

**НЕМСЦВЕРИДЗЕ НАДЕЖДА НОДАРИЕВНА**

**ВЛИЯНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПРОГНОЗ  
ЛИМФОМЫ ИЗ КЛЕТОК МАНТИИ**

3.1.28 – Гематология и переливание крови

3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика

**АВТОРЕФЕРАТ**

Диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

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

**Научные руководители:**

**Сидоркевич Сергей Владимирович** – доктор медицинских наук

**Мартынкевич Ирина Степановна** – доктор биологических наук

**Официальные оппоненты:**

**Тумян Гаяне Сепуговна** – доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением противоопухолевой лекарственной терапии и гематологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Михайлова Наталия Борисовна** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии с курсом детской онкологии факультета послевузовского образования имени профессора Б.В. Афанасьева, руководитель отдела клинической онкологии «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

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации

Защита диссертации состоится \_\_\_\_\_ 202\_\_ 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» и на сайте [www.bloodscience.ru](http://www.bloodscience.ru)

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 202\_\_ года.

Ученый секретарь диссертационного совета 68.1.007.01  
доктор медицинских наук

Т.В. Глазанова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность исследования

Лимфома из клеток мантии (ЛКМ) является редким подтипом В-клеточных неходжкинских лимфом (НХЛ) и характеризуется наличием транслокации t(11;14)(q13;q32), приводящей к гиперэкспрессии циклина D1 [Бессмельцев С.С. и др., 2025]. Течение ЛКМ гетерогенно и варьируется от индолетных случаев с тактикой «наблюдай и жди» до агрессивных подтипов, требующих немедленной инициации терапии [Hoster E. et al., 2008]. Данное явление может быть обусловлено сложным механизмом патогенеза ЛКМ, включающим вторичные генетические aberrации, которые приводят к нарушениям клеточного цикла, апоптоза и эпигенетической регуляции [Navarro A. et al., 2020]. Изучение мутационного профиля ЛКМ с внедрением современных методов исследования, таких как секвенирование следующего поколения (NGS), позволило улучшить понимание биологии опухолевого клона, а также выявить новые механизмы развития резистентного течения заболевания [Yi S. et al., 2022].

Терапевтические опции для пациентов с ЛКМ за последние годы значительно расширились, главным образом благодаря применению таргетных препаратов, что значительно улучшило прогноз данной опухоли [Тумян Г.С., 2020]. Лечебная тактика ЛКМ в настоящее время определяется множеством факторов, которые включают возраст и коморбидный статус пациента, а также aberrации гена *TP53* [Eyre T. et al., 2025]. Для некоморбидных пациентов без *TP53* эффективным методом терапии остается высокодозная химиотерапия (ВДТ) с аутологичной трансплантацией стволовых клеток (аутоТГСК) и поддерживающей терапией. В то же время результаты исследования TRIANGLE продемонстрировали сопоставимую эффективность комбинации химиотерапевтических режимов с ингибиторами тирозинкиназы Брутона (ибТК) и ВДТ с аутоТГСК [Dreyling M. et al., 2024]. Для пациентов с мутацией *TP53* данный подход не обладает должной эффективностью, что требует битаргетных вариантов лечения с применением ибТК и ингибитора BCL-2 венетоклакса, которые в комбинации с антиCD-20 антителом обинутузумабом позволили достичь оптимальных результатов, а в качестве консолидации у данной подгруппы больных согласно современным исследованиям может выступать аллогенная трансплантация стволовых клеток (аллоТГСК) [Королева Д.А. и др., 2019; Kumar A. et al., 2025]. В то же время лечение резистентных вариантов ЛКМ остается сложной задачей, требующей дальнейших исследований.

Причинами рефрактерного течения ЛКМ могут выступать клинические и биологические характеристики заболевания. Стратификация пациентов с ЛКМ на группы риска проводится согласно прогностическому индексу MIPI, учитывающему клинико-лабораторные параметры больных, и MIPIc, дополненному показателями индекса пролиферативной активности Ki67 [Jain P., Wang M., 2022; Scheubeck G. et al., 2023]. Эти прогностические индексы сохраняют свою актуальность, однако с учетом данных современных исследований об определяющей роли генетических aberrаций в прогнозе ЛКМ, интерес представляет расширение имеющихся шкал. В исследовании Ferrero и соавт., на основании данных комплексного генетического исследования был разработан прогностический индекс MIPI genetic, дополненный aberrациями *TP53* и мутацией в гене *KMT2D*, который также позволил стратифицировать больных на 3 группы риска [Ferrero S. et al., 2020]. Введение в клиническую практику шкал, базирующихся, на неблагоприятных генетических маркерах позволит более точно определить прогноз заболевания при постановке диагноза.

Известными неблагоприятными предикторами ЛКМ являются aberrации гена *TP53*, плеоморфный и бластоидный подтипы, высокий индекс пролиферативной активности Ki67, ранняя прогрессия заболевания, высокий риск по прогностическим индексам [Halldórsdóttir A. et al., 2011; Dreyling M., Klapper W., Rule S., 2018; Jain P. et al., 2020; Riedell P. et al., 2021; Lew T. et al., 2023]. Также получены данные о негативном влиянии комплексного кариотипа и

аббераций гена *MYC* на показатели выживаемости при ЛКМ [Greenwell I. et al., 2018; Yi S. et al., 2015]. В то же время, применение современных молекулярно-генетических методов позволило определить новые факторы риска при ЛКМ, такие как мутации в генах *KMT2D*, *ATM*, которые по данным исследований могут оказывать негативное влияние на прогноз заболевания [Ferrero S. et al., 2020; Koff J. et al., 2022]. Комплексный анализ факторов риска необходим для более точного определения прогноза ЛКМ.

Вышеописанные данные определили цель и задачи настоящего исследования.

### **Степень разработанности темы**

За последнее время были достигнуты значительные успехи в исследовании клинических, морфологических, молекулярно- и цитогенетических маркеров при ЛКМ [Клеина и др., 2023; Королева ДА и др., 2019; Gerson и др., 2023; Ip, Pia Della, Goy, 2024; Jain, Wang, 2022; Silkenstedt, Linton, Dreyling, 2021]. Внедрение NGS в клиническую практику позволило улучшить понимание патогенеза данного заболевания, а также выявить новые факторы риска, влияющие на прогноз ЛКМ. Однако открытым остается вопрос о комплексном исследовании совокупности клинических и биологических факторов прогноза ЛКМ и их взаимном влиянии на течение заболевания и эффективность проводимой терапии [Yi и др., 2022].

