

*На правах рукописи*

**МИХАЛЕВА МАРИЯ АНДРЕЕВНА**

**ДИАГНОСТИКА И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТЕЧЕНИЯ  
ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЦИТАРНОГО ЛЕЙКОЗА С УЧЕТОМ  
РЕЗУЛЬТАТОВ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО  
СЕКВЕНИРОВАНИЯ**

3.1.28. Гематология и переливание крови

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2025

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

**Научный руководитель:**

**Сидоркевич Сергей Владимирович** – доктор медицинских наук

**Официальные оппоненты:**

**Рукавицын Олег Анатольевич** – доктор медицинских наук, профессор, начальник гематологического центра Федерального государственного бюджетного учреждения «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации, главный гематолог Министерства обороны Российской Федерации

**Моисеев Иван Сергеевич** – доктор медицинских наук, доцент, заместитель директора по научной работе «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 имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии с курсом детской онкологии факультета послевузовского образования имени профессора Б.В. Афанасьева

**Ведущая организация:**

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

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 года в \_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 68.1.007.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «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 библиотеке и на сайте ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России ( [www.bloodscience.ru](http://www.bloodscience.ru)).

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 года.

Ученый секретарь диссертационного совета 68.1.007.01

доктор медицинских наук

Глазанова Татьяна Валентиновна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) является одним из наиболее распространенных видов гемопоэтических опухолей, встречающийся преимущественно у лиц пожилого возраста. Заболевание имеет отчетливую связь с возрастом, полом, расой, национальными особенностями, содержит наследственный фактор распространения [Hallek M. et al., 2021; Miranda-Filho A. et al., 2018; Siegel R.L. et al., 2023; Каприн А.Д. и др., 2024].

Согласно критериям международной рабочей группы 2018 (International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia, iwCLL) ХЛЛ определяется как злокачественное лимфопролиферативное заболевание из малых В-лимфоцитов в количестве не менее  $5 \times 10^9/\text{л}$  в крови и экспрессирующих CD5, CD19, CD20 и CD23 [Hallek M. et al., 2018]. Клинические проявления и течение ХЛЛ крайне гетерогенны: от бессимптомного, не требующего лечения, до агрессивного, демонстрирующего резистентность к терапии, с фульминантным течением и значимым ухудшением показателей выживаемости [Hallek M. et al., 2021].

Развитие и практическое применение знаний о клинической гетерогенности, являющейся отражением молекулярного разнообразия опухолевого клона [Михалева М.А. и др., 2025], служит ключевой целью изучения ХЛЛ. Современные подходы к пониманию и диагностике ХЛЛ требуют использования передовых методов исследования, которые позволяют более достоверно определять генетические и молекулярные особенности заболевания.

Классические исследования генома: цитогенетика, флюоресцентная *in-situ* гибридизация (fluorescent *in-situ* hybridization, FISH) и полимеразная цепная реакция (ПЦР) позволили установить роль генетических изменений в патогенезе ХЛЛ. Результаты данных исследований используются при стратификации пациентов на группы риска.

Оценка мутационного статуса гена варибельного региона тяжелой цепи иммуноглобулинов (immunoglobulin heavy-chain variable region, *IGHV*) [Hamblin T.J. et al., 1999; Damle R.N., et al. 1999; Ghia P. et al., 2007; Agathangelidis A. et al., 2022] и наличия четырех основных цитогенетических aberrаций (делеции длинного плеча 13 хромосомы – del(13q), трисомии 12 хромосомы – (+12), делеции длинного плеча 11 хромосомы – del(11q) и делеции короткого плеча 17 хромосомы – del(17p)) [Döhner H. et al., 2000] позволяет сформировать прогностические группы, в которых различная природа опухолевых клонов генетически детерминирует течение заболевания.

Тем не менее, прогноз заболевания, построенный на положениях классических методов исследования генома и правильно выбранной терапевтической тактики, не всегда коррелирует с течением болезни. Внедрение в рутинную клиническую практику таргетных препаратов предусматривает идентификацию генетических нарушений у данной группы пациентов, с использованием методов молекулярной биологии.

Методы исследования генома за последние десятилетия претерпели существенные изменения: от анализа хромосомных aberrаций до секвенирования ДНК/РНК отдельных клеток (single-cell DNA/RNA-sequencing), что позволило расширить знания о клеточном происхождении ХЛЛ, его микроокружении и молекулярных изменениях. Одним из перспективных направлений среди современных диагностических методов стало секвенирование нового поколения (next-generation sequencing, NGS). Технология NGS обеспечивает анализ генетического профиля с точностью до одного нуклеотида, не теряя преимуществ по времени и стоимости получения результатов.

Первые крупные исследования с применением полноэкзомного (whole-exome sequencing, WES) и полногеномного (whole-genome sequencing, WGS) секвенирования позволили создать подробную молекулярную карту ХЛЛ и установить роль сигнальных клеточных путей в патогенезе и прогнозе заболевания [Puente X.S. et al., 2011, 2015; Quesada V. et al., 2011; Wang L. et al., 2011; Fabbri G. et al., 2011; Landau D.A. et al., 2013, 2014, 2015; Ljungström V. et al., 2016].

Исследования последних пяти лет, проводимые на больших когортах пациентов, позволили идентифицировать ранее не описанные гены-драйверы и установить, что у подавляющего числа больных ХЛЛ (> 96%) выявляется как минимум одна мутация [Knisbacher V.A. et al., 2022]. Генетические aberrации, определяемые с частотой > 10%, встречаются лишь в ограниченном количестве генов (например, *ATM*, *NOTCH1*, *SF3B1*, *TP53*). Тогда как преобладающая часть мутаций определяется в более чем 100 генах с очень низким процентным соотношением (1–5% случаев), что подтверждает генетическую гетерогенность ХЛЛ и наличие опухолевых субклонов [Mollstedt J. et al., 2023].

Дизайн, создание и внедрение диагностических NGS панелей открывает возможности для разработки новых исследовательских алгоритмов, совершенствования прогнозирования течения заболевания и оптимизации терапевтических стратегий. В итоге это способствует улучшению результатов лечения больных с ХЛЛ, повышению качества их жизни и снижению затрат на лечение. Проведение комплексных исследований, направленных на изучение молекулярно-генетических основ ХЛЛ с использованием NGS, своевременно и имеет важное значение в Российской Федерации.

#### **Степень разработанности темы**

В настоящее время опубликовано множество работ, посвященных изучению молекулярно-генетических нарушений при ХЛЛ [Hallek M. et al., 2010, 2021; Hamblin T.J. et al., 1999; Damle R.N., et al. 1999; Ghia P. et al., 2007; Agathangelidis A. et al., 2022; Döhner H. et al., 2000; Puente X.S. et al., 2011, 2015; Quesada V. et al., 2011; Wang L. et al., 2011; Fabbri G. et al., 2011; Landau D.A. et al., 2013, 2014, 2015; Ljungström V. et al., 2016; Knisbacher V.A. et al., 2022; Mollstedt J. et al., 2023; Juliusson G. et al., 1990; Puiggros A. et al., 2014; Jeromin S. et al., 2014; Larrayoz M. et al., 2017; Brown J.R. et al., 2012; Zenz T. et al., 2010; Lampson B.L. et al., 2023; Zenz T. et al., 2010; Seiffert M. et al., 2012; Yu L. et al., 2017; Mikhaleva M. et al., 2023; Rigolin G.M. et al., 2012; Baliakas P. et al., 2014; Cavallari M. et al., 2018; Jaglowski S.M. et al., 2012; Baliakas P. et al., 2019, 2022; Santos Azevedo R. et al., 2024; Бидерман Б.В. и др., 2012, 2023; Rosenquist R. et al., 2017; Mansouri L. et al., 2023]. Установлены ключевые генетические маркеры (немутированный *IGHV*, *del(17p)*, *del(11q)*, *TP53*, *ATM*, *NOTCH1*, *SF3B1*), ассоциированные с агрессивным течением заболевания, резистентностью к терапии и неблагоприятным прогнозом. Разработаны прогностические системы [Kreuzberger N. et al., 2020], применяемые как в рутинной практике, так и в клинических исследованиях: международный прогностический индекс ХЛЛ (international prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukemia, CLL-IPI) [International CLL-IPI Working Group, 2016], прогностические индексы консорциума Барселона-Брно (Barcelona-Bрно score) [Delgado J. et al., 2017] и онкологического центра MD Андерсона (MD Anderson Cancer Center prognostic index, MDACC2007) [Wierda W.G. et al., 2007].

Секвенирование нового поколения идентифицировало рекуррентные мутации в генах *BIRC3*, *RPS15*, *XPO1*, *MYD88*, *SAMHD1*, *POT1* и *FBXW7*, а также установило их прогностическую роль. Несмотря на существенный прогресс в расшифровке геномного ландшафта ХЛЛ, ряд вопросов остается недостаточно изученными. Комплексное влияние сочетанных мутаций на фенотип заболевания, включая формирование резистентности к таргетной терапии, требует углубленного анализа синергетических эффектов генетических aberrаций как между собой, так и с другими клинико-лабораторными параметрами.

Выявление соматических мутаций в генах миелоидной направленности (например, *DNMT3A*, *TET2* и *ASXL1*) у больных ХЛЛ влечет за собой необходимость изучения феномена клонального гемопоэза (КГ), а именно клонального гемопоэза неопределенного потенциала (clonal hematopoiesis of indeterminate potential, CHIP). A. Vijenthira et al. исследовали распространенность миелоидного CHIP (М-CHIP) у больных ХЛЛ, которая составила 12% для пациентов не получавших терапию и 24% для ранее леченых больных. Наличие  $\geq 2$  мутаций в генах М-CHIP ассоциировалось с сокращением общей выживаемости (ОВ), но не влияло на показатель времени до начала первой линии терапии (ВТ1) [Vijenthira A. et al., 2024]. Результаты демонстрируют необходимость дальнейшего изучения роли М-CHIP мутаций в прогнозе ХЛЛ, особенно в контексте персонализированной терапии.

Актуальной задачей является определение роли отдельных мутаций в качестве независимых прогностических маркеров ВТ1, ОВ и выживаемости без прогрессии (ВБП), а также ответа на противоопухолевую терапию. Интеграция таргетного секвенирования в стандартные алгоритмы диагностики и мониторинга заболевания позволит своевременно выявлять клональную эволюцию опухоли и адаптировать терапевтические стратегии. Необходимость преодоления этих ограничений стала основой для определения цели и задач настоящего исследования.

#### **Цель исследования**

Установить распространенность и прогностическую роль мутаций в генах, идентифицированных методом NGS, у пациентов с хроническим лимфоцитарным лейкозом.

#### **Задачи исследования**

1. Определить панель генов, вовлеченных в ключевые сигнальные клеточные пути хронического лимфоцитарного лейкоза, и установить ее диагностическую значимость.
2. Создать алгоритм интерпретации результатов таргетного NGS для пациентов с хроническим лимфоцитарным лейкозом.
3. Исследовать мутационный статус генов у больных хроническим лимфоцитарным лейкозом и изучить взаимосвязи встречаемых мутаций в генах с клиническими параметрами и стандартными прогностическими факторами.
4. Оценить влияние отдельных генетических мутаций на клиническое течение хронического лимфоцитарного лейкоза, включая ВТ1, ОВ и ВБП.
5. Определить частоту встречаемости и прогностическую роль мутаций в M-SNP генах у больных хроническим лимфоцитарным лейкозом.

