На правах рукописи

КЛЕИНА ЕЛИЗАВЕТА ВЯЧЕСЛАВОВНА

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРАТИФИКАЦИЯ И ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ МАНТИЙНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЫ

Специальность: 3.1.28. Гематология и переливание крови

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург — 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства»

Научные руководители:

Мартынкевич Ирина Степановна – доктор биологических наук
Волошин Сергей Владимирович – кандидат медицинских наук, доцент

Официальные оппоненты:

Барях Елена Александровна – доктор медицинских наук, профессор кафедры гематологии и трансфузиологии имени академиков И.А. Кассирского и А.И. Воробьева Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Гиндина Татьяна Леонидовна – доктор медицинских наук, профессор кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии с курсом детской онкологии ФПО имени профессора Б.В. Афанасьева, руководитель лаборатории цитогенетики и диагностики генетических заболеваний Научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится _____ 2023 года в ___ часов на заседании диссертационного совета 68.1.007.01 при ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства» (191024, г. Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства России» и на сайте www.bloodscience.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2023 года.

Ученый секретарь диссертационного совета 68.1.007.01
доктор медицинских наук Т.В. Глазанова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Мантийноклеточная лимфома (МКЛ) – неходжкинская В-клеточная лимфома с транслокацией, вовлекающей ген *CCND1* и гиперэкспрессией белка циклина D1, гетерогенная по клинической симптоматике, морфологической картине, биологическим и молекулярным характеристикам. Заболевание у большинства пациентов отличается прогрессирующим клиническим течением с низкой чувствительностью к стандартным курсам химиотерапии, кратковременным ответом на проводимое лечение и частым ранним рецидивированием [Jares P. et al., 2007; Dreyling M. et al., 2014; Veloza L. et al., 2019; McCall R.K. et al., 2020].

У больных МКЛ отмечается выраженная клиническая гетерогенность: наряду с быстропрогрессирующими в течение нескольких месяцев несмотря на получение высокодозной химиотерапии вариантов заболевания, примерно в 10-15% случаев встречаются индолентные клинические формы МКЛ (иМКЛ), характеризующиеся продолжительной выживаемостью и возможностью применения тактики «watch and wait» («наблюдай и жди») [Setoodeh R. et al., 2013; Delfau-Larue M.H. et al., 2015].

Преимущественно при МКЛ выявляется транслокация t(11;14)(q13;q32). Вместе с этим, примерно у 1% больных обнаруживаются ее редкие варианты, t(2;11)(p11;q13) и t(11;22)(q13;q11), которые приводят к гиперэкспрессии белка циклина D1 и являются важнейшей диагностической характеристикой данной опухоли [Jares P. et al., 2007; Veloza L. et al., 2019].

Показано, что из всех В-клеточных лимфом МКЛ является лимфомой, при которой определяется самая высокая частота встречаемости нестабильности генома, и, наряду с высокоспецифической транслокацией t(11;14)(q13;q32), у подавляющего числа пациентов обнаруживаются вторичные хромосомные и молекулярно-цитогенетические аберрации, вовлекающие в лимфомогенез гены, регулирующие клеточный цикл, репарацию поврежденной ДНК и апоптоз. Наличие дополнительных хромосомных аберраций высоко ассоциировано с неблагоприятным клиническим течением заболевания и снижением продолжительности общей и безрецидивной выживаемости [Setoodeh R. et al., 2013; Vogt N. et al., 2017; Wang L. et al., 2021].

В последние годы все большее внимание в литературе стало уделяться высоко агрессивной подгруппе МКЛ, «double-hit» МКЛ, которая характеризуется сочетанием транслокаций генов *CCND1* и *MYC*, плеоморфным/бластоидным морфологическим вариантами опухоли и рефрактерным течением заболевания. Поскольку при «double-hit» МКЛ прогноз крайне неблагоприятный, для верификации данной группы пациентов с целью выбора оптимальной терапевтической тактики необходима разработка алгоритма диагностики, включающего скрининг на определение изменений гена *MYC*, в особенности для пациентов с бластоидным и плеоморфным вариантами МКЛ, а также при подозрении на прогрессирование или трансформацию опухоли в более продвинутую стадию [Обухова Т.Н. и др., 2013; Durot E. et al., 2013; Yi S. et al., 2015; Nguyen, L. et al., 2017; Wang L. et al., 2021].

Важно отметить, что детальный анализ хромосомных аберраций в опухолевом материале (периферическая кровь, лимфатические узлы, пораженные опухолью органы, костный мозг) является одним из основных дифференциально-диагностических критериев МКЛ. Выявленные хромосомные нарушения помогают не только в диагностике МКЛ, но и в определении характера течения опухолевого процесса [Jares P. et al., 2007; Jares P. et al., 2008; Pérez-Galán P. et al., 2011]. Особая

роль отводится комплексным изменениям кариотипа (наличие трех и более хромосомных аберраций), являющимся неблагоприятным фактором прогноза. Пациенты с множественными хромосомными изменениями имеют низкую выживаемость и резистентность к проводимой химиотерапии [Salaverria I. et al., 2007; Jares P. et al., 2008]. Выявление кариотипа с комплексными хромосомными аберрациями возможно только при стандартном цитогенетическом исследовании (СЦИ), позволяющем детально оценить хромосомный набор каждой клетки, обнаружить как структурные перестройки, так и аномалии числа хромосом. В случаях, когда есть подозрение на наличие криптических перестроек (микроделеции или микроинсерции) маркерной хромосомы, которые не выявляются при СЦИ, или для определения точного расположения химерного гена в случае вариантной транслокации используется исследование интерфазных ядер методом флуоресцентной гибридизации in situ (FISH) [Ольшанская Ю.В. и др., 2006]. Оценка совокупности цитогенетических и молекулярно-генетических характеристик генома, а также повышение выявляемости патологического клона возможны только при использовании комплексного подхода в генетической диагностике МКЛ [Aukema S.M. et al., 2012].

Для определения прогноза течения МКЛ в настоящее время используют шкалу Международного прогностического индекса (MIPI) и её модификации – упрощенный индекс (MIPI-c), а также комбинированный биологический индекс (MIPI-b), в расчете которого учитывается количество клеток экспрессирующих Ki-67. Однако данные шкалы не включают хромосомные и молекулярно-цитогенетические особенности опухолевого клона, существенно влияющие на течение и прогноз заболевания [Jares P. et al., 2007; Абдулкадыров К.М. и др., 2015; Cohen J.B. et al., 2015].

Несмотря на то, что с каждым годом появляются все больше информации о генетических характеристиках опухолевого клона у больных МКЛ, на настоящее время данная проблема еще не полностью освещена. Также недостаточно изучен вопрос влияния совокупности цитогенетических, молекулярно-цитогенетических особенностей и клинико-лабораторных параметров больных МКЛ на клиническое течение и прогноз заболевания. Кроме того, необходима разработка четкого алгоритма генетической диагностики МКЛ, которая может применяться как в лабораториях, так и в рутинной гематологической практике для правильной постановки диагноза, дифференциальной диагностики и стратификации пациентов на прогностические группы. Это обосновывает актуальность данного исследования.

Степень разработанности научной темы

Большое количество работ посвящено изучению распространенности и роли генетических аберраций у пациентов с МКЛ. Однако практически отсутствуют данные о частоте встречаемости и комплексном влиянии цитогенетических и молекулярно-цитогенетических характеристик опухолевого клона на клиническое течение и прогноз МКЛ. Это указывает на необходимость сочетанного исследования молекулярно-цитогенетического и цитогенетического профиля больных МКЛ. Стратификация пациентов с учетом выявленных аномалий генома на группы риска позволяет оптимизировать алгоритм генетической диагностики с целью выбора оптимальной терапевтической тактики, оценить результаты лечения, а также спрогнозировать течение заболевания.

Цель исследования

Разработать генетическую стратификацию больных мантийноклеточной лимфомой на основе прогностически значимых генетических маркеров и их взаимосвязи с клиническими особенностями заболевания.