### **Цель исследования**

Стратифицировать риски и оптимизировать алгоритм диагностики и ведения больных лимфомой из клеток мантии на основании клинических и генетических характеристик заболевания.

### **Задачи исследования**

1. Оценить частоту встречаемости генетических аномалий у пациентов с лимфомой из клеток мантии с использованием стандартного цитогенетического исследования, флуоресцентной гибридизации *in situ*, секвенирования следующего поколения.
2. Установить ассоциации между клиническими проявлениями, лабораторными особенностями, цитогенетическими аномалиями и мутациями в генах при лимфоме из клеток мантии.
3. Провести многофакторный анализ и определить прогностически неблагоприятные маркеры, влияющие на течение лимфомы из клеток мантии.
4. Оценить эффективность различных вариантов терапии с учетом выявленных факторов неблагоприятного прогноза.
5. Разработать алгоритм персонифицированного подхода к комплексной диагностике и лечению пациентов с лимфомой из клеток мантии с учетом клинических и биологических факторов заболевания.

### **Научная новизна**

В настоящем исследовании впервые:

- определены новые прогностические молекулярные маркеры у больных с лимфомой из клеток мантии – мутации в генах *ATM*, *BCR*, *KMT2D*, *KMT2C*, *FAT1*, лежащие в основе патогенеза заболевания, нарушения регуляции клеточного цикла, апоптоза, эпигенетической регуляции.
- получены новые данные об ассоциации комплексных хромосомных аббераций и мутационного статуса генов с клиническими характеристиками при лимфоме из клеток мантии.
- выделены наиболее значимые предикторы неблагоприятного прогноза при лимфоме из клеток мантии на основании комплексного анализа клинических и биологических маркеров.
- проведена стратификация больных с использованием обновленного варианта *MIP1 genetic*, учитывающего абберации генов *TP53* и *KMT2D*.

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

На основании полученных данных проведен комплексный анализ предикторов у пациентов с ЛКМ, в результате которого выявлены наиболее значимые прогностические

маркеры, что позволит в дальнейшем оптимизировать стратификацию риска, а также тактику терапии при ЛКМ. Определение мутационного ландшафта методом NGS позволит улучшить понимание о патогенезе ЛКМ и в будущем выявить механизмы рефрактерно-рецидивирующего течения.

### **Методология и методы исследования**

В работе использованы клинические, цитоморфологические, иммуногистохимические (ИГХ) и генетические (стандартное цитогенетическое исследование, флуоресцентная гибридизация *in situ*, секвенирование следующего поколения) методы исследования, а также методы статистического анализа данных.

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

1. Лимфома из клеток мантии – генетически гетерогенное заболевание, характеризующееся наличием молекулярно- и цитогенетических аномалий. Вторичные хромосомные aberrации при лимфоме из клеток мантии ассоциированы с распространенностью опухолевого процесса и изменениями лабораторных параметров.

2. Факторами неблагоприятного прогноза при лимфоме из клеток мантии являются высокий риск по прогностической шкале MIP1c, поражение центральной нервной системы, ранняя прогрессия заболевания, делеция *TP53/17p13*, aberrации *MYC*, комплексный кариотип, агрессивный гистологический подтип.

3. Применение секвенирования следующего поколения, наряду со стандартным цитогенетическим исследованием и флуоресцентной гибридизацией *in situ*, позволяет определить генетический ландшафт ЛКМ и выявить новые прогностические маркеры, влияющие на течение заболевания.

4. Применение высокодозной химиотерапии с аутологичной трансплантацией стволовых клеток в 1 линии оправдано у больных с классическим подтипом лимфомы из клеток мантии без aberrаций *TP53*, однако не улучшает прогноз в группе пациентов с *TP53* и агрессивными подтипами. У больных с рефрактерным течением лимфомы из клеток мантии применение таргетных препаратов сопоставимо по эффективности и обладает меньшим профилем токсичности по сравнению с высокодозной химиотерапией.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность результатов проведенного исследования определяется достаточным объемом выборки пациентов (89 пациентов с ЛКМ III-IV стадии), применением достоверных методов исследования, качеством выполненных исследований, использованием методик статистического анализа.

Основные положения диссертации представлены в виде докладов на российских и международных конференциях: Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии» (2024), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Генетика опухолей кроветворной системы – от диагностики к терапии» (2025), Society of Oncology and Hematology Annual Meeting (2025), I Конгрессе Национального общества трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, генной и клеточной терапии (2025), IV Научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии» (2025).

Результаты исследования были представлены в виде тезисов на российских и международных конференциях: III Научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии» (2023), Научно-практической конференции с международным участием «Клиническая лабораторная диагностика в гематологии и трансфузиологии» (2023), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии» (2024), IV Московской международной школе молодых ученых по гематологии им. С.П. Боткина (2024), VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Генетика опухолей кроветворной системы — от диагностики к терапии» (2025), Society of Oncology and Hematology Annual Meeting (2025), The European Hematology Association Hybrid

Congress (2025), I Конгрессе Национального общества трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, генной и клеточной терапии (2025), IV Научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии» (2025).

По результатам исследования опубликовано 11 научных печатных работ, в том числе 4 научные статьи в российских и международных журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ.

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

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.1.28. – Гематология и переливание крови, 3.3.8. – Клиническая лабораторная диагностика. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности 3.1.28. – Гематология и переливание крови, п. 6 и п. 13, специальности 3.3.8. – Клиническая лабораторная диагностика, п. 3 и п. 11.

#### **Внедрение результатов исследования в практику**

Результаты диссертационного исследования внедрены в научно-исследовательскую работу Центра клеточной и молекулярной патологии, а также практическую работу клинического отделения гематологии, химиотерапии и трансплантации костного мозга с блоком интенсивной терапии и дневным стационаром, клинического отделения химиотерапии и трансплантации костного мозга, клинико-диагностического отделения гематологии и химиотерапии с дневным стационаром клиники ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России.