#### **Научная новизна**

В рамках настоящего исследования разработана кастомная диагностическая панель для высокопроизводительного секвенирования на базе Научно-исследовательского Центра клеточной и молекулярной патологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, которая предназначена для работы на платформе NextSeq (Illumina, США).

Впервые создан алгоритм интерпретации результатов NGS, представляющий собой эффективное решение для предварительной фильтрации и аннотации вариантов нуклеотидных последовательностей. Алгоритм позволяет выделять соматические варианты мутаций в условиях отсутствия возможности секвенирования герминальной ДНК.

Впервые в РФ проведено комплексное исследование геномного профиля больных ХЛЛ методом NGS. Изучена взаимосвязь выявленных мутаций с клинико-биологическими характеристиками заболевания и оценено их прогностическое значение. Минорные опухолевые клоны (субклоны) являются независимыми биомаркерами сокращения показателя беспрогрессивной выживаемости больных ХЛЛ.

Впервые исследована опухолевая мутационная нагрузка у больных ХЛЛ и доказана ее роль в качестве неблагоприятного предиктора сокращения времени до начала противоопухолевой терапии первой линии больных ХЛЛ.

Впервые проведен анализ мутаций в генах M-SNP в исследуемой выборке и показано, что мутации в генах M-SNP ассоциированы с неблагоприятными прогностическими маркерами ХЛЛ.

#### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Оценена распространенность мутаций в генах когорты больных ХЛЛ методом NGS. Результаты проведенного исследования дополняют имеющиеся данные о частоте и спектре мутаций в генах ХЛЛ, а также их прогностической значимости. Полученные данные могут быть использованы для дополнения протоколов диагностики и алгоритмов лечения, что позволит использовать комбинации лекарственных препаратов для воздействия на молекулярные мишени опухоли. Разработана и внедрена таргетная NGS панель для диагностики молекулярно-генетических нарушений при злокачественных заболеваниях системы крови в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России. Продемонстрирована актуальность

применения NGS для персонифицированного подхода к диагностике ХЛЛ, что способствует более точной стратификации пациентов по группам риска и более обоснованному выбору тактики ведения пациентов.

#### **Методология и методы исследования**

Методологическую основу диссертационного исследования составляют общенаучные принципы познания: анализ, синтез, сравнение, обобщение. Методология базируется на системном подходе, интегрирующем современные представления об этиологии, патогенезе, диагностике и терапии ХЛЛ. В работе использованы клинические, лабораторные и статистические методы исследования.

#### **Положения выносимые на защиту**

1. Апробация таргетной NGS панели, охватывающей ключевые гены, ассоциированные с патогенезом ХЛЛ, подтвердила ее клиническую валидность с высоким пределом детекции соматических мутаций.

2. Разработанный алгоритм интерпретации результатов таргетного NGS позволяет фильтровать и аннотировать варианты нуклеотидной последовательности в условиях отсутствия возможности попарного секвенирования герминальной ДНК, способствуя тем самым выделению соматических мутаций.

3. Мутационный ландшафт больных ХЛЛ является комплексным, о чем свидетельствует выявление пула наиболее часто мутированных генов (*NOTCH1*, *SF3B1*, *XPO1*, *ATM*, *TP53* и *EP300*), субклональных соматических мутаций (*NSD2*, *SMC1A*, *DEK*, *KRAS* и *KMT2C*), доминирующих сигнальных клеточных путей (модификации хроматина, контроля клеточного цикла и повреждения ДНК, RTK/RAS и регуляции транскрипции) и определение взаимосвязей мутаций в генах с клинико-биологическими характеристиками заболевания.

4. Немутированный *IGHV*, мутированный *IKZF3* и высокая опухолевая мутационная нагрузка являются неблагоприятными биомаркерами сокращения времени до инициации противоопухолевой терапии первой линии. Биомаркерами, ухудшающими показатель ВБП у пациентов с ХЛЛ, ранее не получавших терапию, был мутированный ген *BCR*, а у пациентов с рецидивным/рефрактерным течением заболевания – мутации в гене *IKZF3* и присутствие субклональных драйверных мутаций.

5. Мутации в генах М-СНIP встречаются у больных ХЛЛ значительно чаще по сравнению с общей популяцией. Пациентам с  $\geq 2$  мутациями в генах М-СНIP или мутированным *ASXL1* противоопухолевая терапия первой линии инициирована в более ранние сроки.

#### **Степень достоверности и апробации результатов**

Достоверность результатов настоящего исследования определяется репрезентативным объемом выборки пациентов, современными методами научного исследования, обработки и анализа данных. Выводы диссертации обоснованы и логически вытекают из полученных результатов. Основные теоретические и практические положения диссертационной работы представлены в виде устных и постерных докладов на научных конференциях всероссийского и международного уровня: научно-практическая конференция молодых ученых «Актуальные проблемы клинической гематологии» (2019 г., Санкт-Петербург), IV научно-практическая конференция «Актуальные вопросы высокотехнологичной помощи в терапии» (2020 г., Санкт-Петербург), VI всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Генетика опухолей кроветворной системы – от диагностики к терапии» (2021 г., Санкт-Петербург), объединенный VI Конгресс гематологов России и III Конгресс трансфузиологов России (2022 г., Москва), XX International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia (2023 г., Бостон), Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology (2023 г., Токио), 65<sup>th</sup> ASH Annual Meeting (2023 г., Сан-Диего), EHA2024 Hybrid Congress (2024 г., Мадрид), 66<sup>th</sup> ASH Annual Meeting (2024 г., Сан-Диего), VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Генетика опухолей кроветворной системы – от диагностики к

терапии» (2025 г., Санкт-Петербург), ЕНА2025 Congress (2025 г., Милан), XI Петербургский международный онкологический форум «Белые ночи 2025» (2025 г., Санкт-Петербург).

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 10 статей, из них 7 – в журналах, входящих в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для публикации результатов диссертационных исследований. Опубликовано 16 тезисов, из них 13 – в зарубежной печати. Получено свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2025620793 от 19.06.2025.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови. Результаты проведенной научно-практической работы соответствуют области исследования специальности 3.1.28. Гематология и переливание крови, а именно: п. 3, п. 4 и п. 13.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты исследования внедрены в научно-исследовательскую работу Центра клеточной и молекулярной патологии, Научно-исследовательского отдела гематологии и трансфузиологии, а также в практическую работу клинических подразделений ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России.

### **Личный вклад автора**

Личное участие автора в получении научных результатов, излагаемых в диссертационном исследовании, осуществлялось на всех этапах работы: дизайн исследования; подбор и анализ доступных российских и международных литературных источников; определение генов, вовлеченных в ключевые сигнальные клеточные пути ХЛЛ, и рекомендации для их включения в кастомную панель для высокопроизводительного секвенирования; оценка результатов таргетного NGS; сбор и анализ ретроспективных/проспективных данных; проектирование и оптимизация структуры электронной базы данных с последующим ее наполнением; статистическая обработка и анализ данных; обобщение и оформление результатов исследования; формулировка выводов и подготовка материалов к публикациям, устным и постерным докладам.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 162 страницах машинописного текста. Квалификационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка литературы (254 источника: 243 – зарубежных и 11 – отечественных). Работа иллюстрирована 34 рисунками и 23 таблицами.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

#### **Характеристика исследуемой когорты**

В ретроспективно-проспективное исследование включено 74 пациента с В-клеточным ХЛЛ, наблюдавшихся в период с 2006 по 2025 гг. в клинике ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России, которым выполнено таргетное NGS. Критерии включения пациентов в исследование: 1. диагноз ХЛЛ с типичным иммунофенотипом, установленный согласно критериям iwCLL [Hallek M. et al., 2018]; 2. пациенты старше 18 лет; 3. доступность клинико-лабораторных данных для анализа; 4. доступность биологического материала для выполнения NGS.

Структура выборки: 50 ранее нелеченых пациентов (67,6%), которым NGS выполнено до начала первой линии терапии (Т1) (группа 1) и 24 пациента (32,4%) с

рецидивным/рефрактерным (P/P) течением заболевания, которым NGS выполнено до начала последующей ( $\geq 2$ ) линии терапии (группа 2).

На момент верификации диагноза медиана возраста больных составила 61 год (диапазон 26–82) с гендерным разделением 50 мужчин (67,6%) и 24 женщины (32,4%). Распределение основных изучаемых клинико-лабораторных параметров было следующим: стадия по К. Rai I-IV – 94,6%, высокая экспрессия CD38+ – 32,4%, немутированный *IGHV* – 67,6%, del(11q) – 21,6%, del(13q) – 48,6%, del(17p) – 20,3%, (+12) – 8,1%, комплексный кариотип (КК)  $\geq 3$  аномалий (КК 3+) – 5,4%. Медиана времени наблюдения за когортой с момента верификации диагноза составила 5,8 лет (диапазон 1 мес.–15,7 лет), а с момента выполнения NGS составила 3,1 года (диапазон 1 мес.–5,2 года).

Терапия первой линии (Т1) проведена 70 пациентам (94,6%), из которых 57 пациентов (81,4%) получили Т1 в режиме иммунохимиотерапии, а таргетными препаратами в монорежиме или в режиме комбинаций – 13 пациентов (18,6%). Четыре пациента (15,4%) оставались под динамическим наблюдением ввиду отсутствия критериальных показаний к инициации Т1. Терапия второй линии (Т2) проведена 27 пациентам (36,5%). Наиболее часто в Т2 использовались таргетные препараты в монорежиме или в режиме комбинаций – 15 (55,0%). Медиана линий терапии равнялась 1 (максимум 6).

Частота объективного ответа на Т1 составила 82,9% (95% доверительный интервал (ДИ): 73,8–91,9). Полная ремиссия (ПР) достигнута у 22,9% пациентов, частичная ремиссия (ЧР) – у 60,0%. Стабилизация заболевания (отсутствие критериев для ПР, ЧР или прогрессирования заболевания (ПЗ)) отмечалась у 15,7% пациентов. Частота ПЗ составила 40,0% ( $n = 28$ ). Медиана времени до ПЗ – 28 мес. (25 и 75 процентиля: 16; 54).

#### Молекулярно-генетические методы исследования

Цитогенетический анализ осуществлен по стандартной GTG методике с последующим анализом не менее 20 метафазных пластин. Интерпретация патологии кариотипа проведена в соответствии с Международной системой цитогеномной номенклатуры человека (The International System for Human Cytogenomic Nomenclature, ISCN, 2021) [Liehr, T. et al, 2021].

FISH-исследование выполнено на суспензии клеток, приготовленной для стандартного кариотипирования или мазках крови на предметном стекле. Использована стандартная панель локус-специфичных зондов – набор XL CLL Probe Kit (XL DLEU/LAMP/12cen+XL ATM/TP53) Deletion Probe (MetaSystems, Германия). Проанализировано не менее 200 интерфазных ядер для каждого зонда. Результаты FISH-исследования интерпретированы согласно ISCN (2021) [Liehr, T. et al, 2021] и классифицированы соответственно иерархической модели Döhner [Döhner H. et al., 2000].

Исследование *IGHV* проводилось методом прямого секвенирования по Сэнгеру. Мутационный статус определялся по степени гомологии к герминальному гену: «мутированный *IGHV* (M-*IGHV*)» – число мутаций в амплифицированной нуклеотидной последовательности гена *IGHV*  $\geq 2\%$  в секвенированной V-области клональной реаранжировки, «немутированный *IGHV* (UM-*IGHV*)» – число мутаций в амплифицированной нуклеотидной последовательности гена *IGHV*  $< 2\%$ .