Задачи исследования

1. Изучить частоту обнаружения хромосомных аберраций методом кариотипирования при параллельном культивировании костного мозга и периферической крови у больных мантийноклеточной лимфомой.
2. Провести сравнительный анализ частоты выявления генетических аберраций методами стандартного цитогенетического исследования и флуоресцентной in situ гибридизации у пациентов с мантийноклеточной лимфомой.
3. Выявить частоту встречаемости транслокации t(11;14)(q13;q32), комплексных изменений кариотипа, аберраций гена *MYC* и хромосомы 17 у больных мантийноклеточной лимфомой.
4. Установить взаимосвязь между генетическими аномалиями и клинико-лабораторными характеристиками опухолевых клеток, определить их влияние на течение и прогноз заболевания и выявить группу пациентов высокого риска неблагоприятного течения мантийноклеточной лимфомы с учетом цитогенетических и молекулярно-генетических данных.
5. Оптимизировать алгоритм диагностики и определения прогноза течения заболевания у больных мантийноклеточной лимфомой с учетом результатов молекулярно-генетических и цитогенетического исследований.

Научная новизна

В настоящем исследовании впервые:

- получены новые данные о частоте встречаемости и прогностической значимости транслокации t(11;14)(q13;q32), комплексных изменений кариотипа, нарушений гена *MYC*, делеции гена *TP53* или моносомии хромосомы 17 у пациентов с мантийноклеточной лимфомой;

- изучена взаимосвязь выявленных генетических изменений с клиническими характеристиками МКЛ (показателями периферической крови и костного мозга, наличием гепато- и спленомегалии, выраженностью лимфаденопатии, симптомами опухолевой интоксикации);

- определена целесообразность выделения «double-hit» МКЛ как особо неблагоприятной высоко агрессивной подгруппы;

- показана важность включения хромосомных аберраций (цито- и молекулярно-цитогенетических) в алгоритм лабораторной диагностики мантийноклеточной лимфомы для оценки прогноза течения заболевания.

Теоретическая и практическая значимость

На основании полученных результатов оптимизирован алгоритм генетической диагностики пациентов с МКЛ, основанный на данных стандартного цитогенетического и молекулярно-цитогенетического исследований, с учетом особенностей генома клеток патологического клона, что дополняет представления о характеристике, частоте выявляемости и прогностической значимости хромосомных аберраций. Это позволит повысить качество диагностики, определения стратегии выбора терапии и мониторинга величины опухолевого клона у больных МКЛ.

Методология и методы исследования

В работе использованы клинико-лабораторные, цитогенетические, молекулярно-цитогенетические, гистологический и иммуногистохимический методы

исследования, многоцветная проточная цитофлуориметрия, рентгенологические и статистические методы анализа.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Наличие у больных комплексных изменений кариотипа, а также нарушений генов *TP53* и *MYC* значимо снижает продолжительность общей и безрецидивной выживаемости и позволяет отнести таких пациентов к группе высокого риска неблагоприятного течения заболевания.
2. Аберрации гена *MYC* являются независимым прогностически значимым фактором, определяющим неблагоприятное клиническое течение МКЛ.
3. Нарушения генов *TP53* и *MYC* высоко ассоциированы с нестабильностью генома и обнаружением при СЦИ комплексных числовых и структурных изменений кариотипа.
4. Достоверное влияние на прогноз заболевания хромосомных нарушений и аберраций в генах *TP53, MYC* позволяет включить проведение СЦИ и FISH-исследования для обнаружения наличия изменений в кариотипе и в данных генах всем больным с МКЛ.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень достоверности обусловлена проведением цитогенетических и молекулярно-генетических исследований у большой группы больных (117 пациентов с МКЛ), использованием достоверных методов исследования, качеством проведения лабораторных анализов и статистической обработкой полученных результатов.

Материалы диссертации представлены на VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Генетика опухолей кроветворной системы – от диагностики к терапии» (Санкт-Петербург, 2021), XVIII Российской конференции с международным участием «Злокачественные лимфомы» (Москва, 2021), II-й научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии» (Санкт-Петербург, 2021), 27th Congress of the European Hematology Association (Вена, 2022), VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Генетика опухолей кроветворной системы – от диагностики к терапии» (Санкт-Петербург, 2023), III-й научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии» (Санкт-Петербург, 2023).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови. Результаты проведённого исследования соответствуют области исследования специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови, а именно: п. 6 и п. 13.

Внедрение результатов исследования

Цитогенетические и молекулярно-цитогенетические методы диагностики, а также мониторинга больных МКЛ внедрены и применяются в практической и научно-исследовательской деятельности Научно-исследовательского центра клеточной и молекулярной патологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства». Результаты исследований используются в работе гематологических отделений лечебно-профилактических учреждений Санкт-Петербурга – Городской больницы №15, ГБУЗ Ленинградской

областной клинической больницы, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России.

Публикации

По теме диссертации опубликованы 9 печатных работ, из них – 3 в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив разработки темы и библиографического списка. Работа изложена на 174 страницах машинописного текста, содержит 24 таблицы и 63 рисунка. Библиографический список включает 24 источника на русском языке и 118 на иностранном языке.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Характеристика пациентов

Нами было обследовано 117 пациентов с гистологически подтвержденным диагнозом МКЛ, проходивших лечение в гематологической клинике ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», гематологических отделениях лечебных учреждений Санкт-Петербурга, Ленинградской области, а также других регионов РФ с 2013 по 2022 год. В исследование было включено 79/117 (67,5%) мужчин и 38/117 (32,5%) женщин (соотношение по полу 2:1). Медиана возраста пациентов составила 60 лет (26–83 года). У 87/117 пациентов (74,4%) верифицирован дебют МКЛ, 10/117 (8,5%) – рецидив, 8/117 (6,8%) – прогрессия, 12/117 (10,3%) – ремиссия заболевания. Медиана срока наблюдения после установления диагноза составляла 30 месяцев (0–102 месяца). На момент окончания исследования количество выживших больных было 77/117 (65,8%), умерших - 40/117 (34,2%).

Стадирование пациентов проводилось в соответствии с классификацией Ann-Arbor (1972 г. в модификации Cotswold, 1989): I стадия - 1/117 (0,9%), II стадия - 2/117 (1,7%), III стадия - 6/117 (5,1%), IV стадия - 108/117 (92,3%). Согласно шкале оценки соматического статуса ECOG пациенты разделялись на четыре группы: 25/117 (21,4%) – 0 баллов, 67/117 (57,3%) – 1 балл, 19/117 (16,2%) – 2 балла и 6/117 (5,1%) – 3 балла. У 87/117 (74,4%) пациентов выявлено поражение более 1 экстранодальной области. Вовлечение КМ наблюдалось у 93/117 (79,5%) больных. У 62/117 (53,0%) пациентов обнаруживались В-симптомы. Повышение активности ЛДГ сыворотки крови определялось у 84/117 (71,8%) больных. Распределение пациентов по шкале MIPI было следующим: низкий риск - 17/117 (14,5%), промежуточный риск – 33/117 (28,2%), высокий риск – 67/117 (57,3%).

Проанализировать кариотип методом СЦИ удалось 80 больным. Нормальный кариотип обнаруживался у 44/80 (55,0%) больных. Патологический кариотип с 1–2 хромосомными аномалиями определялся у 15/80 (18,75%) пациентов, в 26,25% (21/80) случаев выявлялись комплексные изменения кариотипа (3 и более хромосомных аберраций). Из 36 пациентов с патологическим кариотипом диагностическая транслокация t(11;14)(q13;q32) выявлялась в 88,9% (32/36) случаев. У 4/36 больных (11,1%) обнаруживались различные аберрации хромосом: трисомия хромосомы 12, делеция del(11)(q32), дополнительная маркерная хромосома, комплексный кариотип.