#### **Личный вклад автора**

Автором лично проведены сбор анамнеза, непосредственное обследование (выполнение аспирационной и трепанобиопсии костного мозга) и лечение пациентов, забор материала для проведения молекулярно-цитогенетических исследований, его дальнейшая подготовка и проведение анализа образцов. Также автором выполнены выделение ДНК из моноклеарных клеток периферической крови для NGS, подготовлена библиотека с использованием методики гибридизационного селективного обогащения фрагментами ДНК, проведен анализ клинической значимости обнаруженных молекулярных вариантов с использованием баз данных ClinVar, dbSNP, COSMIC, gnomAD и др. Выполнена статистическая обработка и обобщение полученных результатов.

#### **Объем и структура диссертации**

Диссертация состоит из введения, глав обзора литературы, описания методологии и методов исследования, собственных результатов исследования, заключения и выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа изложена на 121 странице машинописного текста, содержит 38 рисунков и 10 таблиц. Список литературы включает 169 источников, в том числе 9 на русском и 160 на иностранных языках.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**Описание исследуемой группы.** При формировании исследуемой группы всего были проанализированы 144 амбулаторные карты и истории болезни пациентов с ЛКМ, проходивших лечение в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА, а также других учреждениях Санкт-Петербурга и Ленинградской области с 2014 по 2025 гг. Критериями включения в анализ являлись возраст от 18 до 70 лет, подтвержденный диагноз ЛКМ гистологическим и ИГХ методами, III–IV стадия по Ann Arbor, отсутствие выраженной коморбидности с индексом Charlson 5 и менее баллов, наличие данных о проведении цитогенетических исследований в дебюте заболевания. Исключались пациенты с индолентным течением заболевания с наблюдательной тактикой, а также больные с синхронными гемобластомами, комбинированными лимфомами. Таким образом, было отобрано 89 пациентов с ЛКМ. Медиана (Me) наблюдения составила 46,3 мес. (IQR:18,2–79,3 мес.). Me возраста – 59 лет (Q1–Q3: 56–65 лет, min–max: 31–70 лет). Общая характеристика группы представлена в Таблице 1 и Таблице 2.

Таблица 1 – Общая характеристика исследуемой группы (категориальные переменные)

Показатели	Категории	Абс.(n=89)	%	95% ДИ
Пол	Женщины	28	31,5	22–42,2
	Мужчины	61	68,5	57,8–78
ECOG	0	24	27,0	18,1–37,4
	1	45	50,6	39,8–61,3
	2	15	16,9	9,8–26,3
	3	5	5,5	1,8–12,6
Стадии (Ann Arbor)	III	10	11,2	5,5–19,7
	IV	79	88,8	80,3–94,5
В-симптомы	Наличие	46	52,9	41,9–63,7
Лимфаденопатия	Лимфаденопатия до 5 см	62	69,7	54,3–86,7
	Лимфаденопатия 5–10 см	14	15,7	8,9–25
	Лимфаденопатия 10 см и более	13	14,6	8–23,7
Спленомегалия	Наличие	51	58	47–68,4
ЭНО (1 и более)	Наличие	47	55,3	44,1–66,1
Гистологический вариант	Классический подтип	75	84,3	75–91,1
	Плеоморфный/бластоидный тип	14	15,7	8,9–25
ИГХ	Циклин D1	89	100	93,9–100
	CD20	89	100	95,9–100
	CD5	86	96,6	90,4–99,3
	BCL2	25 (n=56)	44,6	32,9–64,9
	SOX11	20 (n=41)	48,8	31,3–58,5
ИФТ ПК и/или КМ (n=47)	CD20	47	100	84,6 – 100
	CD19	47	100	84,6 – 100
	CD22	47	100	84,6 – 100
	CD79b	43	91,5	77,2 – 99,9
	CD5	47	100	84,6 – 100
	Каппа	23	48,9	24,4 – 67,8
	Lambda	34	72,3	58,2 – 91,8
	CD43	4 (n=15)	27,3	10,7 – 50,2
	CD38	7 (n=16)	45,5	24,4 – 67,8
	CD25	2 (n=15)	13,3	2,9 – 34,9
	CD200	1 (n=14)	7,1	1,1 – 21,1

Примечание: ECOG – Eastern Cooperative Oncology Group (Восточная объединенная группа онкологов), ЭНО – экстранодальные очаги, ИГХ – иммуногистохимия, ИФТ – иммунофенотипирование, ПК – периферическая кровь, КМ – костный мозг.

Таблица 2 – Общая характеристика исследуемой группы (количественные переменные)

Показатели	М ± SD / Ме	95% ДИ / IQR	min	max
SPD, Ме (мм <sup>2</sup> )	2702	1561–4514	300	22198
Лейкоциты (x10 <sup>9</sup> /л), Ме	9	6,5–20	1,70	550
Гемоглобин (Hb, г/л), М ± SD	118 ± 21	114–123	43	161
Тромбоциты (PLT, x10 <sup>9</sup> ), М ± SD	187 ± 78	171–204	42	450
Лимфоциты (x10 <sup>9</sup> /л), Ме	3	2–11	0	534
Ki67 (%), Ме (n=88)	35	20–45	3	90

Примечание: М – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение, IQR – интерквартильный размах, SPD – сумма произведений диаметров 6–ти таргетных ЛУ.

Поражение КМ в дебюте заболевания выявлено у 77,5% (55), желудочно-кишечного тракта – 31,5% (28), органов дыхательной системы – 9% (8). Поражение центральной нервной системы (ЦНС) при постановке диагноза обнаружено у 3,4% (3) пациентов, в рецидиве – у 4,5% (4). Изменения показателей гемограммы в виде лейкоцитоза ( $>9 \times 10^9/\text{л}$ ) установлены у 55,1% (40) пациентов, лимфоцитоза ( $>5 \times 10^9/\text{л}$ ) – 38,2% (34), анемия ( $\text{Hb} < 120 \text{ г/л}$ ) – 36% (32), тромбоцитопения ( $\text{PLT} < 100 \times 10^9/\text{л}$ ) – 16,9% (15).

Данные о прогностических индексах МРР и МРРс были доступны у 80 исследуемых. Стратификация больных на группы риска представлена на Рисунке 1.