Таргетное секвенирование нового поколения выполнено с использованием кастомной NGS панели генов ( $n = 117$ ), участвующих в основных сигнальных клеточных путях ХЛЛ (Таблица 1). Анализ нуклеотидных последовательностей выполнен на платформе NextSeq (Illumina, США) методом парно-концевого чтения с длиной 150 пар оснований (п.о.). Средняя глубина прочтения 1000x. При анализе полученных данных применен порог частоты вариантного аллеля (variant allele frequency, VAF) в 2%. Варианты нуклеотидной последовательности ( $n = 1718$ ) предварительно идентифицированы Центром клеточной и молекулярной патологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России и включены в отчет о секвенировании рецензирующим врачом-генетиком как варианты 1. неопределенного значения ( $n = 251$ ); 2. вероятно доброкачественные ( $n = 919$ ); 3. доброкачественные ( $n = 462$ ); 4. вероятно патогенные ( $n = 42$ ); 5. патогенные ( $n = 44$ ).

Таблица 1 – Таргетная NGS панель

<i>ABL1</i>	<i>BCR</i>	<i>CDKN2A</i>	<i>ETV6</i>	<i>ID3</i>	<i>KLF2</i>	<i>NF1</i>	<i>PTCH1</i>	<i>SETBP1</i>	<i>SYK</i>
<i>AKT3</i>	<i>BIRC3</i>	<i>CDX2</i>	<i>EZH2</i>	<i>IDH1</i>	<i>KMT2A</i>	<i>NOTCH1</i>	<i>PTEN</i>	<i>SF3B1</i>	<i>TET2</i>
<i>ALK</i>	<i>BRAF</i>	<i>CEBPA</i>	<i>FAT1</i>	<i>IDH2</i>	<i>KMT2C</i>	<i>NOTCH2</i>	<i>PTPN11</i>	<i>SH2B3</i>	<i>TENT5C</i>
<i>APC</i>	<i>BRCA1</i>	<i>CIITA</i>	<i>FBXW7</i>	<i>IKZF1</i>	<i>KMT2D</i>	<i>NPM1</i>	<i>PTPRD</i>	<i>SMARCA4</i>	<i>TNFAIP3</i>
<i>ARID1A</i>	<i>BRCA2</i>	<i>CREBBP</i>	<i>FLT3</i>	<i>IKZF3</i>	<i>KRAS</i>	<i>NRAS</i>	<i>RAD21</i>	<i>SMC1A</i>	<i>TP53</i>
<i>ASXL1</i>	<i>BTK</i>	<i>CSF3R</i>	<i>GATA1</i>	<i>IRF4</i>	<i>MAP2K1</i>	<i>NSD2</i>	<i>RB1</i>	<i>SMC3</i>	<i>U2AF1</i>
<i>ATM</i>	<i>CALR</i>	<i>CUX1</i>	<i>GATA2</i>	<i>ITPKB</i>	<i>MEF2B</i>	<i>PHF6</i>	<i>RHOA</i>	<i>SOCS1</i>	<i>WT1</i>
<i>ATRX</i>	<i>CARD11</i>	<i>DDX3X</i>	<i>GNA13</i>	<i>JAK2</i>	<i>MGA</i>	<i>PIK3CB</i>	<i>RPS15</i>	<i>SRSF2</i>	<i>XPO1</i>
<i>B2M</i>	<i>CBL</i>	<i>DEK</i>	<i>GNAS</i>	<i>JAK3</i>	<i>MPL</i>	<i>PIM1</i>	<i>RUNX1</i>	<i>STAG2</i>	<i>ZRSR2</i>
<i>BCL2</i>	<i>CCND1</i>	<i>DIS3</i>	<i>H1-1</i>	<i>KDM6A</i>	<i>MSN</i>	<i>PLCG2</i>	<i>RYR1</i>	<i>STAT3</i>	
<i>BCOR</i>	<i>CD58</i>	<i>DNMT3A</i>	<i>HCK</i>	<i>KDR</i>	<i>MYC</i>	<i>POT1</i>	<i>SAMHD1</i>	<i>STAT6</i>	
<i>BCORL1</i>	<i>CD79B</i>	<i>EP300</i>	<i>HRAS</i>	<i>KIT</i>	<i>MYD88</i>	<i>PRDM1</i>	<i>PDGFRA</i>	<i>SUZ12</i>	

### Авторский алгоритм оценки вариантов

Поскольку анализ герминальной ДНК не проводился, то с целью исключения потенциальных наследственных вариантов и фокусирования на соматических мутациях разработан алгоритм (Рисунок 1), позволяющий отфильтровать и ранжировать варианты для последующего статистического анализа.

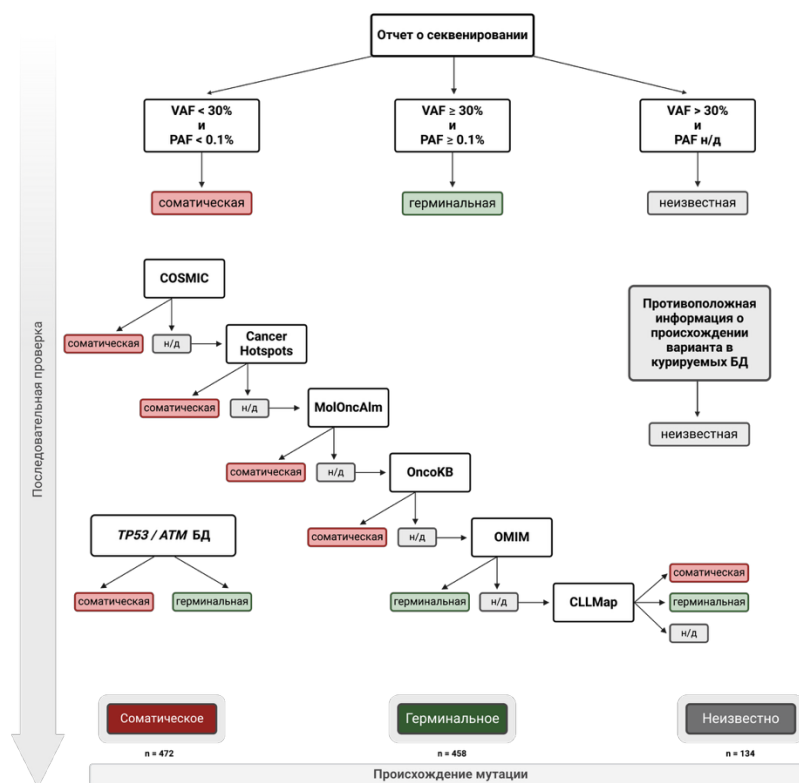


Рисунок 1 – Процесс аннотации мутаций

Примечания: н/д – нет данных; VAF – частота вариантного аллеля; PAF – частота аллеля в популяции.

Подготовительным этапом к аннотации вариантов стало исключение «молчащих» (*silent*) мутаций ( $n = 654$ ). Далее, варианты ранжированы на: соматические, герминальные или неизвестного значения, с использованием баз данных с открытым исходным кодом и опубликованной литературы. Данные VAF собраны из отчетов о секвенировании, установлен пороговый уровень 30%. Данные о частоте аллелей в популяции (*population allele frequency*, PAF) составлены из базы данных агрегации генома (*gnomAD*) или Консорциума агрегации экзома (*ExAc*), пороговый уровень – 0,1%.

Варианты аннотированы соматическими (выделены красным на Рисунке 1) в соответствии с 1. VAF < 30% или  $\geq 30\%$  и PAF < 0,1%; и/или 2. перечисленными в COSMIC

и/или CancerHotspots и/или The Molecular Oncology Almanac и/или OncoKB и/или OMIM и/или базами данных *TP53/ATM* и/или CLL map. Мутации ранжированы как герминальные (выделены зеленым на Рисунке 1), если 1. VAF  $\geq$  30% и PAF  $\geq$  0,1%; и/или 2. определены как герминальные в OMIM и/или базах данных *TP53/ATM* (если применимо); и/или 3. не указаны в COSMIC, CancerHotspot, OncoKB или The Molecular Oncology Almanac. Варианты аннотированы как неизвестные (выделены серым на Рисунке 1) в случаях, когда 1. VAF  $\geq$  30%, но данные о PAF отсутствовали в базах данных gnomAD и/или ExAc; и/или 2. не указано или противоположная информация о происхождении варианта в курируемых базах данных. Таким образом, варианты (n = 1064) отсортированы с использованием описанного выше алгоритма на соматические (n = 472), герминальные (n = 458) и неизвестные (n = 134). В последующий статистический анализ включены негерминальные варианты нуклеотидных последовательностей (n = 606).

Для анализа мутаций в генах М-CHIP использован опубликованный список 56 генов-кандидатов миелоидного гемопоэза [Niroula A. et al., 2021] с применением алгоритма [Vijenthira A. et al., 2024], исключаящего гены, наиболее часто мутирующие именно при ХЛЛ (*SF3B1*, *TP53*, *BRAF*, *KRAS*, *BCOR* и *NRAS*). Сформирован итоговый список генов-кандидатов (n = 38) для М-CHIP.

### Статистическая обработка данных

Данные, полученные в ходе диссертационной работы, проанализированы с использованием методов, рекомендованных для медико-биологических исследований. Для сравнения количественных переменных использованы при нормальном распределении – t-критерий Стьюдента, а для ненормального распределения – U-критерий Манна-Уитни и H-критерий Краскела-Уоллиса. Для сравнения категориальных переменных использованы двусторонние  $\chi^2$ -Пирсона и точный критерий Фишера. В качестве первичной конечной точки оценена ОВ (время от даты верификации диагноза до даты смерти от любой причины). При анализе влияния мутаций в генах на ОВ, определена ОВ-NGS (время от даты NGS тестирования до даты смерти от любой причины). В качестве вторичных конечных точек оценены: ВТ1 (время от даты постановки диагноза до даты начала первой линии терапии) и ВБП (время от даты начала терапии до даты задокументированной прогрессии заболевания или смерти пациента от любой причины, в зависимости от того, что произошло раньше). Анализ выживаемости проведен с использованием метода Каплана-Мейера, различия между группами оценены с помощью лог-ранк теста. Для множественных сравнений значения *p* скорректированы с использованием поправки Бонферрони. Для оценки прогностической значимости факторов использованы однофакторный (ОФ) и многофакторный (МФ) регрессионный анализ Кокса. В МФ модели включены ковариаты с уровнем значимости *p* < 0,2 в ОФ анализе. Анализ совместной встречаемости и взаимной исключительности мутаций проведен у пациентов с наличием  $\geq$  2 мутаций в разных генах, с помощью точного критерия Фишера и поправкой на множественные сравнения. Опухолевая мутационная нагрузка (tumor mutational burden, ТМВ) у пациента определена как количество мутаций на 1 мегабазу (Mb) кодирующей последовательности. М-CHIP проанализирован как бинарный и категориальный ( $\geq$  2 мутаций vs. 1 vs. 0) предиктор. Статистически достоверными считали различия при *p*  $\leq$  0,05. Статистический анализ проведен с использованием программного обеспечения Jamovi (v.2.3.21.0), R (v.4.2.2) и R studio (v.2022.12.0).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### МУТАЦИОННЫЙ ЛАНДШАФТ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЦИТАРНОГО ЛЕЙКОЗА

#### Профиль мутированных генов и активируемые сигнальные клеточные пути

После фильтрации вариантов выявлено 606 негерминальных мутаций у 73 пациентов (98,6%), затрагивающих 87 из 117 генов. Преобладающими типами установлены миссенс (68,6%), сплайс-сайт (22,8%) и нонсенс (5,0%) варианты нуклеотидных

последовательностей. Медиана мутаций, выявленных у одного пациента, составила 7 (диапазон 1–52). Один или два мутированных гена идентифицированы у 6 (8,2%) пациентов, три и четыре – у 8 (10,9%) и 10 (13,7%) больных, соответственно, а  $\geq 5$  мутированных генов – у 43 пациентов (58,9%).