Анализ ОВ пациентов в зависимости от наличия хромосомных аберраций в кариотипе показал, что у пациентов с хромосомными изменениями медиана ОВ значимо ниже, чем у больных с нормальным кариотипом и составила 62 месяца по сравнению со 144 (p=0,002). При оценке БРВ у больных с патологическим кариотипом обнаружена тенденция к снижению медианы БРВ по сравнению с пациентами, у которых выявлялся нормальный кариотип (48 vs 120 месяцев, соответственно, p = 0,070) (рисунок 1).

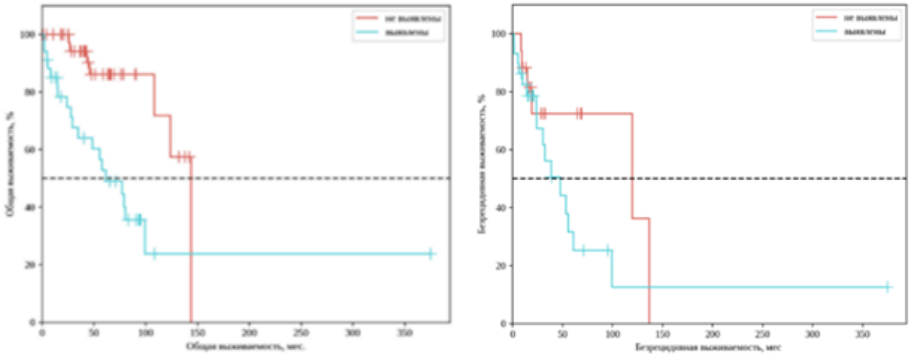

Рисунок 1 — Кривые ОВ и БРВ у пациентов с МКЛ в зависимости от выявления патологического кариотипа

Метод исследования хромосом

Материалом для исследования у пациентов с МКЛ являлись периферическая кровь (ПК) 53/88 (60,2%) или костный мозг (КМ) 21/88 (23,9%). У 14/88 (15,9%) больных выполнялось параллельное культивирование КМ и митоген-стимулированных В-лимфоцитов ПК.

Для этого ПК в объеме 10–12 мл забирали в 15 мл вакуумные пробирки, содержащие 100–500 ед. гепарина лития, перемешивали. После подсчета количества лейкоцитов ПК разделяли на две или более культур из расчета оптимальной концентрации - 3–5x10^9/мл клеток на 1 мл среды RPMI 1640 с добавлением 20% эмбриональной телячьей сыворотки, антибиотика, L-глутамина в конечной концентрации 292,3 мг/л и митогенов (липополисахарида и ТРА) в соотношении 1:1. Для культивирования клеточную суспензию помещали в термостат и инкубировали 72 часа при температуре +37°С, последние 24 часа с добавлением колцемида (в концентрации, рекомендованной производителем).

В случае культивирования КМ 2-3 мл пунктата КМ забирали в стандартную пробирку, содержащую гепарин. Посадку культуры проводили путем добавления к КМ среды RPMI (с антибиотиком и глутамином), эмбриональной телячьей сыворотки и колцемида. При этом выдерживали оптимальную концентрацию клеток КМ – 2×10^9 на 1 мл среды RPMI. Стандартное время культивирования составляло 24 часа при температуре +37°С.

Далее следовали этапы гипотонизации и фиксации. Полученную суспензию раскапывали на охлажденные, обезжиренные предметные стекла. Далее выполняли дифференциальную окраску с применением трипсина (GTG-техника) по методу Seabright (Seabright, 1971). В каждом исследовании проанализировано не менее 20 метафазных пластин. Интерпретацию патологии кариотипа производили в соответствии с Международной цитогеномной номенклатурой (ISCN, 2021).

Для цитогенетического анализа и архивирования полученных данных, использовали компьютерную систему анализа изображений «ВидеоТесТ».

Флуоресцентная in situ гибридизация (FISH)

Для FISH-исследования использовались суспензия клеток, приготовленная для стандартного цитогенетического исследования, а также мазки ПК или КМ на предметном стекле. При отсутствии нативного материала для проведения СЦИ или FISH-исследования на суспензии опухолевых клеток в ряде случаев FISH-анализ выполнялся на гистологических срезах парафиновых блоков.

FISH на суспензии клеток ПК или КМ. Подготовка материала проводилась в два этапа.

1 этап (1 день)

1. Центрифугировали эппендорф с суспензией в микроцентрифуге 5 минут/1000 оборотов.
2. В отдельном эппендорфе осадок разбавили несколькими каплями фиксатора.
3. Нанесли осадок пипеткой Пастера на предварительно обезжиренные, охлажденные и смоченные в дистиллированной воде предметные стекла.
4. Положили стекло на термоплату, нагретую до +37°С и высушивали в течение 10 минут.
5. Разметили под световым микроскопом с опущенным конденсором участок с отдельно расположенными ядрами (не менее 200 в поле зрения).
6. Нанесли на размеченный участок 1,5 мкл ДНК-пробы, положили сверху покровное стекло (10 мм), заклеили резиновым клеем для герметизации.
7. Предметные стекла поместили в прибор для денатурации и гибридизации – ThermoBrite TM Slide Hybridization/Denaturation System (Abbott Molecular) на 16–24 часа.
8. Денатурацию проводили при температуре +75°С в течение 12 минут, температурный режим гибридизации +37°С.

2 этап (2 день)

1. Предварительно нагрели термобаню до +72 - 73°С.
2. Приготовили раствор 0,4xSSC (1 мл 20 SSC/49 мл дистиллированной воды – на 1 сосуд Коплина). Поместили в термобаню.
3. Подготовили раствор 2xSSC-TWEEN 0,005% (5 мл 20xSSC, 45 мл дистиллированной воды, 25 мкл TWEEN-20 – на 1 сосуд Коплина).
4. Сняли клей, покровное стекло, поместили в сосуд Коплина с 0,4xSSC в баню на две минуты.
5. Продолжили отмывку во втором сосуде Коплина с 2xSSC-TWEEN 0,005% при комнатной температуре в течение 2 минут.
6. Высушили стекла в темноте 30 минут.
7. Выполнили контрастирующую окраску интерфазных ядер раствором DAPI/Antifade (1,5 мкл).
8. Накрыли покровным стеклом размером 24x24 мм.

Б. FISH на мазках периферической крови или костного мозга. Исследование выполнялось в 2 этапа (2 дня).

1 этап (1 день)

1. Мазки помещали на 20 минут в фиксатор, приготовленный из этилового спирта и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3:1.
2. Высушили мазки на воздухе в течение 20–30 минут.

Дальнейшая подготовка материала в первый день проводилась аналогично п. 5–8 методики FISH-исследования на суспензии клеток ПК или КМ. Второй день полностью соответствовал описанной выше методики.

Анализ препаратов проводился на флуоресцентном микроскопе Carl Zeiss Axio Imager 2 с системой видеоанализа ISIS (Carl Zeiss Microscopy GmbH и MetaSystems Hard & Software GmbH, Германия) с использованием тройного фильтра DAPI/FITC/Spectrum Orange и отдельно фильтров FITC, Spectrum Orange. Для каждого ДНК-зонда оценивали не менее 200 интерфазных ядер с четкими сигналами. Результаты FISH-анализа описывали в соответствии с международной цитогеномной номенклатурой (ISCN, 2021).

В исследовании использовались следующие ДНК-зонды: XL t(11;14) MYEOV/IGH DF Translocation/Dual Fusion Probe, XL TP53/17cen Deletion Probe, XL MYC BA Break Apart Probe (MetaSystems, Германия).

Статистическая обработка результатов исследования

Статистическая обработка данных выполнялась с помощью программы StatTech v. 3.0.6 (разработчик - ООО "Статтех", Россия). Оценка функции выживаемости больных проводилась по методу Каплана-Мейера, при помощи которого выполнялся анализ цензурированных данных. В качестве точки отсчета для вычисления общей выживаемости выбирали дату постановки диагноза МКЛ. Безрецидивная выживаемость рассчитывалась от момента наступления ремиссии до момента возникновения рецидива.