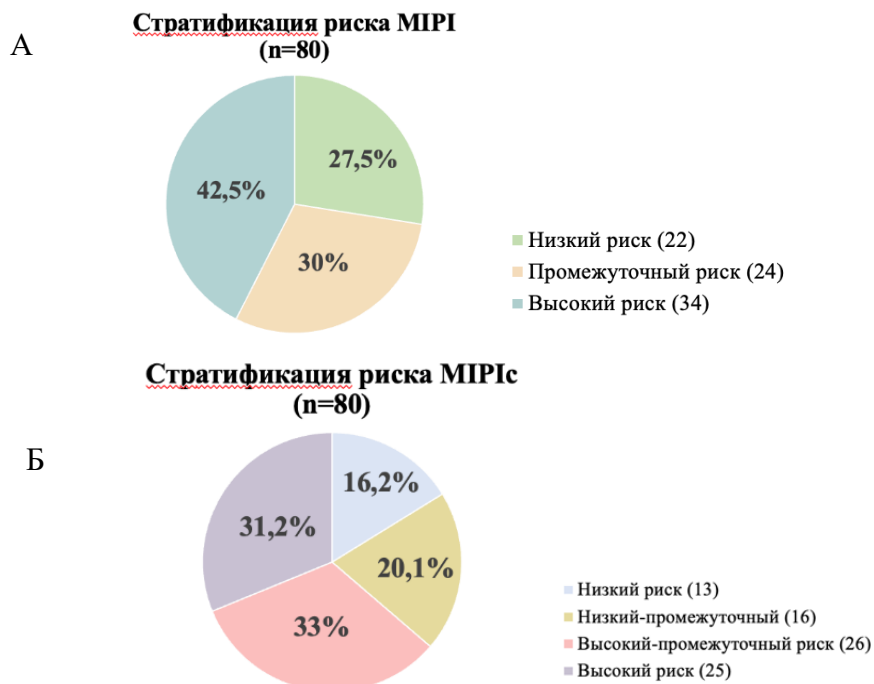


Рисунок 1 – Распределение исследуемых больных на группы риска с учетом прогностических индексов МРР (А) и МРРс (Б)

Пациенты, включенные в исследование, получали терапию в соответствии с клиническими рекомендациями МЗ РФ, принятыми в период лечения, с учетом актуальных международных рекомендаций (NCCN, ESMO). Ме количества линий терапии равнялась 2-м (min-max 1-5). Ме количества циклов – 6 (IQR: 1 – 6). Варианты режимов представлены на Рисунке 2.

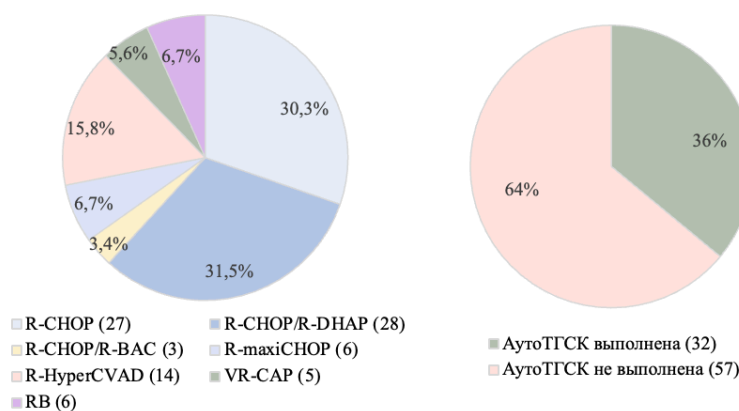


Рисунок 2 – Варианты 1 линии терапии ЛКМ у исследуемых

Частота ОО после 1 линии терапии в исследуемой группе составила 78,7% (70). ПО констатирован у 59,6% (53) пациентов, ЧО – 19,1% (17), стабилизация заболевания (СЗ) – 6,7% (6), прогрессия заболевания (ПЗ) – 14,6% (13). МОБ-статус методом проточной цитометрии КМ после аутоТГСК оценивался у 33,3% (14), при этом МОБ–негативная ремиссия установлена у 12 исследуемых. Поддерживающая терапия Ритуксимабом в монорежиме проводилась 69,7% (62) пациентам. Ме количества циклов поддерживающей терапии – 12 мес. (IQR: 7,5–30). ПЗ констатирована у 56,2% (50) пациентов, ранняя прогрессия заболевания до 24-х мес. (РПЗ24) – у 42,7% (38) больных. Во второй линии терапии у исследуемых применялись таргетная терапия (ТТ) (46% (23)), ВДТ с аутоТГСК (34% (17)), ТТ+аутоТГСК (4% (2)).

Ме ОВ в исследуемой группе составила 95,7 мес (95% ДИ: 46,3–∞ мес), Ме ВБП – 28,4 мес (95% ДИ: 16,2–43,1 мес). Трехлетняя ОВ в исследуемой группе составила 68,3% (95% ДИ: 57,1–78,1), Трехлетняя ВБП – 39,3% (95% ДИ: 29,1–50,3).

**Лабораторные и генетические методы исследования.** Клинический анализ крови выполнялся на гематологическом анализаторе Sysmex XN–1000 и других аналогичных приборах с последующим ручным подсчетом лейкоцитарной формулы.

Забор костного мозга (КМ) при аспирационной и трепанобиопсии осуществлялся с помощью игл типа Jamshidi из подвздошной кости с последующим цитологическим, цитогенетическим, иммунологическим, гистологическим и ИГХ исследованиями.

**Стандартное цитогенетическое исследование (СЦИ)** было выполнено у 100% пациентов (89). В качестве биологического материала использовались образцы периферической крови (ПК) в 59,6% (53) случаев, КМ – в 23,6% (21). Одновременное культивирование ПК и КМ выполнено у 16,8% (15) пациентов. У каждого пациента анализировали не менее 20 метафазных пластин. Интерпретацию выявленных аномалий проводили в соответствии с Международной цитогеномной номенклатурой ISCN, 2021. Для выполнения цитогенетического анализа и архивирования полученных данных применяли компьютерную систему анализа изображений «ВидеоТест».

**FISH-исследование** проведено 100% (89) пациентов. Для анализа использовались суспензия клеток, приготовленная для СЦИ, а также мазки ПК или КМ на предметном стекле. В исследовании применяли следующие ДНК-зонды производства компании MetaSystems (Германия): XL t(11;14) MYEOV/IGH DF Translocation/Dual Fusion Probe, XL TP53/17cen Deletion Probe, XL MYC BA Break Apart Probe. Проанализировано не менее 200 интерфазных ядер. Интерпретацию полученных результатов осуществляли в соответствии с Международной номенклатурой (ISCN, 2020).