Количество функционально измененных сигнальных клеточных путей равнялось 12. Медиана активированных сигнальных путей составила 5 (25 и 75 процентиля: 4; 6). Наибольшее количество задействованных генов отмечалось в сигнальных путях модификации хроматина – 81%, RTK/RAS – 66%, контроле клеточного цикла и повреждения ДНК – 67%, а также в клеточном пути регуляции транскрипции – 58%.

Наиболее часто мутированными генами с установленным прогностическим значением были: *NOTCH1* – 26,0%, *SF3B1* – 17,8%, *ATM* – 16,2%, *TP53* – 15,1%, *BIRC3* – 5,5% и *MYD88* – 1,4%. Мутации в генах с неустановленной прогностической ролью определялись у пациентов с частотами: *XPO1* – 17,8%, *EP300* – 11,0%, *SYK* – 9,6%, *MAP2K1* – 8,2%, *CREBBP* – 6,8%, *POT1* и *RPS15* – по 5,5%, *FBXW7* и *FAT1* – по 4,1%, *SAMHD1*, *KRAS* и *PTPN11* – по 2,7%.

Медиана VAF большинства (82,8%) выявленных мутаций в генах была  $\geq 10\%$ . Мутации в генах с низким ( $\leq 5\%$ ) медианным уровнем VAF обнаружены в генах *NSD2*, *SMC1A*, *DEK*, *KRAS* и *KMT2C*, что является признаком их субклональности. При межгрупповом сравнении значимое различие отмечено в уровне VAF гена *SF3B1*: 28,7% vs. 4,4% ( $p = 0,0007$ ) (Рисунок 2). Мутации в гене *TP53* разделены по уровню VAF: low-*TP53mut* ( $\leq 10\%$ ) обнаружены у 28,6% пациентов, а high-*TP53mut* ( $> 10\%$ ) – у 71,4%.

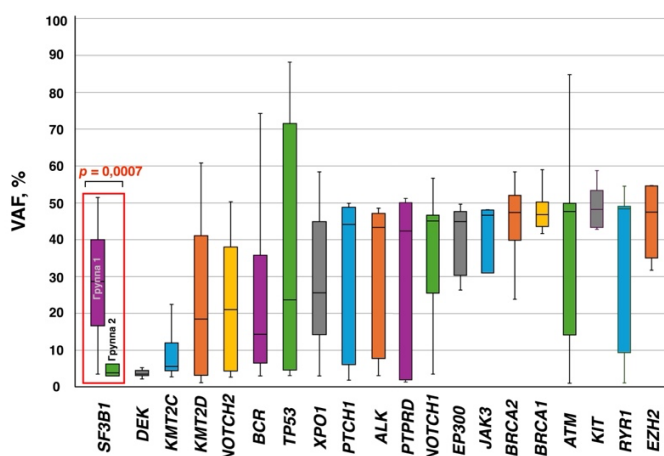


Рисунок 2 – Распределение частот вариантного аллеля (VAF) наиболее ( $\geq 10\%$ ) мутированных генов

Примечание: Гены ранжированы согласно медианному значению VAF.

### Функциональный анализ генов

Анализ обогащения генов (Рисунок 3) выполнен с использованием инструмента g:GOS (платформа g:Profiler) по следующим источникам: онтологии генов (Gene Ontology (GO)) – молекулярные функции, биологические процессы и клеточные компоненты; базы данных сигнальных путей (KEGG, Reactome, WikiPathways); регуляторные мотивы ДНК (TRANSFAC, mirTarBase); базы данных белков (Human Protein Atlas, CORUM) и онтология фенотипов человека (Human Phenotype Ontology). Гены всего генома использованы в качестве фона обогащения.

Исследуемые гены значимо ассоциированы со следующими молекулярными функциями (GO:MF): связывания ДНК ( $p = 1,72E-14$ ), активностью трансфераз ( $p = 8,23E-11$ ), транскрипционными факторы ( $p = 2,88E-10$ ), связывания гистонов ( $p = 0,0049$ ), что в совокупности указывает на изменение эпигенетической регуляции в патогенезе ХЛЛ.

Категории биологических процессов (GO:BP) значимо обогащены исследуемыми генами: кроветворение ( $p = 4,76E-26$ ), организация хромосом ( $p = 9,67E-6$ ), транспорт

между ядром и цитоплазмой ( $p = 0,0021$ ), что отражает нарушение дифференцировки В-лимфоцитов и геномную нестабильность.

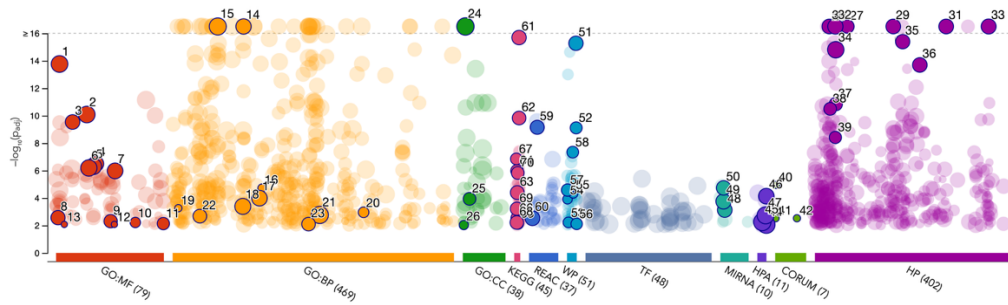


Рисунок 3 – График Manhattan-plot функционального анализа обогащения генов ХЛЛ

Примечания: Ось X представляет функциональные термины, которые сгруппированы и окрашены в соответствии с источниками данных. Расположение терминов на оси X фиксировано и термины из одного поддерева GO находятся ближе друг к другу. Ось Y показывает скорректированные на множественные сравнения  $p$ -значения обогащения в отрицательной логарифмической шкале по основанию 10 [ $-\log_{10}(\text{padj})$ ]. Размеры точек соответствуют размеру термина – более крупные термины представлены большими точками. Все точки представляют  $p \leq 0,01$ . Точки, обозначенные насыщенным цветом, границей черного цвета и числовым идентификатором, являются значимыми. График отображен в «ограниченном» (capped) режиме, который «собирает» точки с  $p$ -значениями меньше [ $-\log_{10}(16)$ ], что фиксирует масштаб оси Y, а также позволяет сгруппировать значения меньше данного порога как высоко значимые.

Клеточные компоненты (GO:CC) с высокой степенью значимости ассоциированные с генами: нуклеоплазма ( $p = 4,37E-19$ ), цитоплазматическая сторона мембраны клетки ( $p = 0,0001$ ), рецепторный комплекс ( $p = 0,0116$ ), что подчеркивает роль сигнальных клеточных путей в патогенезе ХЛЛ.

Наиболее обогащенными сигнальными путями являлись: общие пути при раке ( $p = 2,031E-16$ ), клеточный цикл ( $p = 1,048E-6$ ), резистентность к ингибиторам EGFR тирозинкиназы ( $p = 1,409E-7$ ), ATM сигнальный путь ( $p = 0,0059$ ), MAPK сигнальный путь ( $p = 0,006$ ), регуляция микроРНК при раке ( $p = 1,481E-10$ ), JAK-STAT сигнальный путь ( $p = 1,494E-6$ ).

МикроРНК значимо связанные с генами при ХЛЛ: hsa-miR-21-5p ( $p = 0,00074$ ), hsa-miR-155-5p ( $p = 0,00017$ ), hsa-miR-181a-5p ( $p = 0,000018$ ). Существенное количество генов ассоциировано с комплексами белков: когезин-SA2 ( $p = 0,000011$ ), когезин-SA1 ( $p = 0,0029$ ) и DDX11-RAD21-SMC1A-SMC3 ( $p = 0,0029$ ).

#### Гены миелоидного клонального гемопоэза неопределенного потенциала

В исследуемой когорте у 67% ( $n = 49$ ) пациентов с ХЛЛ мутации выявлены в 74% (28/38) генов М-CHIP. Частота мутаций в генах М-CHIP у пациентов группы 1 составила 70,0% (95% ДИ: 56,8–83,2), что значительно чаще, чем в общей популяции – 5,8% [Niroula A. et al., 2021] ( $p < 0,0001$ ). В то время как у Р/Р пациентов (группа 2), частота М-CHIP – 58,3% (95% ДИ: 37,1–79,6), без значимых различий между группами ( $p = 0,321$ ).

У большинства пациентов идентифицировано  $\geq 2$  М-CHIP мутаций (Рисунок 4 А). Наиболее часто мутированные гены: *KIT* – 24,5%, *EZH2* – 20,4% и по 16,3% – *EP300*, *GNAS* и *CUX1*, без значимых различий между группами (Рисунок 4 Б). У 16% ( $n = 5$ ) выявлено сочетание мутаций в генах *KIT:EZH2* ( $p = 0,0025$ ). Больше всего отмечалось со-возникновение мутаций в парах с геном *EZH2* – *EZH2:CUX1* (13%;  $p = 0,0016$ ), *EZH2:EP300* (10%;  $p = 0,037$ ), *EZH2:IDH1* (10%;  $p = 0,018$ ), *EZH2:ASXL1* (10%;  $p = 0,0069$ ).

Известно, что наличие мутаций в генах М-CHIP ассоциировано с риском развития соматической патологии [Jaiswal S. et al., 2017; Niroula A. et al., 2021]. В исследуемой когорте оценена распространенность ССЗ и миелоидных неоплазий. Частота ССЗ у пациентов с М-CHIP составила 55,1% по сравнению с 41,7% у пациентов без М-CHIP, без различий между группами (отношение рисков (hazard ratio, HR) 0,58; 95% ДИ: 0,21–1,56). Миелоидные новообразования диагностированы у 4% ( $n = 2$ ) пациентов с М-CHIP и у одного пациента

без M-СНIP. Принимая во внимание время наблюдения и рассматривая смерть как конкурирующий риск, разницы в кумулятивной заболеваемости между группами не зафиксировано ( $p = 0,89$ ).

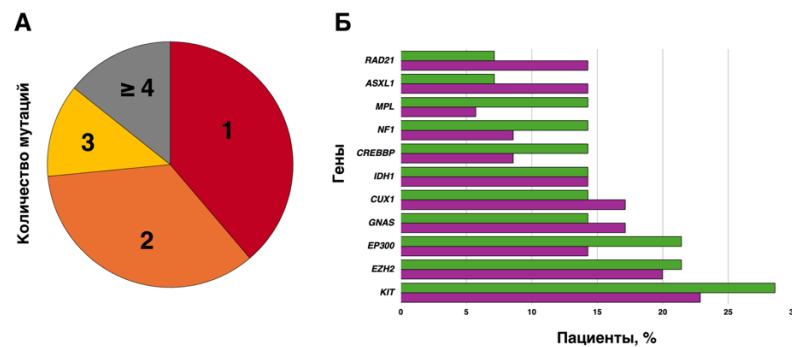


Рисунок 4 – Частота генов M-СНIP в группах пациентов ХЛЛ

### Опухолевая мутационная нагрузка

Длина экзонов генов таргетной панели составила 602917 п.о. (0,603 Mb). В анализ TMB включены пациенты группы 1, где для каждого пациента величина TMB рассчитана по следующей формуле (1):

$$TMB = \frac{(A + B + C + \dots)}{0,603}, \quad (1)$$

где  $(A + B + C + \dots)$  – сумма мутаций в генах каждого пациента, мут.;  
0,603 – длина экзонов исследуемых генов, Mb.