Для анализа выживаемости больных использовался метод регрессии Кокса, подразумевающий прогнозирование риска наступления события для рассматриваемого объекта и оценку влияния заранее определенных независимых переменных (предикторов) на этот риск.

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 50). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3).

Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей.

Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью U-критерия Манна-Уитни.

Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью, критерия хи-квадрат Пирсона (при значениях ожидаемого явления более 10).

Для статистического изучения связи между явлениями использовался непараметрический метод корреляции Спирмена, при котором определялась фактическая степень параллелизма между двумя количественными рядами изучаемых признаков и давалась оценка тесноты установленной связи с помощью количественно выраженного коэффициента.

Статистически значимыми считали различия при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Частота встречаемости и прогностические особенности хромосомных аберраций у больных с МКЛ

СЦИ проведено 88/117 (75,2%) пациентам, 29/117 (24,8%) больным культивирование исследуемого материала (периферической крови или костного мозга) не выполнялось. При СЦИ проанализировать кариотип удалось у 80/88 (90,9%) больных (в 9,1% (8/88) случаев не получены метафазные пластинки по причине низкой митотической активности клеток). Патологический кариотип с 1–2 хромосомными аномалиями определялся у 15/80 (18,75%) пациентов, в 26,25% (21/80) случаев выявлялись комплексные изменения кариотипа (3 и более хромосомных аберраций). У 44/80 (55,0%) больных определялся нормальный кариотип (рисунок 2).

Рисунок 2 — Частота выявления хромосомных аберраций при исследовании кариотипа пациентов с МКЛ

Из 36/80 (45,0%) пациентов с патологическим кариотипом транслокация t(11;14)(q13;q32) обнаруживалась в 88,9% (32/36) случаях. У 4/32 (12,5%) больных t(11;14)(q13;q32) выявлялась как единственное изменение кариотипа. В 87,5% (28/32) случаев помимо t(11;14)(q13;q32) определялись ДХА. Важно отметить, что 10/28 (35,7%) таких пациентов были с нарушениями 17 хромосомы, причем все эти изменения обнаруживались в составе комплексного кариотипа (КК).

Помимо транслокации t(11;14)(q13;q32) у пациентов наиболее часто обнаруживались маркерные хромосомы (от 1 до 8), численные и структурные изменения хромосом 7 (del(7q), add(7p), add(7q), -7, t(7;17)(p22;q11.2)), 3 (der(3), add(3p), dup(3q), +3), 17 (del(17p), -17, i(17q), t(7;17)(p22;q11.2)). Маркерные хромосомы в составе комплексного кариотипа выявлялись у 8/21 (38,1%) пациентов (рисунок 3).

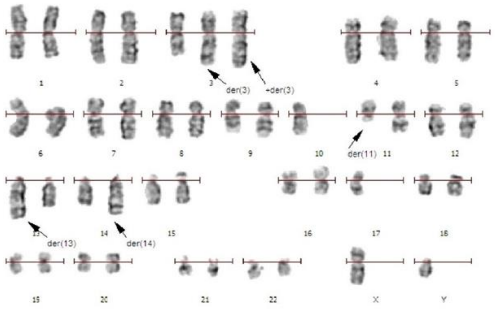

Рисунок 3 – Кариограмма больного МКЛ с комплексными изменениями кариотипа (46,XY,der(3),+der(3),-8,-10,t(11;14)(q13;q32),der(13)t(11;13)(q13;q34) с вариациями[6]/46,XY[14]

Изменения хромосомы 7 у пациентов с КК определялись в 23,8% (5/21) случаев:

делеция q-плеча хромосомы 7 – 1/5 (20,0%), дополнительный материал на p- и q- плечах хромосомы 7 – 2/5 (40,0%), моносомия хромосомы 7 – 1/5 (20,0%), транслокация с участием 7 хромосомы (t(7;17)(p22;q11.2)) – 1/5 (20,0%).

Аберрации хромосомы 3 выявлялись у 7/21 (33,3%) больных:

- дериват хромосомы 3 – 1/7 (14,3%), дополнительный материал на p-плече хромосомы 3 – 1/7 (14,3%), дупликация региона q-плеча хромосомы 3 – 1/7 (14,3%), дополнительная хромосома 3 – 3/7 (42,8%), наличие деривата хромосомы 3 в сочетании с дополнительной копией хромосомы 3 – 1/7 (14,3%).

Нарушения хромосомы 17 обнаруживались у 10/21 (47,6%) пациентов: делеция del (17p) – 3/10 (30,0%), моносомия хромосомы 17 – 3/10 (30,0%), изохромосома 17 – 2/10 (20,0%), дополнительный материал на p-плече хромосомы 17 – 1/10 (10,0%), транслокация с вовлечением q-плеча хромосомы 17 (t(7;17)(p22;q11.2)) – 1/10 (10,0%).

Анализ ОВ и БРВ у пациентов с КК показал, что КК достоверно ассоциирован со снижением как медианы ОВ, которая составила 49 месяцев по сравнению со 144 месяцами (p<0,001), так и БРВ (32 месяца против 120 мес) (p=0,015) (рисунок 4).

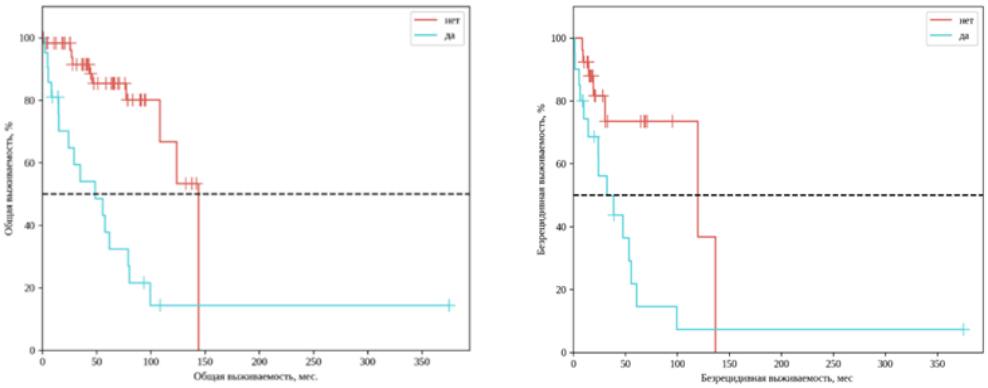

Рисунок 4 - ОВ и БРВ больных МКЛ в зависимости от наличия КК

Для наиболее часто встречающихся нарушений 17 хромосомы (делеция 17p, моносомия хромосомы 17, изохромосома 17) проведена оценка их влияния на ОВ и БРВ и сравнительный анализ с пациентами без изменений хромосомы 17.

В результате статистической обработки данных были выявлены значимые различия ОВ у больных в зависимости от наличия и вида аберраций хромосомы 17 (p=0,001). Однако, различия БРВ у пациентов в зависимости от выявления патологии хромосомы 17 не были статистически значимы (p=0,089). Метод регрессии Кокса показал, что достоверное негативное влияние на ОВ и БРВ оказывали делеция 17p (p=0,001, p=0,020, соответственно), изохромосома 17 (p=0,008, p=0,019, соответственно). В то время как для моносомии хромосомы 17 не установлено статистически значимого влияния на ОВ и БРВ (p=0,836, p=0,925, соответственно) (рисунок 5).

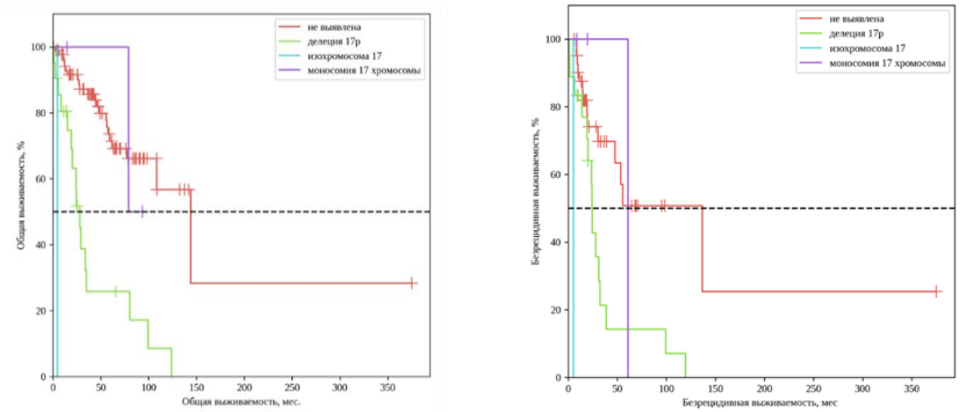

Рисунок 5 – ОВ и БРВ больных МКЛ в зависимости от в зависимости от выявленных аберраций 17 хромосомы.