**Секвенирование следующего поколения (NGS)** было применено у 24,7% (22) пациентов. Материалом для исследования являлась ПК. Анализ осуществляли на платформе NextSeq (производство компании Illumina, USA) с использованием технологии парно-концевого чтения. Образцы ДНК выделяли из мононуклеарных клеток периферической крови с применением метода градиентного центрифугирования на Ficoll-Paque. Для пробоподготовки использовали методику гибридизационного селективного обогащения фрагментами ДНК, соответствующими кодирующим областям 116 анализируемых генов, с применением кастомизированной панели зондов производства компании Roche (лимфоидная таргетная панель NGS, Таблица 3). Интерпретация клинической значимости предположительно соматических вариантов проводилась на основании рекомендаций AMP (Association for Molecular Pathology) [Li и др., 2017], герминальных вариантов на основании рекомендаций ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics) [Richards и др., 2015].

Таблица 3 – Таргетная лимфоидная панель

<i>ABL1</i>	<i>AKT3</i>	<i>ALK</i>	<i>APC</i>	<i>ARID1A</i>	<i>ATM</i>	<i>ATRX</i>	<i>ASXL1</i>	<i>B2M</i>
<i>BCL2</i>	<i>BCOR</i>	<i>BCORL1</i>	<i>BCR</i>	<i>BIRC3</i>	<i>BRCAl</i>	<i>BRCAl2</i>	<i>BRAF</i>	<i>BTK</i>
<i>CALR</i>	<i>CARD11</i>	<i>CBL</i>	<i>CCND1</i>	<i>CD79B</i>	<i>CD58</i>	<i>CDKN2A</i>	<i>CDX2</i>	<i>CEBPA</i>
<i>CIITA</i>	<i>CREBBP</i>	<i>CSF3R</i>	<i>CUX1</i>	<i>DDX3X</i>	<i>DEK</i>	<i>DIS3</i>	<i>DNMT3A</i>	<i>EP300</i>
<i>ETV6</i>	<i>EZH2</i>	<i>FAM46C</i>	<i>FAT1</i>	<i>FLT3</i>	<i>GATA1</i>	<i>GATA2</i>	<i>GNA13</i>	<i>GNAS</i>
<i>FBXW7</i>	<i>HIST1H1A</i>	<i>HRAS</i>	<i>ID3</i>	<i>IDH1</i>	<i>IDH2</i>	<i>IRF4</i>	<i>IKZF1</i>	<i>IKZF3</i>
<i>ITPKB</i>	<i>JAK2</i>	<i>JAK3</i>	<i>KDM6A</i>	<i>KDR</i>	<i>KIT</i>	<i>KLF2</i>	<i>KMT2A</i>	<i>KMT2C</i>
<i>KMT2D</i>	<i>KRAS</i>	<i>MAP2K1</i>	<i>MEF2B</i>	<i>MGA</i>	<i>MPL</i>	<i>MSN</i>	<i>MYC</i>	<i>MYD88</i>
<i>NF1</i>	<i>NOTCH1</i>	<i>NOTCH2</i>	<i>NPM1</i>	<i>NRAS</i>	<i>PDGFRA</i>	<i>PHF6</i>	<i>PIK3CB</i>	<i>PIM1</i>
<i>PLCG2</i>	<i>POT1</i>	<i>PRDM1</i>	<i>PTCH1</i>	<i>PTEN</i>	<i>PTPN11</i>	<i>PTPRD</i>	<i>RAD21</i>	<i>RB1</i>
<i>RHOA</i>	<i>RPS15</i>	<i>RUNX1</i>	<i>RYR1</i>	<i>SAMHD1</i>	<i>SETBP1</i>	<i>SF3B1</i>	<i>SH2B3</i>	<i>SMARCA4</i>
<i>SMC1A</i>	<i>SMC3</i>	<i>SOCS1</i>	<i>SRSF2</i>	<i>STAG2</i>	<i>STAT3</i>	<i>STAT6</i>	<i>SUZ12</i>	<i>SYK</i>
<i>TET2</i>	<i>TNFAIP3</i>	<i>TP53</i>	<i>U2AF1</i>	<i>WHSC1</i>	<i>WT1</i>	<i>XPO1</i>	<i>ZRSR2</i>	

**Статистическая обработка результатов исследования.** Систематизация и статистическая обработка осуществлялись посредством программ Microsoft Excel 16.75.2, IBM SPSS Statistics 26.0, StatTech v. 4.8.11 (разработчик – ООО "Статтех", Россия). Номинальные и порядковые независимые переменные оценивались с помощью непараметрических тестов  $\chi^2$  и точного теста Фишера (при значениях минимального ожидаемого явления менее 10). В случае нулевых значений числа наблюдений в ячейках таблицы сопряженности расчет отношения шансов выполнялся с поправкой Холдейн–Энскомб. Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода применялся метод анализа ROC-кривых. Оценка функции выживаемости проводилась по методу Каплана–Мейера. Для построения кривой ОБ длительность жизни рассчитывалась как интервал времени от даты постановки диагноза до даты наступления события или даты последней доступной информации о пациенте, когда он был жив (цензурированные события). Событием считалась смерть пациента от любой причины. Длительность для построения кривой ВВП рассчитывалась как период времени от даты начала лечения до даты прогрессирования или смерти. С помощью лог-ранк критерия Мантеля-Кокса оценивалась связь с факторами, статистически значимо влияющими на наступление события от времени на графике. Однофакторный и многофакторный анализ выживаемости пациентов проводился по методу регрессии Кокса. Оценка отдаленных результатов выживаемости выполнена в течение трех лет методом логистической регрессии. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Определение частоты обнаруженных хромосомных aberrаций и их влияние на клинично–лабораторные параметры

На первом этапе исследования была проанализирована частота хромосомных aberrаций, обнаруженных методами СЦИ и FISH–исследования. По результатам СЦИ кариотип определен у 88,7% (79), у 11,3% (10) митозы не получены. Нормальный кариотип констатирован у 53,4%, кариотип с перестройками – 20,5%, КК – 15,2%. Частота встречаемости транслокации  $t(11;14)(q13;q32)$  в кариотипе составила 30,3% (27), aberrаций хромосомы 17 – 12,4% (11), из них делеция 17p – 10,1% (9), изохромосома 17 – 1,1% (1), моносомия 17 – 1,1% (1). У 9% в составе КК отмечалась делеция 17p. При анализе результатов FISH транслокация  $t(11;14)$  выявлена у 81,9% (72) пациентов. Одновременное выявление транслокации  $t(11;14)$  методом FISH и СЦИ определялось у 29,2% (26), при этом у 1,1% (1) транслокация обнаруживалась только по данным СЦИ. Всего частота обнаружения  $t(11;14)$  составила 83%. Делеция  $TP53/17p13$  была выявлена у 20,2% (18). Совместное определение

делеции *TP53/17p13* и делеции *17p* по данным СЦИ выявлено у 10,1% (9). Аберрации *MYC/8q24* обнаружены у 16,9% (15) пациентов, изменения включали амплификацию (15,8% (14)) и перестройку (1,1% (1)).