С применением анализа максимально выделенной ранговой статистики установлено пороговое значение TMB равное 13 мут./Mb. Выбранный порог максимизирует статистическую значимость различий между группами при сохранении достаточного объема выборки. Пациенты разделены на две группы: пациенты с низкой TMB (до 12 включительно мут./Mb.) – 74% ( $n = 37$ ) и пациенты с высокой TMB (13 и более мут./Mb.) – 26% ( $n = 13$ ). Обе группы значимо не различались ( $p > 0,1$ ) по полу, возрасту, стадии заболевания и длительности наблюдения с момента выполнения NGS.

### Ассоциация мутаций с клинико-биологическими характеристиками

Ключевые клинико-биологические параметры и мутированные гены отображены на Рисунке 5. В группе 1 мутированные гены *POT1* ( $p = 0,041$ ) и *RPS15* ( $p = 0,041$ ) чаще встречались у пациентов женского, чем мужского пола. Мутированный *NOTCH1* значительно чаще выявлен у больных  $\leq 65$  лет ( $p = 0,04$ ), в то время как *SYK* ( $p = 0,005$ ) – у лиц старше 65 лет. Мутации в гене *BCR* связаны с высоким ( $\geq 20\%$ ) уровнем экспрессии CD38+ ( $p = 0,016$ ), чем с низким.

Наличие M-IGHV варианта ХЛЛ ассоциировано с мутациями в генах *ALK* ( $p = 0,009$ ), *KDR* ( $p = 0,02$ ), *MAP2K1* и *SYK* ( $p = 0,04$ , каждый) (Рисунок 6 А). Поликлональный IGHV значительно чаще определен у пациентов с мутированным *TP53* ( $p = 0,032$ ).

Выявление del(17p) ассоциировано с мутированным геном *BRAF* ( $p = 0,031$ ), а del(11q) – с мутированным геном СПТА ( $p = 0,008$ ). Наличие (+12) преимущественно выявлялось при мутациях в гене *ABL1* ( $p = 0,007$ ). КК 3+ наиболее часто обнаружен при мутациях в гене *BIRC3* ( $p = 0,001$ ). Повышенный уровень опухолевых клеток с del(17p) (медиана 63,8% (25 и 75 перцентили: 27,0;92,8)) ассоциирован с наличием мутаций в гене *TP53* с высоким уровнем VAF, high-TP53mut,  $p = 0,05$ .

Наличие мутаций в генах M-СНIP в группе 1 наиболее часто отмечено у пациентов с M-IGHV – *EP300* ( $p = 0,02$ ), *SETBP1* и *SMCA1* ( $p = 0,004$ , каждый) (Рисунок 6 Б); del(17p) – *CREBBP* ( $p = 0,05$ ); del(11q) – *SMC3* ( $p = 0,037$ ); (+12) – *SETBP1* ( $p = 0,007$ ); КК 3+ – *SMCA1* ( $p = 0,039$ ).

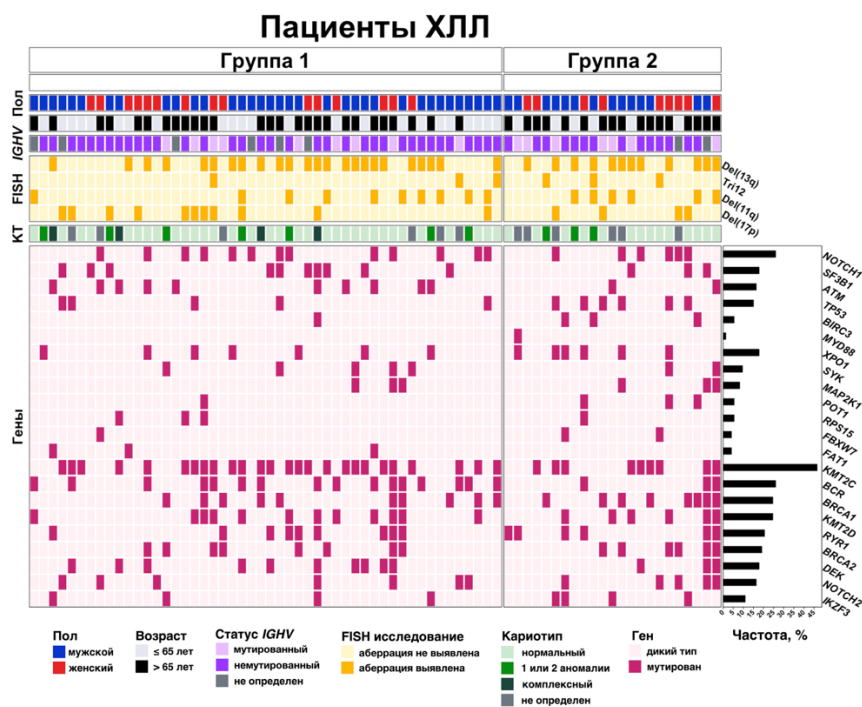


Рисунок 5 – Тепловая карта (heatmap) распространенности клинико-биологических характеристик и мутаций в генах пациентов ХЛЛ (n = 73)

Примечания: del(13q) – делеция длинного плеча 13 хромосомы; del(11q) – делеция длинного плеча 11 хромосомы; del(17p) – делеция короткого плеча 17 хромосомы; Tr12 – трисомия 12 хромосомы; FISH – флюоресцентная in-situ гибридизация; IGHV – варибельные области тяжелых цепей иммуноглобулинов; NGS – секвенирование нового поколения; КТ – кариотип.

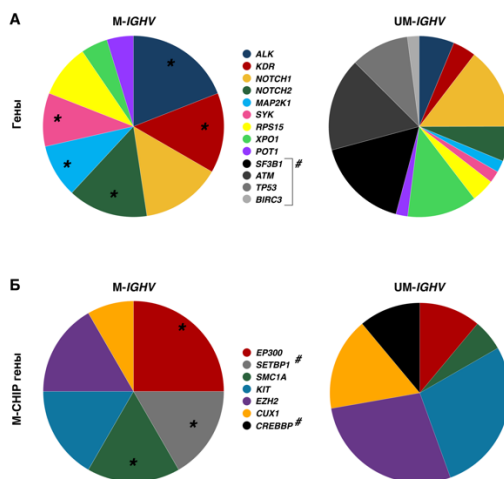


Рисунок 6 – Частота мутированного статуса IGHV у нелеченых пациентов ХЛЛ (группа 1) в зависимости от мутаций в генах

Примечания: M-IGHV – мутированный вариант ХЛЛ; UM-IGHV – немутированный вариант ХЛЛ.  
 \*  $p < 0,05$ ; # отмечены гены, которые встречались исключительно при одном из IGHV вариантов ХЛЛ.

В группе 2 мутированный *ALK* чаще встречался у пациентов женского пола ( $p = 0,021$ ). Мутированные *DEK* ( $p = 0,034$ ) и *PDGFRA* ( $p = 0,012$ ) значительно чаще выявлялись у больных старше 65 лет. Наличие del(11q) статистически значимо связано с мутированным статусом генов *KMT2D* ( $p = 0,001$ ), *KDR* ( $p = 0,013$ ) и *JAK3* ( $p = 0,014$ ). При выявлении (+12) наиболее часто мутировали гены *MEF2B* и *STAT6* ( $p = 0,001$ , каждый).

Наличие мутаций в генах M-CHIP в группе 2 наиболее часто отмечено у пациентов с del(17p) – *SETBP1* и *STAG2* ( $p = 0,026$ , каждый); del(11q) – *EP300* и *GNAS* ( $p = 0,013$ , каждый). Паттерны значимого со-возникновения отображены на Рисунке 7.

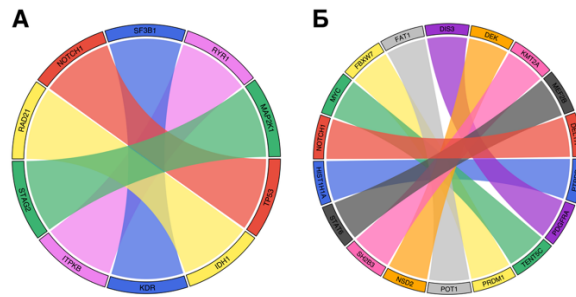


Рисунок 7 – Паттерны со-возникновения генетических аномалий у пациентов ХЛЛ с М-СНIP (А) и без мутаций в генах М-СНIP (Б).

Примечание – Каждая «лента» соединяет два биомаркера, между которыми обнаружено статистически значимое взаимодействие ( $p \leq 0,05$ ) после коррекции на множественные сравнения.

## ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ВЫЯВЛЕННЫХ МУТАЦИЙ

### Время до начала первой линии терапии

Паттерны ВТ1 проанализированы у больных группы 1, которым исследование NGS выполнено до Т1. Медиана ВТ1 составила 2,5 лет (95% ДИ: 1,1–3,4).

Двухлетняя ВТ1 у больных с *del(11q)* составила 80,0% (95% ДИ: 31,9–94,2; медиана 2,8 мес.) по сравнению с 35,0% (95% ДИ: 19,4–49,2; медиана не достигнута) у пациентов без *del(11q)*. При определении высокого уровня экспрессии CD38+ (HR 1,9; 95% ДИ: 1,1–3,7;  $p = 0,05$ ) 2-летняя ВТ1 составила 60,0% (95% ДИ: 25,7–78,5; медиана 1,1 год) по сравнению с 40,6% (95% ДИ: 20,9–55,4; медиана не достигнута) без выявления высокого уровня экспрессии CD38+. Наличие *UM-IGHV* (HR 2,4; 95% ДИ: 1,1–5,8;  $p = 0,05$ ) и множественных дискордантных клонов ( $\geq 2$ ) с мутациями в гене *IGHV* (HR 3,1; 95% ДИ: 1,1–8,6;  $p = 0,03$ ), ВТ1 составила 45,7% (медиана 2,1 год) и 80,0% (медиана 3,8 мес.), соответственно. Двухлетняя ВТ1 при мутированном статусе гена *IKZF3* достигает 75,0% (95% ДИ: 0–95,4; медиана 6,6 мес.) по сравнению с 41,3% (95% ДИ: 25,2–53,9; медиана 2,6 лет) у пациентов с диким типом гена *IKZF3* (HR 2,8; 95% ДИ: 1,1–8,0;  $p = 0,05$ ). Мутации в гене *KRAS* ассоциированы с сокращением медианы ВТ1 до 3,3 мес. по сравнению с медианой равной 2,8 годам при диком типе *KRAS* (HR 3,1; 95% ДИ: 1,1–10,4;  $p = 0,043$ ).

