в онкологии. *Качественная клиническая практика* 2004;1:2–5. [Blokhina E.B. The role of genetic polymorphism in oncology. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika = Qualitative clinical practice* 2004;1:2–5. (In Russ.)].
6. Румянцева Ю.В., Карачунский А.И., Румянцев А.Г. Оптимизация терапии острого лимфобластного лейкоза у детей в России. *Педиатрия* 2009;87(4):19–27. [Romyantseva Yu.V., Karachunskiy A.I., Romyantsev A.G. Optimization of acute lymphoblastic leukemia therapy in children in Russia. *Pediatrics = Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky* 2009;87(4):19–27. (In Russ.)].
7. Krynetski E.Y., Schuetz J.D., Calpin A.J. et al. A single point mutation leading to loss of catalytic activity in human thiopurine S-methyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:949–53.
8. Samochatova E.V., Chupova N.V., Rudneva A. et al. TPMT genetic variations in populations of the Russian Federation. *Pediatr Blood Cancer* 2009;52(2):203–8.
9. Yates C.R., Krynetski E.Y., Loennechen T. et al. Molecular diagnosis of thiopurine S-methyltransferase deficiency: genetic basis for azathioprine and mercaptopurine intolerance. *Ann Intern Med* 1997;126:608.
10. Schaeffeler E., Fischer C., Brockmeier D. et al. Comprehensive analysis of thiopurine S-methyltransferase phenotype-genotype correlation in a large population of German-Caucasians and identification of novel TPMT variants. *Pharmacogenetics* 2004;14:407.
11. Coulthard S.A., Howell C., Robson J., Hall A.G. The relationship between thiopurine methyltransferase activity and genotype in blasts from patients with acute leukemia. *Blood* 1998;92(8):2856–62.
12. McLeod H.L., Coulthard S., Thomas A.E. et al. Analysis of thiopurine methyltransferase

- variant alleles in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 1999;105:696–700.
13. Чупова Н.В., Самочатова Е.В., Руднева А.Е. и др. Генетический полиморфизм тиопурин-S-метилтрансферазы в лечении детей с острым лимфобластным лейкозом. *Гематология и трансфузиология* 2005;50(60):3–9. [Chupova N.V., Samochatova E.V., Rudneva A.E. et al. Genetic polymorphism of thiopurine-S-methyltransferase and treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Gematologiya i Transfuziologiya = Hematology and Transfusiology* 2005;50(60):3–9. (In Russ.)].
14. Relling M.V., Hancock M.L., Rivera G.K. et al. Mercaptopurine therapy intolerance and heterozygosity at the thiopurine S-methyltransferase gene locus. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:2001–08.
15. Eloualid A., Abidi O., Charif M. et al. Association of the MTHFR A1298C variant with unexplained severe male infertility. *PLoS One* 2012;7(3):e34111.
16. Matsuo K., Hamajima N., Hirai T. et al. Methionine Synthase Reductase Gene A66G Polymorphism is Associated with Risk of Colorectal Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2002;3(4):353–9.
17. Leufkens H.G. The interface between pharmacoepidemiology and pharmacogenetics. *Eur J Pharmacol* 2000;410:121.
18. Wang L., McLeod H.L., Weinshilboum R.M. Genomics and drug response. *N Engl J Med* 2011;364:1144.
19. Vesell E.S. Therapeutic lessons from pharmacogenetics. *Ann Intern Med* 1997;126:653.
20. Evans W.E., Relling M.V. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999;286:487.
21. Mancinelli L., Cronin M., Sadée W. Pharmacogenomics: the promise of personalized medicine. *AAPS PharmSci* 2000;2(1):E4.
22. Andersen J.B., Szumlanski C., Weinshilboum R.M. et al. Pharmacokinetics, dose adjustments, and 6-mercaptopurine/methotrexate drug interactions in two patients with thiopurine methyltransferase deficiency. *Acta Paediatr* 1998;87:108.
23. Evans W.E., Horner M., Chu Y.Q. et al. Altered mercaptopurine metabolism, toxic effects, and dosage requirement in a thiopurine methyltransferase-deficient child with acute lymphocytic leukemia. *J Pediatr* 1991;119:985.
24. Lennard L., Van Loon J.A., Weinshilboum R.M. Pharmacogenetics of acute azathioprine toxicity: relationship to thiopurine methyltransferase genetic polymorphism. *Clin Pharmacol Ther* 1989;46:149.
25. Zelinkova Z., Derijks L.J., Stokkers P.C. et al. Inosine triphosphate pyrophosphatase and thiopurine S-methyltransferase genotypes relationship to azathioprine-induced myelosuppression. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:44.
26. Evans W.E., Hon Y.Y., Bomgaars L. et al. Preponderance of thiopurine S-methyltransferase deficiency and heterozygosity among patients intolerant to mercaptopurine or azathioprine. *J Clin Oncol* 2001;19:2293–301.
27. Krynetski E.Y., Tai H.L., Yates C.R. et al. Genetic polymorphism of thiopurine S-methyltransferase: clinical importance and molecular mechanisms. *Pharmacogenetics* 1996;6:279.
28. McLeod H.L., Lin J.S., Scott E.P. et al. Thiopurine methyltransferase activity in American white subjects and black subjects. *Clin Pharmacol Ther* 1994;55:15.
29. Evans W.E., Johnson J.A. Pharmacogenomics: the inherited basis for interindividual differences in drug response. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2001;2:9.