В ходе исследования был выполнен анализ клинических и лабораторных характеристик в зависимости от обнаруженных генетических маркеров.

При сопоставлении В-симптомов и массивной лимфаденопатии с исследуемыми аберрациями не удалось выявить статистически значимых различий ( $p > 0,05$ ). Однако в результате анализа было обнаружено, что делеция *TP53/17p13* статистически значимо увеличивала вероятность развития спленомегалии в дебюте заболевания в 4,7 раз (95% ДИ: 1,25–17,8,  $p = 0,017$ ). У пациентов с *TP53/17p13* спленомегалия отмечалась в 83,3% случаев, у пациентов без *TP53* – 51,4%.

Также было обнаружено, что все исследуемые аберрации оказывали статистически значимое влияние на развитие лейкоцитоза в дебюте ЛКМ (Рисунок 3). Вероятность лейкоцитоза в группе КК была выше в 4,44 раза (95% ДИ: 95% ДИ: 1,1–17,9,  $p = 0,032$ ), в группе с делецией *TP53/17p13* – в 4,14 раз, (95% ДИ: 1,36–13,2,  $p = 0,016$ ), аберрации *MYC/8q24* – в 6,57 раз (95% ДИ: 1,7–25,3,  $p = 0,004$ ).

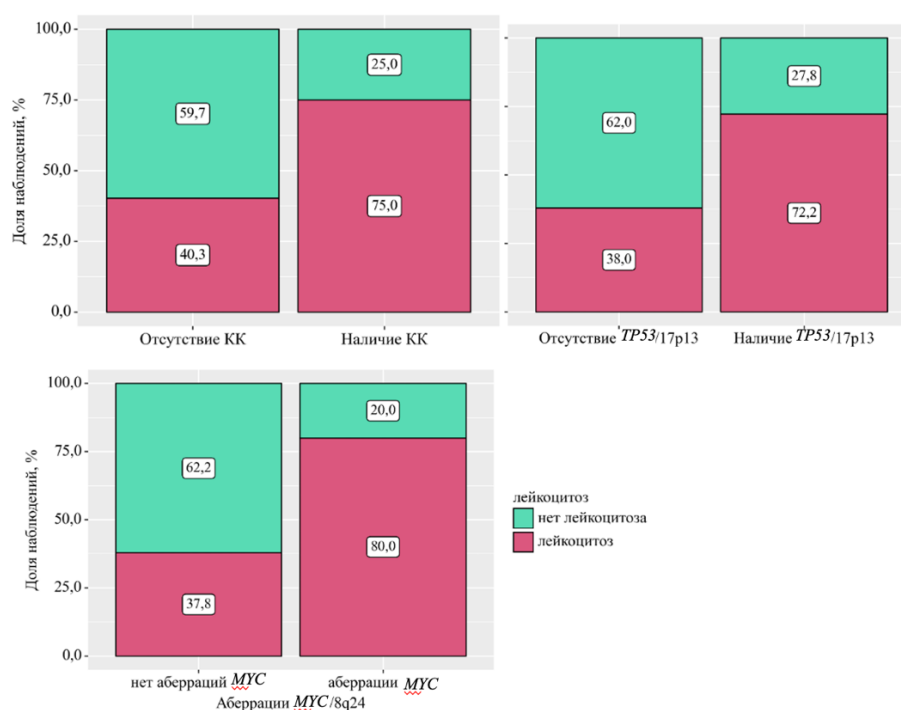


Рисунок 3 – Анализ частоты лейкоцитоза в зависимости от генетических аберраций

КК увеличивал вероятность развития тромбоцитопении в 5,3 раз (95% ДИ: 1,35–20,6,  $p = 0,023$ ). Тромбоцитопения наблюдалась у 41,7% исследуемых с КК и у 11,9% без КК.

Также анализ продемонстрировал статистически значимую корреляцию между вовлечением КМ и наличием аберраций *MYC/8q24*. У 100% пациентов с аберрацией *MYC/8q24* отмечалось поражение КМ, тогда как в группе без аберраций поражение КМ наблюдалось у 70,9% пациентов. Вероятность поражения КМ при наличии аберраций *MYC/8q24* была выше в 12,9 раз (95% ДИ: 2,73–22,34,  $p = 0,019$ ).

Делеция *TP53/17p13* и КК оказывали влияние на выявление высокого риска по прогностической шкале МIPiс. У пациентов с делецией *TP53/17p13* вероятность высокого риска была выше в 8,7 раз (95% ДИ: 2,48 – 30,3,  $p < 0,001$ ), в группе больных с КК – в 5,8 раз (95% ДИ: 1,35–24,7,  $p = 0,026$ ). При оценке влияния аберраций *MYC* статистически значимых различий получено не было ( $p = 0,07$ ).