М-СНIP как бинарный предиктор не оказывал значимого влияния на ВТ1 (HR 1,9; 95% ДИ: 0,9–3,7;  $p = 0,07$ ). М-СНIP  $\geq 2$  являлся предиктором укорочения ВТ1 (HR 2,1; 95% ДИ: 1,1–4,4;  $p = 0,05$ ). В отсутствии мутаций в генах М-СНIP медиана ВТ1 составила 3,3 года (95% ДИ: 2,6–NR), при наличии одной мутации – 2,7 лет (95% ДИ: 2,6–NR), а при  $\geq 2$  мутациях в генах М-СНIP – 5,8 мес. (95% ДИ: 0,33–3,92). Примечательно, что сокращение ВТ1 наиболее значимо при наличии 4 мутаций М-СНIP (HR 6,5; 95% ДИ: 1,9–21,9;  $p = 0,003$ ), чем при их отсутствии ( $p = 0,025$ ) (Рисунок 8).

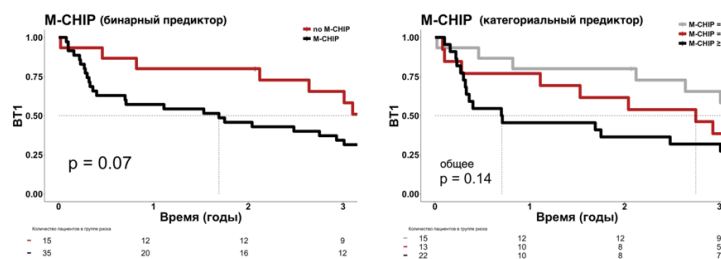


Рисунок 8 – Кривые Каплан-Майера ВТ1 по М-СНIP как бинарному и категориальному предиктору

Примечания: М-СНIP – наличие мутаций М-СНIP; no М-СНIP – отсутствие мутаций М-СНIP.

Во многофакторных (МФ) моделях независимое влияние на ВТ1 оказывали  $\geq 2$  мутаций в генах М-СНIP ( $p = 0,028$ ) и *UM-IGHV* ( $p = 0,027$ ) (Рисунок 9 А) и высокая ТМВ ( $p = 0,004$ ) (Рисунок 9 Б).

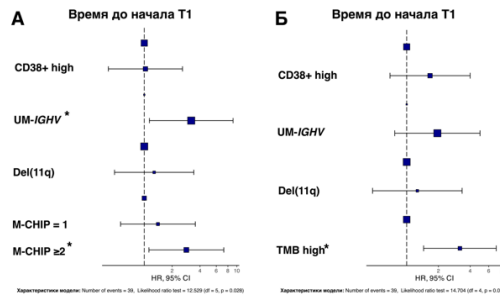


Рисунок 9 – Форест-график регрессионного анализа ВТ1 М-CHIP (А) и ТМВ (Б)

Примечания: М-CHIP – миелоидный клональный гемопоэз неопределенного потенциала; ТМВ – опухолевая мутационная нагрузка; CD38+high – высокий уровень экспрессии CD38; UM-IGHV – немутированный статус *IGHV*; del(11q) – делеция длинного плеча 11 хромосомы; CI – доверительный интервал; HR – отношение рисков; \* –  $p \leq 0,05$ .

Выявление мутаций в генах М-CHIP не влияло на ВТ1 в зависимости от мутационного статуса *IGHV*. При наличии  $\geq 2$  мутаций М-CHIP + М-*IGHV* в течение двух лет 33,3% (95% ДИ: 62,1–100, медиана не достигнута) пациентов начата Т1, а среди пациентов с  $\geq 2$  мутациями М-CHIP + UM-*IGHV* – 75,0% (95% ДИ: 33,4–90,6, медиана 3,2 мес.),  $p = 0,17$ . Однако, у пациентов с UM-*IGHV* наличие высокой ТМВ значимо сокращало ВТ1. В течении двух лет Т1 инициирована 36,0% (95% ДИ: 14,1–52,3, медиана 2,3 мес.) больным ХЛЛ с низкой ТМВ + UM-*IGHV* по сравнению с 70,0% (95% ДИ: 22,7–88,4, медиана 2,7 лет) пациентов с высокой ТМВ + UM-*IGHV*,  $p = 0,0068$  (Рисунок 10).

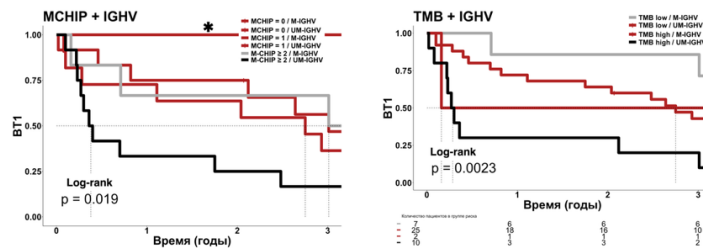


Рисунок 10 – Кривые Каплан-Майера ВТ1 в группе 1 по М-CHIP + *IGHV* и уровню ТМВ + *IGHV*

Примечания: М-CHIP – миелоидный клональный гемопоэз неопределенного потенциала; ТМВ low – низкий уровень опухолевой мутационной нагрузки; ТМВ high – высокий уровень опухолевой мутационной нагрузки; М-*IGHV* – мутированный статус *IGHV*; UM-*IGHV* – немутированный статус *IGHV*; \* – отмечены две перекрывающиеся кривые Каплан-Майера (М-CHIP = 0 + М-*IGHV* и М-CHIP = 0 + UM-*IGHV*).

Также предикторами сокращения ВТ1, вне зависимости от наличия маркеров с уже установленным прогностическим значением, в МФ моделях являлись мутированные гены *ASXL1* ( $p = 0,034$ ) и *IKZF3* ( $p = 0,001$ ) (Рисунок 11).

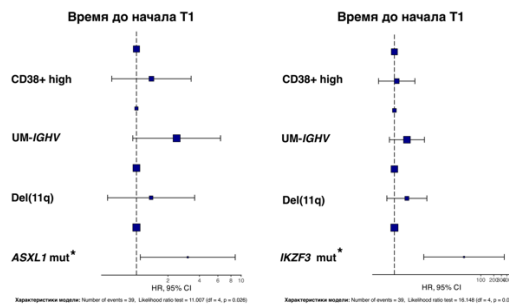


Рисунок 11 – Форест-график регрессионного анализа ВТ1 мутированных *ASXL1* и *IKZF3*

Примечания: CD38+high – высокий уровень экспрессии CD38; UM-*IGHV* – немутированный статус *IGHV*; del(11q) – делеция длинного плеча 11 хромосомы; CI – доверительный интервал; HR – отношение рисков; \* –  $p \leq 0,05$ .

### Общая выживаемость

Медиана ОБ-NGS группы 1 не достигнута, 5-летняя ОБ-NGS составила 82,1% (95% ДИ: 68,2–98,8). Медиана ОБ-NGS группы 2 составила 9,6 лет (95% ДИ: 8,1–NR). В ОФ регрессионных моделях установлено сокращение ОБ в группе 1 при детекции (+12) (HR 5,9; 95% ДИ: 1,1–37,1;  $p = 0,05$ ) (Рисунок 12).

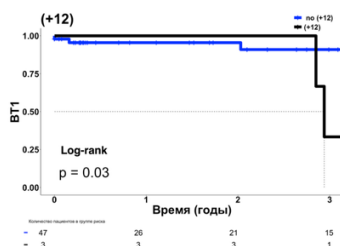


Рисунок 12 – Кривые Каплан-Майера ОБ в группе 1 по наличию трисомии 12 хромосомы

Примечание – (+12) – наличие трисомии 12 хромосомы; (-12) – отсутствие трисомии 12 хромосомы.

Выявлена тенденция к сокращению ОБ в группе 2 при мутациях в гене *PTPRD* (HR 4,9; 95% ДИ: 1,1–24,9;  $p = 0,05$ ) и к удлинению ОБ при интервале до начала T2 > 24 мес. (HR 0,1; 95% ДИ: 0,1–0,7;  $p = 0,027$ ) (Рисунок 13).

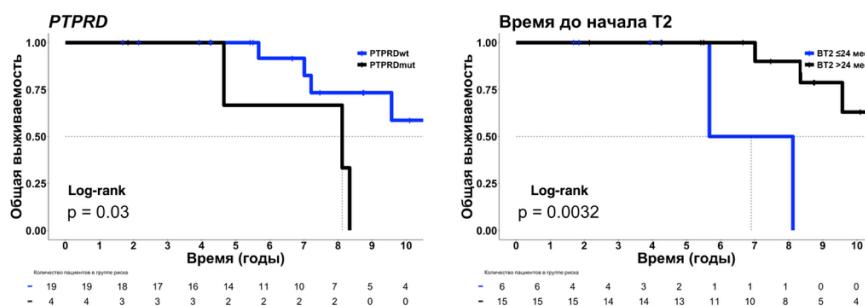


Рисунок 13 – Кривые Каплан-Майера ОБ в группе 2 по мутационному статусу гена *PTPRD* и продолжительности ответа на T1

Примечание – *PTPRDmut* – мутированный ген *PTPRD*; *PTPRDwt* – дикий тип гена *PTPRD*.

Для группы 1 и группы 2 построенные МФ модели не были значимыми, что вероятно обусловлено низкой частотой событий ( $n = 5$  и  $n = 9$ , соответственно). Учитывая значение медианы наблюдения за когортой с момента выполнения NGS (3,1 года) и несмотря на достижение статистической значимости для каждого из исследуемых факторов, невозможно сделать надежный вывод о влиянии (+12), мутаций в гене *PTPRD* и  $T2 > 24$  мес. на ОБ у пациентов ХЛЛ.

### Выживаемость без прогрессии

Медиана ВБП группы 1 не достигнута, для группы 2 медиана ВБП составила 3,6 лет (95% ДИ: 2,3–5,3).

В группе 1 наличие (+12) связано с риском сокращения ВБП в 6,2 раза (HR 6,2; 95% ДИ: 1,2–32,0;  $p = 0,003$ ). Двухлетняя ВБП у больных с (+12) составила 33,3% (95% ДИ: 6,7–100; медиана 1,2 года) по сравнению с 85,6% (95% ДИ: 75,6–97,0; медиана не достигнута) у пациентов без (+12). Двухлетняя ВБП при мутированном статусе гена *BCR* не превышала 66,0% (95% ДИ: 45,7–95,4; медиана 2,1 год) в сопоставлении с 90,2% (95% ДИ: 80,3–100; медиана не достигнута) у пациентов с диким типом гена *BCR* (HR 3,8; 95% ДИ: 1,3–11,8;  $p = 0,019$ ). При развитии рецидива после T1, 2-летняя ВБП составила 62,5% (95% ДИ: 36,5–100; медиана 2 года) по сравнению с 86,3% (95% ДИ: 75,8–100; медиана не достигнута) у пациентов без рецидивов (HR 9,9; 95% ДИ: 3,2–31,2;  $p < 0,001$ ). Достижение общего ответа (ПР+ЧР) на T1 значимо увеличивало ВБП (HR 0,2; 95% ДИ: 0,1–

0,7;  $p = 0,009$ ). Двухлетняя ВБП составила 89,2% (95% ДИ: 79,7–99,8; медиана не достигнута) сравнительно с 42,9% (95% ДИ: 18,2–100; медиана 1,4 года) у пациентов, не достигших общего ответа.