Таким образом, оценка кариотипа, его структурных и численных характеристик, является важнейшим диагностическим и прогностическим критерием МКЛ. Метод СЦИ позволяет выявить не только высокоспецифичную для МКЛ транслокацию t(11;14)(q13;q32), но и аберрации высокого риска такие как КК и изменения хромосомы 17. Статистический анализ показал значимое неблагоприятное влияние на ОВ и БРВ КК (p<0,001, p=0,015, соответственно), делеции 17р (p=0,001, p=0,020, соответственно) и изохромосомы 17 (p=0,008, p=0,019, соответственно).

Частота встречаемости и прогностические особенности молекулярно-цитогенетических аберраций у больных с МКЛ

FISH-исследование с ДНК-зондами для выявления транслокации t(11;14)(q13;q32), изменений гена *MYC*, делеции *TP53* выполнено 117 пациентам.

Диагностическая транслокация t(11;14)(q13;q32) обнаружена у 82/117 (70,1%) пациентов, в том числе у 7/8 (87,5%) с низкой митотической активностью и у 24/44 (54,5%) с нормальным кариотипом.

Делеция гена *TP53* и моносомия хромосомы 17 методом FISH выявлены у 27/117 (23,1%) больных: в 88,9% (24/27) случаев обнаруживалась делеция *TP53*, в 11,1% (3/27) – моносомия хромосомы 17.

У больных с делецией гена *TP53* и моносомией 17 хромосомой, выявленными FISH-методом, СЦИ проведено в 74,1% (20/27) случаев (у 7/27 (25,9%) пациентов культивирование не выполнялось). Проанализировать кариотип удалось у 19/20 (95,0%) больных, у 1/20 (5,0%) метафазные пластинки не получены по причине низкой митотической активности клеток. Патологический кариотип обнаружен у 15/19 (78,9%) больных, у 4/19 (21,1%) – определялся нормальный кариотип. У 1/15 (6,7%) определен кариотип с 2 хромосомными изменениями, в 93,3% (14/15) случаев у пациентов выявлен КК.

Важно отметить, что выполнение FISH-исследования у пациентов с МКЛ с ДНК-пробой для выявления аберраций, вовлекающих ген *TP53*, наряду со СЦИ позволило дополнительно обнаружить делецию *TP53* у 10/20 (50,0%) больных: в 50,0% (5/10) случаев – у пациентов с патологическим кариотипом, у 4/10 (40,0%) – с нормальным кариотипом, у 1/10 (10,0%) – при низкой митотической активности клеток.

Также, проведенное FISH-исследование с ДНК-пробой к гену *MYC* дополнительно обнаружило аберрации *MYC* у 12/27 (44,4%) больных с изменениями

TP53: у 10/12 (83,4%) выявлена амплификация *MYC* (от 3 до 16 копий гена *MYC*), 1/12 (8,3%) – амплификация *MYC* (1 дополнительная копия *MYC*) с делецией центромерного участка *MYC*, 1/12 (8,3%) – амплификация *MYC* (1 дополнительная копия *MYC*) с делецией теломерного участка *MYC*. СЦИ, выполненное 11/12 (91,7%) пациентам показало следующие результаты: в 27,3% (3/11) случаев определялся нормальный кариотип, 8/11 (72,7%) – у всех пациентов выявлялся КК.

Сравнительный анализ пациентов с МКЛ в зависимости от FISH-статуса гена *TP53* показал, что в группе больных с изменениями гена *TP53* (27/117 (23,1%)) достоверно чаще обнаруживались патологический кариотип (55,6% и 23,3%, соответственно, p<0,001), в особенности КК (51,9% и 7,8%, соответственно, p<0,001) и аберрации гена *MYC* (44,4% и 18,9%, соответственно, p=0,007).

Анализ ОВ и БРВ у больных с аберрациями, вовлекающими ген *TP53*, показал, что медианы ОВ и БРВ значимо ниже у пациентов с изменениями *TP53* чем в группе без нарушений *TP53*, 28 месяцев против 144 – для ОВ (p < 0,001), и 25 месяцев против 137 месяцев – для БРВ (p=0,005) (рисунок 6).

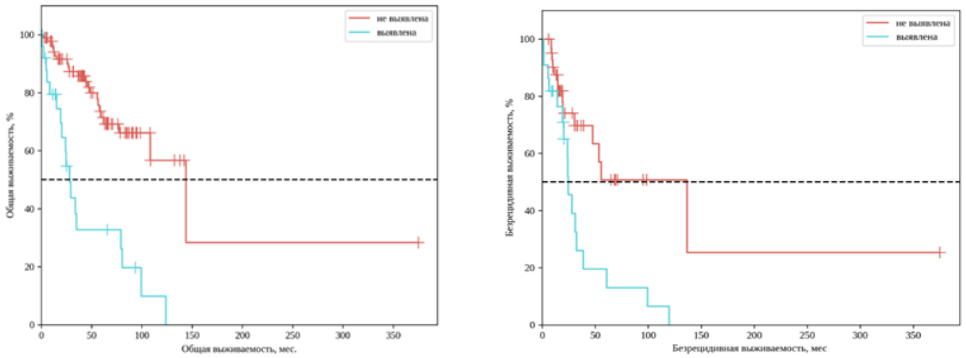

Рисунок 6 — ОВ и БРВ больных МКЛ в зависимости от наличия изменений гена *TP53*

FISH-исследование с ДНК-пробой к гену *MYC* проведено у 117 больных. Изменения гена *MYC* выявлены у 29/117 пациентов (24,8%): перестройка с вовлечением *MYC* обнаружена у 2/29 (7,0%) больных, амплификация *MYC* (от 1 до 14 дополнительных копий гена) определяется в 79,3% (23/29) случаев; амплификация *MYC* с делецией теломерного участка *MYC* – у 3/29 (10,3%) пациентов; амплификация *MYC* с делецией центромерного участка *MYC* – у 1/29 (3,4%) больного.

СЦИ выполнено 21/29 (72,4%) больному (у 2/21 (9,5%) не получены метафазные пластинки по причине низкой митотической активности клеток). У 10/19 (52,6%) обнаружен нормальный кариотип, в 47,4% (9/19) случаев определялся патологический кариотип (1/9 (11,1%) – кариотип с изолированной транслокацией t(11;14)(q13;q32), 8/9 (88,9%) – КК (с 4 и более хромосомными аберрациями). У 11/29 (37,9%) пациентов выявлено сочетание аберраций *MYC* с изменениями хромосомы 17.

Сопоставление результатов СЦИ и FISH-исследования с использованием ДНК-пробы к гену *MYC* показало, что изменения гена *MYC* во всех случаях выявлялись только методом FISH, в том числе у 9/19 (47,4%) пациентов с патологическим кариотипом.

Сравнительный анализ пациентов с МКЛ в зависимости от FISH-статуса гена *MYC* показал, что в группе больных с изменениями гена *MYC* (29/117 (24,8%)) достоверно чаще выявлялись прогностически неблагоприятные ДХА с вовлечением гена *TP53* – 41,4% и 17,0% (p=0,007). Кроме того, у пациентов с аберрациями гена

MYC прослеживалась статистическая тенденция к более частой встречаемости КК по сравнению с больными без нарушений *MYC* (27,6% vs 14,8%, соответственно, p=0,072). При сравнении частоты выявляемости патологического кариотипа в двух группах пациентов значимых отличий не обнаружено (31,0% vs 30,7%, соответственно, p=0,812).