### Анализ результатов секвенирования следующего поколения при лимфоме из клеток мантии

При анализе результатов NGS у 22-х пациентов выявлен 101 аллельный вариант. Среди выявленных аллельных вариантов соматические мутации составили 79,2% (80/101), герминальные – 5,9% (6/101), неизвестные – 14,9% (15/101). Согласно клинической значимости, обнаруженные полиморфизмы были классифицированы на патогенные – 7,9% (8/101), условно патогенные – 5% (5/101), неопределенного клинического значения – 87,1% (88/101). Ввиду небольшой выборки больных в анализ включены не только патогенные, но и мутации с неопределенным значением. Ме количества мутаций в образце – 3 (0–23). Ме частоты вариантного аллеля (VAF) составила 7,8% (3–93,4%). Статистически значимой связи между VAF и клинико-лабораторными параметрами выявлено не было ( $p=0,85$ ). У патогенных мутаций Ме VAF составила 13,9%, условно патогенных – 17,3%, неопределенного значения – 7,3%. Миссенс-мутации составили 84%, нонсенс-мутации – 6%, делеции со сдвигом рамки считывания – 3%, делеции без сдвига рамки считывания – 2%, мутации сайта сплайсинга – 2%, синонимичные мутации – 3%. Согласно проведенному анализу наиболее часто выявлены aberrации в гене *ATM* (36% (8)), далее по частоте определялись мутации *RYR1* (27% (6)), *BCR* (27% (6)), *KMT2D* (23% (5)), *MGA* (18% (4)), *KMT2C* (18% (4)). Мутации в гене *TP53* обнаружены в 14% (3) случаев. У 66,7% (2) больных с выявленной мутацией по данным NGS выявлена делеция *TP53/17p13* по данным FISH и делеция 17p в кариотипе.

В результате анализа был составлен онкоплот, отражающий соматический ландшафт когорты (Рисунок 4).

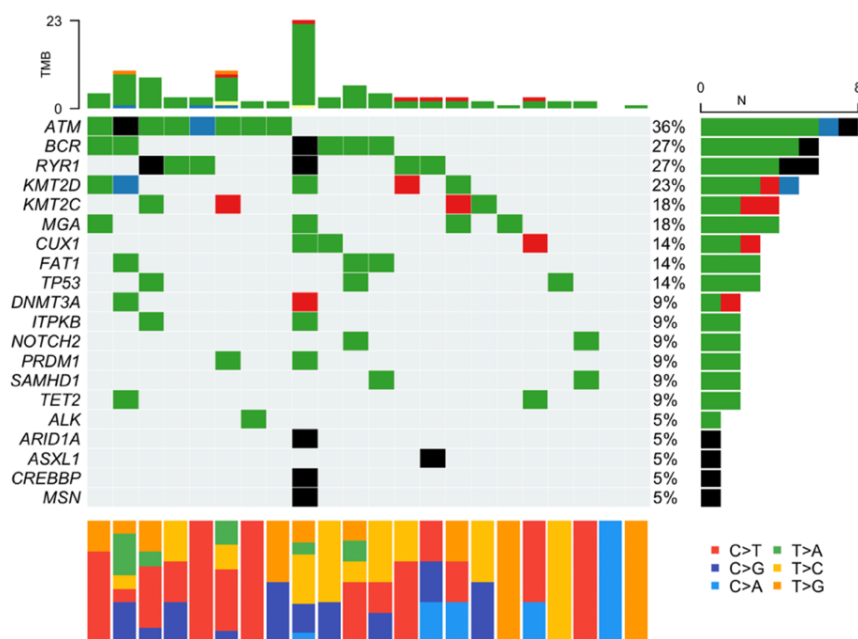


Рисунок 4 – Онкоплот

Примечание: в верхней части рисунка отражена опухолевая мутационная нагрузка у каждого из исследуемых (TMB). Зеленым цветом обозначены миссенс-мутации, красным – нонсенс-мутации, синим – делеции со сдвигом рамки считывания, черным – обнаружение более одной мутации в гене в одном образце. В нижней части рисунка показано соотношение транзиций и трансверсий. Слева отражена частота обнаружения мутаций, N – абс. количество исследуемых.

С помощью метода парного точного теста Фишера была составлена матрица взаимоисключающих и сопутствующих мутаций для каждой пары генов, обнаруженных у 2 и более больных (Рисунок 5). Статистически значимая связь выявлена при совместном

обнаружении мутаций *FAT1* и *BCR* ( $p=0,013$ ), *MGA* и *KMT2D* ( $p=0,024$ ), *DNMT3A* и *KMT2D* ( $p=0,043$ ). Статистически значимых взаимоисключающих мутаций не выявлено.

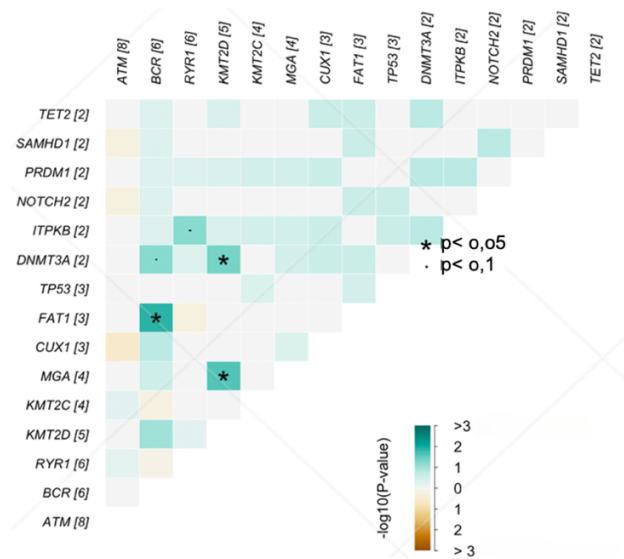


Рисунок 5 – Матрица взаимоисключающих и сопутствующих генов

Примечание: коричневым цветом обозначены взаимоисключающие мутации, зеленым – сопутствующие, [n] – частота мутаций в гене.

### Оценка влияния прогностических маркеров на течение лимфомы из клеток мантии

В ходе исследования, принимая во внимание данные проанализированной литературы, мы провели оценку влияния различных предикторов на исход и риск прогрессии заболевания в исследуемой группе.

При стратификации больных на группы риска согласно прогностическому индексу MIPiс Me OB в группе низкого и низкого–промежуточного рисков не были достигнуты, в группе высокого–промежуточного риска составила 79,3 мес. (95% ДИ: 30,8–∞ мес.), в группе высокого риска – 35 мес. (95% ДИ: 15,3–44,4 мес.). Me ВБП в группах низкого, низкого–промежуточного, высокого–промежуточного и высокого риска составили 68,2 мес. (95% ДИ: 16,9–∞), 43,1 мес. (95% ДИ: 13,1–∞), 18,3 мес. (95% ДИ: 11,2–98,9), 14,2 мес. (95% ДИ: 4,4–29,2) соответственно (Рисунок 6).