В группе 2, двухлетняя ВБП при мутированном статусе гена *BCR* составила 33,3% (95% ДИ: 6,7–100; медиана 3,8 мес.) в сравнении с 75,0% (95% ДИ: 58,2–96,6; медиана не достигнута) у пациентов с диким типом гена *BCR* (HR 4,0; 95% ДИ: 1,1–15,1;  $p = 0,039$ ). При детекции мутаций в гене *IKZF3* 2-летняя ВБП составила 33,3% (95% ДИ: 4,6–100; медиана 1,1 год) по сравнению с 78,9% (95% ДИ: 62,6–99,6; медиана не достигнута) у пациентов с диким типом гена *IKZF3* (HR 3,9; 95% ДИ: 1,2–12,8;  $p = 0,027$ ). Мутированный ген *KMT2C* значительно сокращает ВБП ( $p = 0,013$ ). Двухлетняя ВБП при мутированном статусе гена *KMT2C* составила 44,4% (95% ДИ: 21,4–92,3; медиана 1,7 лет) сравнительно с 85,7% (95% ДИ: 69,2–100; медиана не достигнута) у пациентов с диким типом гена *KMT2C* (HR 4,0; 95% ДИ: 1,1–15,1;  $p = 0,039$ ). Мутированный статус гена *SF3B1* также значительно сокращал показатель ВБП ( $p = 0,018$ ). Двухлетняя ВБП при мутированном статусе гена *SF3B1* достигла 33,3% (95% ДИ: 6,7–100; медиана 7,4 мес.) по сравнению с 75,0% (95% ДИ: 58,2–96,6; медиана не достигнута) у пациентов с диким типом гена *SF3B1* (HR 4,6; 95% ДИ: 1,2–17,8;  $p = 0,03$ ). Наличие субклональных драйверных мутаций оказывает негативное влияние на показатель ВБП ( $p = 0,013$ ). Двухлетняя ВБП была 44,4% (95% ДИ: 21,4–92,3; медиана 3,8 мес.) по сравнению с 85,7% (95% ДИ: 69,2–100; медиана не достигнута) у пациентов без них (HR 3,1; 95% ДИ: 1,2–7,9). Более позднее начало Т2 является благоприятным прогностическим маркером ( $p = 0,031$ ). При начале Т2 > 24 мес. 2-летняя ВБП составила 93,3% (95% ДИ: 81,5–100; медиана не достигнута) против 16,7% (95% ДИ: 2,8–100; медиана 5,8 мес.) при начале последующей терапии в период ≤ 24 мес. (HR 0,3; 95% ДИ: 0,1–0,9;  $p = 0,04$ ).

В МФ моделях, в группе 1 мутации в гене *BCR* являются предиктором ухудшения ВБП ( $p = 0,019$ ) вне зависимости от *IGHV* варианта ХЛЛ и вне зависимости от наличия (+12),  $p = 0,05$  (Рисунок 14).

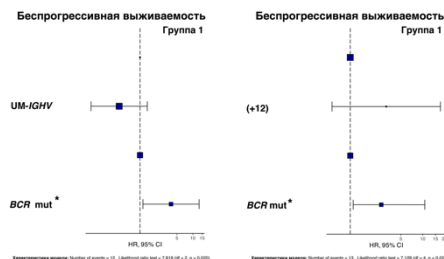


Рисунок 14 – Форест-график регрессионного анализа ВБП гена *BCR*

Примечания: UM-*IGHV* – немутированный статус *IGHV*; mut – мутированный ген; wt – дикий тип гена; CI – доверительный интервал; HR – отношение рисков; \* –  $p \leq 0,05$ .

В группе 2 мутированный ген *IKZF3* ( $p = 0,010$ ) сохранял неблагоприятное прогностическое значение при наличии мутаций в генах *BCR*, *KMT2C* и *SF3B1* (Рисунок 15 А).

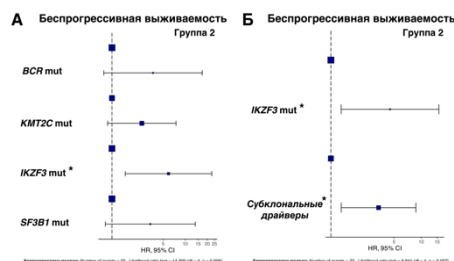


Рисунок 15 – Форест-график регрессионного анализа ВБП генов *BCR*, *IKZF3*, *KMT2C*, *SF3B1* и наличия субклональных драйверов

Примечания: mut – мутированный ген; wt – дикий тип гена; CI – доверительный интервал; HR – отношение рисков; \* –  $p \leq 0,05$ .

Наличие субклональных драйверов ( $p = 0,012$ ) и мутаций в гене *IKZF3* ( $p = 0,018$ ) являются независимыми друг от друга неблагоприятными прогностическими маркерами сокращения ВБП (Рисунок 15 Б).

При наличии мутаций в гене *IKZF3* + субклональных драйверов, 1-летняя ВБП составила 50,0% (95% ДИ: 12,5–100, медиана 5,8 мес.), а среди пациентов без мутаций в гене *IKZF3* и при отсутствии субклональных драйверов – 91,6% (95% ДИ: 77,3–100, медиана не достигнута),  $p = 0,0065$ . Время до начала Т2 > 24 мес. оставалось независимым предиктором улучшения показателя ВБП несмотря на наличие субклональных мутаций,  $p = 0,012$  (Рисунок 16). Однолетняя ВБП ВТ2 ≤ 24 мес./СД+ составила 33,3% (95% ДИ: 51,6–100, медиана 3,8 мес.), в то время как у пациентов с ВТ2 > 24 мес. / СД+ была 80,0% (95% ДИ: 67,3–100, медиана 2,6 лет).

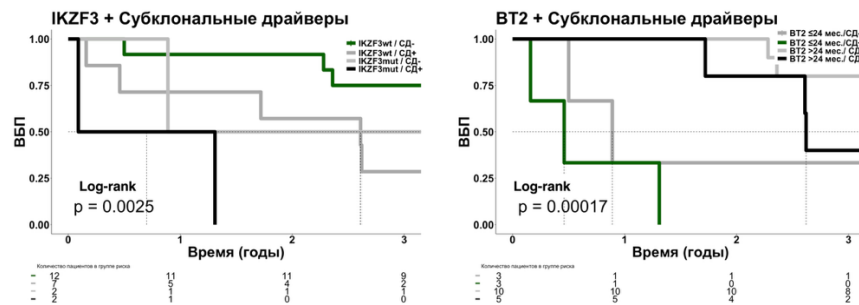


Рисунок 16 – Кривые Каплан-Майера ВБП группе 2 по *IKZF3* + субклональным драйверам ВТ2 + субклональным драйверам

Примечания: mut – мутированный ген; wt – дикий тип гена; ВТ2 – время до начала второй линии терапии; СД- – отсутствие субклональных драйверов; СД+ – наличие субклональных драйверов.

## ВЫВОДЫ

1. Таргетная NGS панель охватывает гены, вовлеченные в ключевые сигнальные клеточные пути и ассоциированные с ХЛЛ. Клиническая валидность и диагностическая эффективность кастомной NGS панели подтверждена выявлением клинически значимых мутаций у 98,6% пациентов. Возможность детектировать мутации с низким уровнем аллельной частоты свидетельствует о высокой аналитической чувствительности таргетной панели.

2. Фильтрация и аннотация вариантов нуклеотидных последовательностей с использованием разработанного алгоритма позволяет выделять соматические варианты, включая выделение мутаций в генах М-СНIP, в условиях, когда попарное секвенирование герминальной ДНК технически или экономически не выполнимо.

3. Выявлена гетерогенность геномного профиля больных ХЛЛ, которая характеризуется спектром частых мутаций (*NOTCH1*, *SF3B1*, *XPO1*, *ATM*, *TP53* и *EP300*) и наличием субклональных драйверных вариантов (*NSD2*, *SMC1A*, *DEK*, *KRAS* и *KMT2C*) с низким уровнем VAF. Паттерны со-возникновения генетических аномалий у больных ХЛЛ, в частности, ассоциация del(17p) с мутациями в гене *TP53* с VAF > 10% и генах *BRAF*, *NOTCH1*, а также связь между поликлональным *IGHV* и мутированным геном *TP53*, М-*IGHV* с мутированными генами *ALK*, *KDR*, *MAP2K1* и *SYK*, подчеркивают комплексность молекулярного ландшафта ХЛЛ. Определение порогового значения опухолевой мутационной нагрузки (ТМВ) на уровне 13 мутаций/Мб предоставляет интегральный количественный показатель мутационного профиля ХЛЛ для дальнейшей стратификации пациентов.

4. Неблагоприятными биомаркерами сокращения времени до инициации противоопухолевой терапии первой линии больных ХЛЛ являлись: UM-*IGHV*, мутированный ген *IKZF3* и высокая опухолевая мутационная нагрузка. Факторами,

ухудшающими показателем ВВП, были мутированный ген *IKZF3* и наличие субклональных драйверных мутаций.

5. Мутации в генах М-СНП встречаются у больных ХЛЛ достоверно чаще по сравнению с общей популяцией. Наиболее часто мутированными генами были *KIT* и *EZH2*, без значимых различий между ранее не получавшими терапию и Р/Р пациентами с ХЛЛ. Более 60% больных ХЛЛ имели множественные сочетанные мутации. У пациентов, ранее не получавших терапию первой линии, мутированный *ASXL1* и  $\geq 2$  мутаций в генах М-СНП являются независимыми неблагоприятными факторами ранней инициации противоопухолевой терапии первой линии. Влияния М-СНП мутаций на показатели общей и беспрогрессивной выживаемости не установлено.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам с впервые диагностированным хроническим лимфоцитарным лейкозом, а также при развитии рецидива и/или рефрактерности к противоопухолевым программам терапии, в том числе таргетными препаратами, рекомендовано определять мутационный статус генов с применением методов высокопроизводительного секвенирования для определения биомаркеров неблагоприятного прогноза. Выявление мутированных *IKZF3*, *ASXL1*,  $\geq 2$  мутаций в генах М-СНП и высокой ТМВ в результате секвенирования, целесообразно учитывать при принятии решения о тактике ведения пациента.

2. Для определения соматических вариантов в условиях отсутствия технической и экономической возможности попарного секвенирования герминальной ДНК рекомендовано использование предлагаемого алгоритма ранжирования вариантов нуклеотидной последовательности.

3. Выявление мутаций в генах М-СНП требует активного наблюдения за больными ХЛЛ врачом-гематологом и профильными специалистами в связи с многократным риском развития соматической патологии: сахарного диабета 2-го типа, хронической обструктивной болезни легких, венозных тромбозов, сердечно-сосудистых и аутоиммунных заболеваний, а также миелоидных неоплазий.

4. Полученные в работе данные свидетельствуют, что мутации в генах М-СНП ассоциированы с неблагоприятными прогностическими маркерами заболевания (*del(17p)* и *del(11q)*). Необходимо учитывать, что частота мутаций в генах М-СНП связана с возрастом и предшествующим химиотерапевтическим воздействием. Применение таргетных лекарственных препаратов позволит снизить частоту развития данных мутаций.

5. Мутационный профиль ХЛЛ – гетерогенен, выявлено значительное количество редких мутаций с неустановленным прогностическим значением. Рекомендовано создание и ведение национального регистра больных ХЛЛ, что позволит сформировать репрезентативную базу данных для оценки распространенности и прогностической роли редких мутаций в генах пациентов с ХЛЛ.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Полученные в рамках настоящего диссертационного исследования данные подчеркивают необходимость углубленного изучения молекулярных основ ХЛЛ с целью оптимизации прогностических моделей и персонализации терапевтических стратегий. Актуальными направлениями дальнейших исследований являются:

1. Расширение когорты пациентов для уточнения клинической значимости редких мутаций, а также выявления новых молекулярно-генетических маркеров, выявляемых методом NGS, которые ассоциированы с прогнозом и ответом на противоопухолевую терапию.