Анализ ОВ, проведенный больным МКЛ в зависимости от обнаружения аберраций гена *MYC* показал, что медиана ОВ у пациентов с изменениями *MYC* значимо короче по сравнению с больными без нарушений *MYC* (43 месяца против 108) (p = 0,013). Различия медиан БРВ у больных с изменениями *MYC* и отсутствием аберраций с вовлечением *MYC* не были статистически значимы (p = 0,089). Медиана БРВ у пациентов без нарушений *MYC* составила 48 месяцев, в то время как у больных с аберрациями *MYC* БРВ была 24 месяца (рисунок 7).

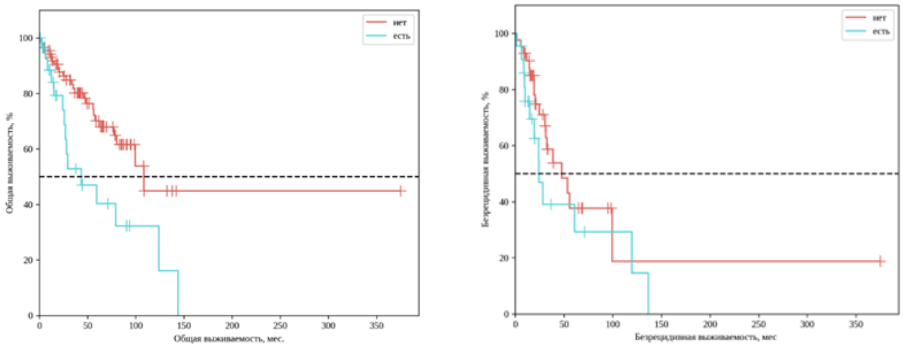

Рисунок 7 — ОВ и БРВ больных МКЛ в зависимости от наличия изменений гена *MYC*

Для выявленных аберраций гена *MYC* проведен статистический анализ их влияния на ОВ и БРВ и сравнительная оценка с пациентами без изменений *MYC*.

В результате статистической обработки данных были выявлены значимые различия ОВ у больных в зависимости от наличия и вида аберраций, затрагивающих ген *MYC* (p = 0,001).

Анализ показал, что медиана ОВ у пациентов без изменений *MYC* составила 108 месяцев, с перестройкой *MYC* – 27 месяцев, с амплификацией *MYC* – 43 месяца, у больных с дополнительной копией *MYC* и делецией теломерного участка *MYC* была 59 месяцев, а при выявлении амплификации *MYC* в сочетании с делецией центромерного участка *MYC* медиана ОВ соответствовала 15 месяцам. Метод регрессии Кокса показал, что наиболее неблагоприятное влияние на продолжительность ОВ оказывало сочетание амплификации гена *MYC* с делецией центромерного участка *MYC* (p=0,028).

Анализ БРВ пациентов в зависимости от выявления и вида обнаруженной аберрации не определил статистически значимых различий (p = 0,089). Медиана БРВ у больных без изменений *MYC* соответствовала 48 месяцам, с перестройкой *MYC* - 9 месяцев, с амплификацией *MYC* – 24 месяца, при сочетании амплификации с делецией теломерного участка *MYC* – 28 месяцев, амплификация с делецией центромерного участка *MYC* - 10 месяцев (рисунок 8).

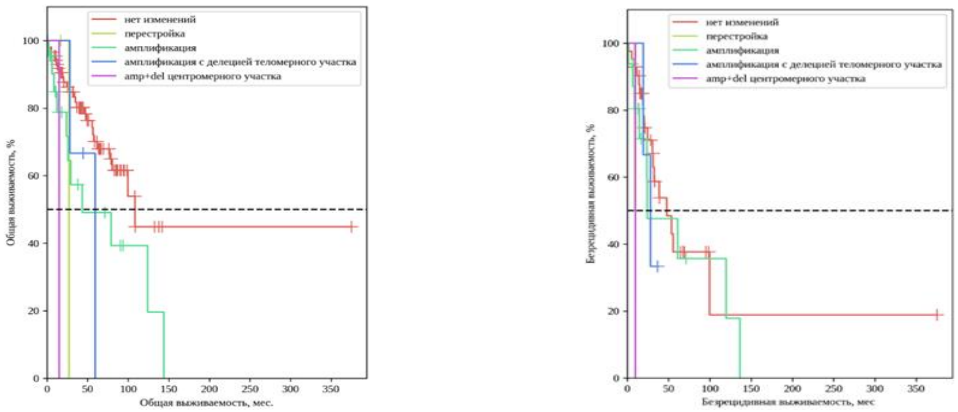

Рисунок 8 – ОВ и БРВ больных МКЛ в зависимости от наличия и типа нарушений гена *MYC*

Мы исследовали группу больных «double-hit» МКЛ, у которых выявлялось сочетание аберраций *MYC* с наличием транслокации t(11;14)(q13;q32) (22/117 (18,8%)). Кариотипирование выполнено 18/22 пациентам (81,8%) (в 18,2% (4/22) случаев СЦИ не проводилось). Кариотип удалось проанализировать у 16/18 (88,9%) больных (у двоих пациентов определялась низкая митотическая активность клеток). Патологический кариотип детектировался у 9/16 (56,3%) пациентов, из которых в 88,9% (8/9) случаев обнаруживался КК (от 4 до 23–25 аберраций). FISH-исследование с ДНК-пробой для обнаружения изменений гена *MYC* выявило амплификацию *MYC* (от 1 до 14 дополнительных копий гена *MYC*) у 20/22 (90,9%) больных и увеличение копийности *MYC* с делецией теломерного и центромерного участка *MYC* (1/22 (4,5%) для каждого случая).

У пациентов с «double-hit» МКЛ аберрации с вовлечением гена *TP53* методом FISH обнаруживались у 10 из 22 (45,5%) больных (в 70,0% (7/10) случаев - делеция *TP53*, 30,0% (3/10) – моносомия хромосомы 17).

Сравнительная оценка ОВ и БРВ у пациентов в группах «double-hit» МКЛ и больных с транслокацией t(11;14)(q13;q32) обнаружила, что больных «double-hit» МКЛ медианы ОВ и БРВ были короче, чем у пациентов с транслокацией t(11;14)(q13;q32) (43,40 и 80,47 месяцев, соответственно, и 24,23 и 47,67 месяцев, соответственно). Однако данные различия не являлись статистически значимыми (p = 0,117 и p = 0,516, соответственно).

По результатам проведенных исследований предложен алгоритм генетической диагностики пациентов с МКЛ (рисунок 9).