2. Изучение клональной эволюции ХЛЛ позволит определить молекулярные паттерны ранней резистентности/рефрактерности к противоопухолевой терапии и оценить возможности использования новых таргетных препаратов и их комбинаций.

3. Определение эпигенетических подтипов ХЛЛ с выявлением драйверов агрессивного течения заболевания и поиском мишеней для эпигенетической терапии.
4. Создание нейросетевых алгоритмов для интеграции и интерпретации большого пласта мультиомных данных и клинических параметров заболевания.
5. Разработка консенсус-протоколов по аннотации мутаций и проведение стандартизации алгоритмов клинической интерпретации результатов таргетного секвенирования нового поколения.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

### **Из перечня, рекомендованного ВАК**

1. Михалева, М. А. Секвенирование нового поколения как метод познания природы хронического лимфолейкоза и перехода к персонализированной терапии / М. А. Михалева, И. С. Мартынкевич, И. А. Булдаков [и др.] // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2021. – Т. 7, № 2. – С. 176–190.
2. Vijenthira, A. Myeloid clonal hematopoiesis of indeterminate potential in patients with chronic lymphocytic leukemia / A. Vijenthira, V. O. Volpe, A. Sekar [et al.] // Blood Advances. – 2024. – Vol. 8, № 23. – P. 5949–5956.
3. Михалева, М. А. Хронический лимфоцитарный лейкоз: геномный ландшафт и сигнальные клеточные пути / М. А. Михалева, Е. О. Куневич, А. Ю. Кувшинов [и др.] // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2025. – Т. 18, № 1. – С. 21–37.
4. Куневич, Е. О. Феномен клонального гемопоэза: этиология, классификация и прогностическая роль / Е. О. Куневич, М. А. Михалева, О. Б. Крысюк [и др.] // Онкогематология. – 2025. – Т. 20, № 1. – С. 28–54.
5. Yoon, J. T. Characteristics and outcomes of patients with double refractory and double exposed chronic lymphocytic leukemia / J. T. Yoon, Y. Zhou, M. Mikhaleva [et al.] // Blood Advances. – 2025. – Vol. 9, № 11. – P. 2808–2817.
6. Государственная регистрация базы данных № 2025622639 Российская Федерация. Гены сигнальных клеточных путей хронического лимфоцитарного лейкоза : № 2025620793 : заявл. 11.03.2025 : опубл. 19.06.2025 / Михалева М.А.; заявитель и патентообладатель ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России. – Бюл. № 6. – 1 с.
7. Mashima, K. Mutations and translocations associated with venetoclax resistance in chronic lymphocytic leukemia / K. Mashima, Y. Kuang, S. M. Fernandes [et al.] // Leukemia. – 2025. – Vol. 39. – P. 2026–2029.

### **В прочих источниках**

8. Mikhaleva, M. How we treat patient with chronic lymphocytic leukemia and acute myeloid leukemia developed from myelodysplastic syndrome (PB1751) / M. Mikhaleva, A. Kuvshinov, A. Kuzyaeva [et al.] // HemaSphere. – 2019. – Vol. 3, Suppl. 1. – P. 805.
9. Кувшинов, А. Ю. Современные представления о CAR-T клеточной терапии / А. Ю. Кувшинов, С. В. Волошин, А. А. Кузяева [и др.] // Вестник гематологии. – 2019. – Т. 15, №2. – С. 4–13.
10. Михалева, М. А. Возможности секвенирования нового поколения при исследовании мутационного статуса больных хроническим лимфолейкозом / М. А. Михалева, И. С. Мартынкевич, И. А. Булдаков [и др.] // Вестник гематологии. – 2020. – Т. 16, № 2. – С. 57–63.
11. Mikhaleva, M. Next-generation sequencing targeted chronic lymphocytic leukemia panel: a pilot study / M. Mikhaleva, I. Martynkevich, S. Petrov [et al.] // Blood. – 2020. – Vol. 136, Suppl. 1. – P. 19.
12. Mikhaleva, M. Targeted multigene panel: next-generation sequencing in chronic lymphocytic leukemia (PB2427) / M. Mikhaleva, I. Martynkevich, E. Motyko [et al.] // HemaSphere. – 2021. – Vol. 5, Suppl. 2. – P. 711–712.

13. Михалева, М. А. Секвенирование нового поколения в изучении хронического лимфолейкоза / М. А. Михалева, И. С. Мартынкевич, Е. В. Мотыко [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2022. – Т. 67, № S2. – С. 128.
14. Мотыко, Е. В. Генетические aberrации у больных хроническим лимфоцитарным лейкозом и их влияние на прогноз течения заболевания / Е. В. Мотыко, М. А. Михалева, С. В. Волошин [и др.] // Злокачественные опухоли. – 2023. – Т. 13, № 3s1. – С. 213.
15. Mikhaleva, M. Sex bias in mutational landscape of chronic lymphocytic leukemia: analysis of clinical sequencing data / M. Mikhaleva, S. Tyekucheva, K. Mashima [et al.] // *Leukemia & Lymphoma*. – 2023. – Vol. 64, Sup. 1. – P. S133–S134.
16. Mashima, K. Characterizing ATM aberrations in chronic lymphocytic leukemia (CLL): prognostic implications and sensitivity to PARP inhibition / K. Mashima, M. Mikhaleva, S. M. Fernandes [et al.] // *Blood*. – 2023. – Vol. 142, Suppl. 1. – P. 6507.
17. Mikhaleva, M. Higher mutational burden is an independent predictor of shorter time to first treatment in untreated chronic lymphocytic leukemia patients / M. Mikhaleva, S. Tyekucheva, K. Mashima [et al.] // *Blood*. – 2023. – Vol. 142, Suppl. 1. – P. 3270.
18. Motyko, E. V. Molecular-genetic profile and different prognostic impact of recurrent gene mutations in chronic lymphocytic leukemia / E. V. Motyko, M. A. Mikhaleva, V. A. Shuvaev [et al.] // *Clinical Oncohematology. Basic Research and Clinical Practice*. – 2024. – Vol. 17, № S3. – P. 99–100.
19. Mashima, K. Impact of germline and somatic ATM variants in chronic lymphocytic leukemia (CLL): clinical implications and response to PARP inhibition / K. Mashima, N. Moore, M. Mikhaleva [et al.] // *Blood Cancer Discov*. – 2024. – Vol. 5, № Suppl. 2. – P. P01.
20. Mikhaleva, M. Chronic lymphocytic leukemia (CLL) with central nervous system involvement (CNSi) / M. Mikhaleva, E. Aquilanti, U. Chukwueke [et al.] // *HemaSphere*. – 2024. – Vol. 8, Suppl. 1. – P. 1141–1142.
21. Santos Azevedo, R. Complex karyotype, but not isolated TP53 mutation, predicts overall survival in chronic lymphocytic leukemia patients in the era of targeted therapy / R. Santos Azevedo, M. Mikhaleva, K. Mashima [et al.] // *Blood*. – 2024. – Vol. 144, Suppl. 1. – P. 583–584.
22. Sungchul Choi, D. Low variant allele frequency (VAF) TP53 mutation (mut) is not a poor prognostic marker in CLL patients treated with targeted therapy / D. Sungchul Choi, Y. Ren, S. Tyekucheva [et al.] // *Blood*. – 2024. – Vol. 144, Suppl. 1. – P. 587–588.
23. Yoon, J. T. Characteristics and outcomes of patients with double refractory (DR) or double exposed (DE) CLL / J. T. Yoon, Y. Zhou, S. Tyekucheva [et al.] // *Blood*. – 2024. – Vol. 144, Suppl. 1. – P. 4617–4618.
24. Yadav, S. Clonal evolution during dual B cell receptor pathway inhibitor therapy with acalabrutinib and umbralisib in CLL patients / S. Yadav, S. J. Khan, B. Kandathilparambil Sasi [et al.] // *Blood*. – 2024. – Vol. 144, Suppl. 1. – P. 4611–4612.
25. Богданов, А. Н. Старение и клональный гемопоэз / А. Н. Богданов, С. В. Волошин, Е. О. Куневи́ч, М. А. Михалева // *Успехи геронтологии*. – 2024. – Т. 37, № 3. – С. 266–275.
26. Kunevich, E. Myeloid clonal hematopoiesis of indeterminate potential (M-CHIP) in patients with lymphoid malignancies (LM) / E. Kunevich, N. Nemscveridze, D. Chebykina [et al.] // *HemaSphere*. – 2025. – Vol. 9, Suppl. 1. – P. 1935–1937.
27. Михалева, М. А. Миелоидный клональный гемопоэз неопределенного потенциала у пациентов с хроническим лимфоцитарным лейкозом / М. А. Михалева, Е. В. Мотыко, И. С. Мартынкевич [и др.] // *Трансфузиология*. – 2025. – Т. 26, № 2, прил. 1. – С. 49–50.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВБП	– выживаемость без прогрессии
ВТ1	– время до первой линии терапии
ВТ2	– время до второй линии терапии
ДИ	– доверительный интервал
КГ	– клональный гемопоэз

КК	– комплексный кариотип
КК 3+	– КК с $\geq 3$ хромосомными аномалиями в одном опухолевом клоне
МФ	– многофакторный регрессионный анализ Кокса
ОВ	– общая выживаемость
ОФ	– однофакторный регрессионный анализ Кокса
ПЗ	– прогрессирование заболевания
п.о.	– пара оснований
ПР	– полная ремиссия
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
Р/Р	– рецидивное/рефрактерное течение заболевания
ССЗ	– сердечно-сосудистых заболеваний
T1	– терапия первой линии
T2	– терапия второй линии
ХЛЛ	– хронический лимфоцитарный лейкоз
ЧР	– частичная ремиссия
CHIP	– clonal hematopoiesis of indeterminate potential, клональный гемопоэз неопределенного потенциала
del(11q)	– делеция длинного плеча 11 хромосомы
del(13q)	– делеция длинного плеча 13 хромосомы
del(17p)	– делеция короткого плеча 17 хромосомы
FISH	– fluorescent in-situ hybridization, флуоресцентная in-situ гибридизация
high-TP53mut	– мутации в гене <i>TP53</i> с уровнем VAF > 10%
HR	– hazard ratio, отношение рисков
<i>IGHV</i>	– immunoglobulin heavy-chain variable region gene, ген варибельного региона тяжелой цепи иммуноглобулинов
ISCN	– The International System for Human Cytogenomic Nomenclature, Международная система цитогеномной номенклатуры человека International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia,
iwCLL	– международная рабочая группа по изучению хронического лимфоцитарного лейкоза
M-CHIP	– миелоидный клональный гемопоэз неопределенного потенциала
M- <i>IGHV</i>	– mutated <i>IGHV</i> , мутированный <i>IGHV</i>
Mb	– мегабаза
mut	– мутированный статус гена
NGS	– next-generation sequencing, секвенирование нового поколения / высокопроизводительное секвенирование
PAF	– population allele frequency, частота аллеля в популяции
TMB	– tumor mutational burden, опухолевая мутационная нагрузка
UM- <i>IGHV</i>	– unmutated <i>IGHV</i> , немутированный <i>IGHV</i>
VAF	– variant allele frequency, частота вариантного аллеля
WES	– whole-exome sequencing, полноэкзомное секвенирование
WGS	– whole-genome sequencing, полногеномное секвенирование
wt	– дикий тип гена
(+12)	– трисомия 12 хромосомы