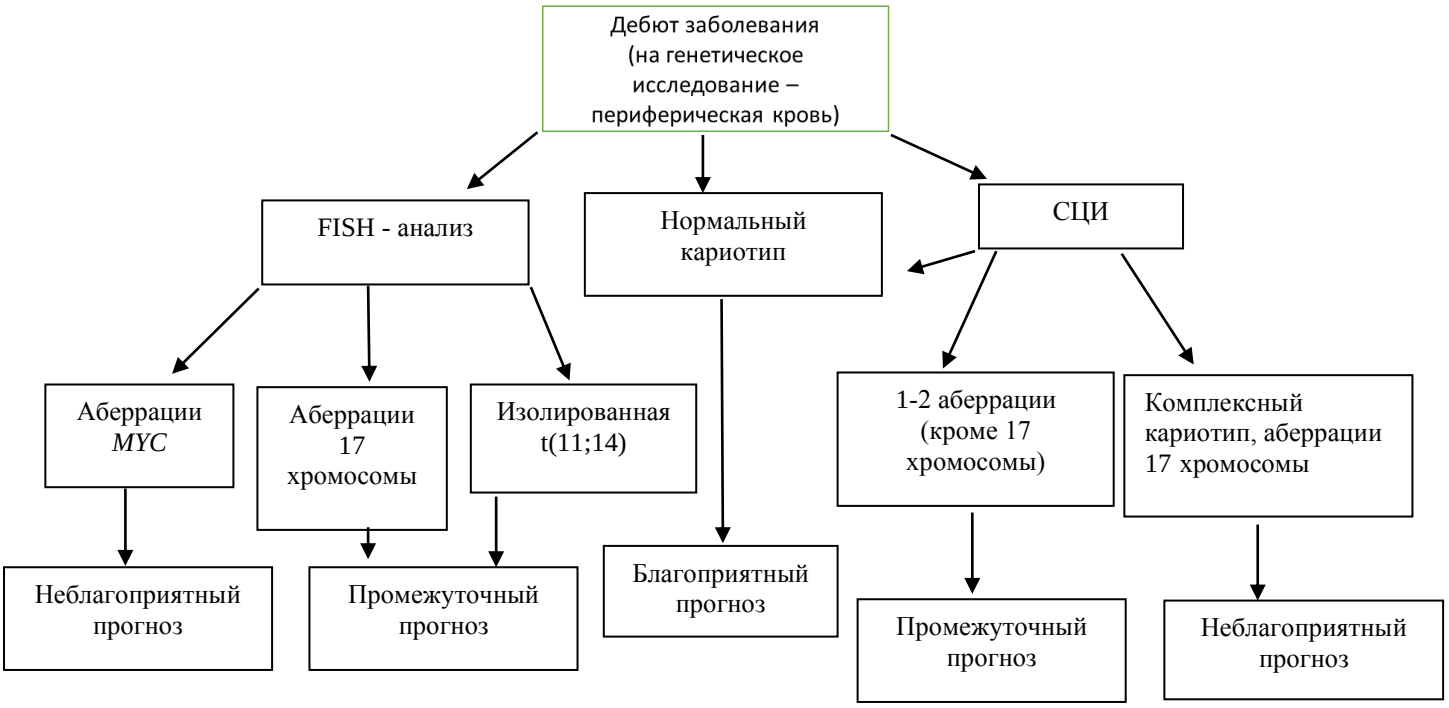

Рисунок 9 – Алгоритм генетической диагностики пациентов с МКЛ

В дебюте заболевания пациенту рекомендовано проведение СЦИ и FISH-исследования с ДНК-пробами для выявления транслокации t(11;14)(q13;q32) и аберраций генов *MYC* и *TP53*. Если при кариотипировании обнаруживается КК или изменения хромосомы 17, то больного следует относить к группе неблагоприятного прогноза вне зависимости от результатов FISH-анализа. В случае если выявляются 1-2 аберрации (кроме нарушений хромосомы 17) или НК, для оценки прогноза необходимо проведение FISH-исследования. При обнаружении изменений генов *MYC* и *TP53* пациента определяют в группу неблагоприятного прогноза, промежуточного – при выявлении изолированной транслокации t(11;14)(q13;q32).

Таким образом, алгоритм генетической диагностики больных МКЛ, разработанный на основании полученных результатов нашего исследования, может дополнить применяемые на настоящее время методики оценки риска при МКЛ, что поможет улучшить диагностику, прогнозирование характера клинического течения МКЛ и выбор оптимального метода лечения для каждого пациента с учетом цито- и молекулярно-цитогенетических характеристик опухолевого клона.

ВЫВОДЫ

1. Параллельное культивирование клеток периферической крови и костного мозга показало, что хромосомные аберрации чаще выявлялись при культивировании митоген-стимулированных В-лимфоцитов (57,1% vs 7,1%, p<0,05).
2. Частота встречаемости транслокации t(11;14)(q13;q32) при стандартном цитогенетическом исследовании и FISH-анализе составила 40,0% и 70,1%, соответственно, p<0,001; аберраций хромосомы 17 при FISH-исследовании и оценке кариотипа – 22,2% и 11,3%, соответственно, p<0,001. Изменения гена *MYC* обнаруживались в 24,8% случаев (выявлялись только при FISH-анализе).
3. Корреляционный анализ клинико-лабораторных параметров у пациентов в зависимости от:

- FISH-статуса гена *MYC* выявил достоверную ассоциацию аберраций *MYC* с более частым поражением костного мозга (p=0,027), наличием гепатомегалии (p=0,002), спленомегалии (p=0,023), общесоматическим статусом, соответствующим 2 и 3 баллам по шкале ECOG (p<0,001), тромбоцитопенией (p=0,002), анемией (p=0,002) и более высоким уровнем лейкоцитов в периферической крови (p<0,001);
- FISH-статуса гена *TP53* выявил значимую ассоциацию аберраций *TP53* с общесоматическим статусом, соответствующим 2 и 3 баллам по шкале ECOG (p=0,036), более высокой частотой встречаемости спленомегалии (p=0,015), поражения костного мозга (p=0,013), более высоким содержанием лейкоцитов в периферической крови (p=0,004);
- выявления патологического кариотипа обнаружил статистическую значимость наличия хромосомных нарушений с Международным прогностическим индексом MIPI групп промежуточного и высокого риска (p=0,034), общесоматическим статусом, соответствующим 2 и 3 баллам по шкале ECOG (p=0,018), более низким уровнем содержания тромбоцитов (p=0,012), гемоглобина (у мужчин) (p=0,015), более частым выявлением тромбоцитопении (p=0,027).

4. Наиболее прогностически неблагоприятными цито- и молекулярно-цитогенетическими маркерами, достоверно ухудшающими общую выживаемость, являлись патологический кариотип (p=0,002), комплексные нарушения кариотипа (p<0,001), изменения генов *TP53* (p<0,001) и *MYC* (p=0,013). Оценка безрецидивной выживаемости выявила статистическую значимость комплексных изменений кариотипа (p=0,019) и аберраций *TP53* (p=0,005). Множественный регрессионный анализ показал ключевое негативное влияние на общую выживаемость независимо от других параметров нарушений гена *MYC* (p=0,05). При изучении факторов, оказывающих независимое влияние на безрецидивную выживаемость выявлена статистическая тенденция также для *MYC* (p=0,30).
5. В алгоритм генетической диагностики мантийноклеточной лимфомы целесообразно включить скрининг на наличие аберраций гена *MYC* для выявления пациентов группы высокого риска и прогностически неблагоприятной подгруппы «double-hit» мантийноклеточной лимфомы с множественными хромосомными нарушениями, изменениями гена *MYC* и транслокацией t(11;14)(q13;q32).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Сочетанное проведение стандартного цитогенетического исследования и FISH-анализа значительно увеличивает частоту выявления опухолевого клона и, таким

образом, помогает осуществлять более точную диагностику и мониторинг минимальной остаточной болезни у пациентов с мантийноклеточной лимфомой.

2. Прогностически значимый неблагоприятный потенциал цитогенетических (комплексные нарушения кариотипа) и молекулярно-цитогенетических изменений (аберраций генов *TP53* и *MYC*) позволяет рекомендовать проведение стандартного цитогенетического и FISH-исследований всем пациентам с мантийноклеточной лимфомой для подтверждения диагноза и выявления больных группы высокого риска с низкими показателями общей и безрецидивной выживаемости.
3. В случае обнаружения при кариотипировании комплексных нарушений кариотипа или изменений хромосомы 17, пациента следует относить к группе неблагоприятного прогноза вне зависимости от результатов FISH-анализа. При выявлении 1-2 аберрации (кроме нарушений хромосомы 17) или нормального кариотипа для оценки прогноза необходимо проведение FISH-исследования.
4. При наличии изменений генов *MYC* и *TP53* больного определяют в группу неблагоприятного прогноза, а изолированная транслокация t(11;14)(q13;q32) ассоциируется с промежуточным прогнозом.

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Результаты, полученные при выполнении данной работы, могут являться основой для продолжения изучения вопросов оптимизации генетической диагностики МКЛ за счет внедрения дополнительных методов исследований с молекулярными маркерами, обуславливающими резистентость к проводимой терапии (*HCK, NOTCH1, TP53*) и, таким образом, значительно расширить представления о генетическом профиле больных МКЛ и стратификации пациентов на прогностические группы. Актуальными темами для дальнейшего изучения являются:

1. Дополнение алгоритма генетической диагностики МКЛ ПЦР-исследованием мутаций в генах *HCK, NOTCH1, TP53*, а также определение частоты встречаемости данных генетических нарушений у больных МКЛ.

2. Установление взаимосвязи между выявленными цитогенетическими и молекулярно-цитогенетическими аберрациями (изменения генов *TP53, MYC*) и наличием мутаций *HCK, NOTCH1, TP53*.

3. Сравнение прогностической значимости комплексных изменений кариотипа, нарушений генов *TP53, MYC* и мутаций *HCK, NOTCH1, TP53*.

4. На основе полученных данных определить группу пациентов высокого риска неблагоприятного течения МКЛ и резистентности к таргетной и иммунохимиотерапии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Клеина, Е.В. Постер 30 Прогностическая роль генетических аномалий при лимфоме из клеток мантийной зоны / Е.В. Клеина, С.В. Волошин, Ю.С. Вокуева, О.Д. Муштакова, Л.С. Мартыненко, М.П. Бакай, Ю.С. Руженкова, С.Ю. Линников, Е.В. Карягина, О.С. Успенская, И.С. Зюзгин, С.С. Бессмельцев, С.В. Сидоркевич, И.С. Мартынкевич // Злокачественные лимфомы: Сборник тезисов постерной сессии XVIII Российской конференции с международным участием, Москва, 14–15 октября 2021 года. – 2021. – С. 18-19.

2. Клеина, Е.В. Прогностическая роль генетических аномалий при лимфоме из клеток мантийной зоны / Е.В. Клеина, С.В. Волошин, Ю.С. Вокуева, О.Д. Муштакова,

Л.С. Мартыненко, М.П. Бакай, Ю.С. Руженкова, Е.В. Карягина, О.С. Успенская, И.С. Зюзгин, С.С. Бессмельцев, А.В. Чечеткин, И.С. Мартынкевич // Вестник гематологии. - 2021. – Т. 17, №2. - С. 57-58.

3. Клеина, Е.В. Лимфома из клеток мантийной зоны – генетическая стратификация и особенности клинического течения / Е.В. Клеина, С.В. Волошин, Ю.С. Вокуева, О.Д. Муштакова, Л.С. Мартыненко, М.П. Бакай, Ю.С. Руженкова, С.Ю. Линников, Е.В. Карягина, О.С. Успенская, И.С. Зюзгин, С.С. Бессмельцев, С.В. Сидоркевич, И.С. Мартынкевич // Вестник гематологии. - 2021. – Т. 17, №4. – С. 48.

4. Kleina, E.V. Prognostic role of genetic abnormalities in mantle cell lymphoma / E. Kleina, S. Voloshin, Ju. Vokueva, O. Petukhova, L. Martynenko, M. Bakai, Ju. Ruzhenkova, S. Linnikov, E. Kariagina, O. Uspenskaia, I. Ziuzgin, S. Bessmelcev, S. Sidorkevich, I. Martynkevich // HemaSphere. – 2022. – Vol. 6, № S.3. – P. 1003-1004. Doi: 10.1097/01.HS9.0000847320.42217.c4.

5. Клеина, Е.В. Прогностическая роль генетических аберраций при лимфоме из клеток мантии: обзор литературы и собственные данные / Е.В. Клеина, С.В. Волошин, Ю.С. Вокуева, О.Д. Петухова, Е.В. Мотыко, М.П. Бакай, Д.В. Кустова, А.Н. Кириенко, С.Ю. Линников, Е.В. Карягина, О.С. Успенская, И.С. Зюзгин, С.В. Сидоркевич, И.С. Мартынкевич // Клиническая онкогематология. - 2023. – Т. 16, №2. - С. 213-226. Doi: 10.21320/2500-2139-2023-16-2-213-226.

6. Клеина, Е.В. Прогностическая роль генетических аберраций при мантийноклеточной лимфоме / Е.В. Клеина, С.В. Волошин, Н.Ю. Семенова, С.Ю. Линников, Н.Н. Немсцверидзе, М.П. Бакай, А.П. Смирнова, Н.М. Лазарева, Е.В. Карягина, О.С. Успенская, И.С. Зюзгин, С.С. Бессмельцев, С.В. Сидоркевич, И.С. Мартынкевич // Вестник гематологии. - 2023. – Т. 19, №2. – С. 82-83.

7. Клеина, Е.В. Прогностическая роль аберраций гена *MYC* при мантийноклеточной лимфоме / Е.В. Клеина, С.В. Волошин, Н.Ю. Семенова, С.Ю. Линников, Н.Н. Немсцверидзе, М.П. Бакай, А.П. Смирнова, Н.М. Лазарева, Е.В. Карягина, О.С. Успенская, И.С. Зюзгин, С.С. Бессмельцев, С.В. Сидоркевич, И.С. Мартынкевич // Вестник гематологии. - 2023. – Т. 19, №2. - С. 83.

8. Клеина, Е.В. Результаты исследования цитогенетических и молекулярно-генетических особенностей у пациентов с мантийноклеточной лимфомой / Е.В. Клеина, С.В. Волошин, Н.Ю. Семенова, С.Ю. Линников, Н.Н. Немсцверидзе, М.П. Бакай, А.П. Смирнова, Н.М. Лазарева, А.Ю. Кувшинов, Е.В. Карягина, О.С. Успенская, И.С. Зюзгин, С.В. Сидоркевич, И.С. Мартынкевич // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. - 2023. – Т. 9, №3 – С. 239-266. https://doi.org/10.34883/PI.2023.9.3.004.

9. Клеина, Е.В. Роль аберраций гена *MYC*/8q24 в генетической диагностике мантийноклеточной лимфомы / Е.В. Клеина, С.В. Волошин, Н.Ю. Семенова, С.Ю. Линников, Н.Н. Немсцверидзе, М.П. Бакай, А.П. Смирнова, Н.М. Лазарева, Е.В. Карягина, О.С. Успенская, И.С. Зюзгин, С.С. Бессмельцев, С.В. Сидоркевич, И.С. Мартынкевич // Medline.ru – Т. 24, статья 85. – С. 1237-1257.

Список сокращений

БРВ – безрецидивная выживаемость
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
иМКЛ - индолентные клинические формы МКЛ
КК – комплексные изменения кариотипа
КМ – костный мозг
ЛДГ – лактатдегидрогеназа
МКЛ – мантийноклеточная лимфома
Моносомия - наличие одной из пары гомологичных хромосом
НК – нормальный кариотип
ОВ – общая выживаемость
ПК – периферическая кровь
СЦИ - стандартное цитогенетическое исследование
add - добавление хромосомного материала неизвестного происхождения
amp – амплификация (наличие дополнительных копий определенного участка ДНК)
CCND1 – ген циклина D1
del – делеция (потеря хромосомного материала)
der - дериваты хромосом или структурно перестроенные хромосомы
dup – дупликация сегмента хромосомы
ECOG – шкала eastern cooperative oncology group (объединенная восточная онкологическая группа)
FISH - флуоресцентная in situ гибридизация
i - изохромосома (структурно аномальная хромосома из двух идентичных плеч, ориентированных как зеркальное отражение одна другой)
IGH – гены тяжелой цепи иммуноглобулинов
Ki-67 – индекс пролиферативной активности опухоли
LPS+TPA – использование комбинации липополисахарида и 12-тетрадеканоилфорбол-13-ацетат
MIPI - Международный прогностический индекс
MIPI-b – комбинированный биологический Международный прогностический индекс (модификация MIPI)
MIPI-c – упрощенный Международный прогностический индекс (модификация MIPI)
MYC – протоонкоген myelocytomatosis viral homolog
t – хромосомная транслокация (перенос материала с одной хромосомы на другую)
TP53 – ген-супрессор опухолевого роста
Алло-ТГСК — аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
БПВ — беспрогрессивная выживаемость