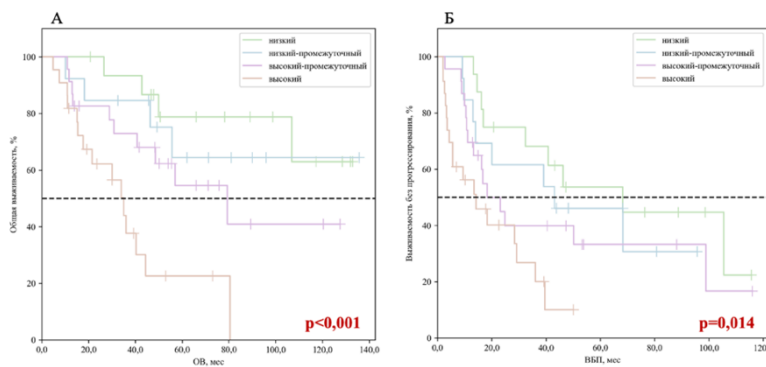


Рисунок 6 – Показатели ОБ (А) и ВБП (Б) в зависимости от стратификуции риска по MIPiс

Наличие высокого риска по прогностическому индексу MIPiс являлось предиктором, повышающим риск летального исхода (HR; 95% ДИ: 2; 1,06–3,78,  $p=0,031$ ), а также прогрессии заболевания (HR; 95% ДИ: 2,16; 1,26–3,69,  $p=0,005$ ).

В результате анализа влияния очагов экстранодального поражения на показатели выживаемости статистически значимые различия были обнаружены при поражении ЦНС. Ввиду редкой локализации и, как следствие, малой выборки пациентов, группы с вовлечением ЦНС в дебюте и рецидиве были объединены для анализа. Наличие поражения ЦНС у исследуемых пациентов являлось фактором, увеличивающим риск летального исхода (HR; 95% ДИ: 4,63; 1,78–12,1,  $p=0,002$ ). Ме ОВ в группе с поражением ЦНС составила 7,7 мес. (95% ДИ: 1,47–13,9 мес.) в группе без поражения – 95,7 мес. (95% ДИ: 62,6–133 мес.) (Рисунок 7).

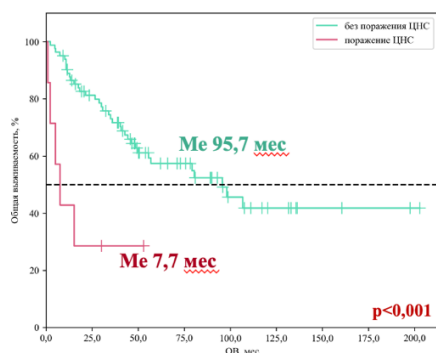


Рисунок 7 – Показатели ОВ в зависимости от поражения ЦНС

Плеоморфный/бластоидный подтип (ПБП) в проанализированной группе также оказывали негативное влияние на ОВ (HR; 95% ДИ: 2,22; 1,01–4,86,  $p=0,046$ ) и ВБП (HR; 95% ДИ: 2,61; 1,1–6,17,  $p=0,029$ ). Ме ОВ в группе классического подтипа составила 98,1 мес. (95% ДИ: 56,9–137 мес.), в группе ПБП – 36 мес. (95% ДИ: 10,9–65,8 мес.). Отмечалось снижение трехлетней ОВ в группе ПБП: 60% (95% ДИ: 32,6–87,4%) против 74,9% (95% ДИ: 69,1–92,7%) у больных с классическим вариантом (COR; 95% ДИ: 0,1; 0,01–0,83,  $p=0,033$ ). Ме ВБП в группе классического подтипа составила 39,1 мес. (95% ДИ: 18,3–57,8 мес.), в группе ПБП – 11,2 мес. (95% ДИ: 2,1–36 мес.) (Рисунок 8). Трехлетняя ВБП у пациентов с классическим вариантом равнялась 50,8% (95% ДИ: 39–62,6%), в то время как в группе с ПБП – 27,2% (95% ДИ: 6,8–53,3%), (COR; 95% ДИ: 0,16; 0,03–0,78,  $p=0,023$ ).

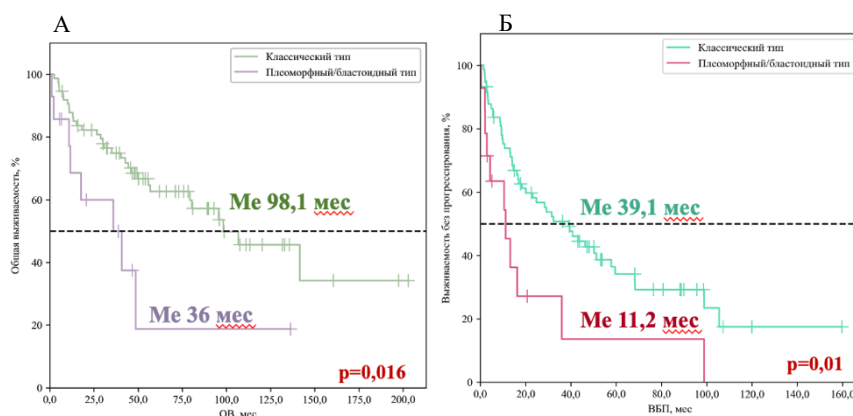


Рисунок 8 – Показатели ОВ (А) и ВБП (Б) в зависимости от гистологического варианта

Делеция *TP53/17p13* также являлась неблагоприятным предиктором в отношении ОВ (HR; 95% ДИ: 2,68; 1,38–5,19,  $p=0,004$ ) и ВБП (HR; 95% ДИ: 2,38; 1,32–4,28,  $p=0,004$ ). Ме ОВ и ВБП в группе исследуемых с делецией *TP53/17p13* составили 28,8 мес. (95% ДИ: 10,2–68,1 мес.) и 14,2 мес. (95% ДИ: 3,3–28,4 мес.), у больных без *TP53/17p13* – 106,8 мес. (95% ДИ: 55,7–∞ мес.) и 39,1 мес. (95% ДИ: 16,9–68,2 мес.) соответственно (Рисунок 9). Трехлетняя ОВ в группе с *TP53/17p13* была 80,5% (95% ДИ: 70,9–90,1%) против 43,2% (95% ДИ: 19,9–

66,5%) в группе без *TP53/17p13* (COR; 95% ДИ: 0,16; 0,05–0,52,  $p=0,002$ ). Показатели трехлетней ВБП в группе с *TP53/17p13* и без делеции составили 25,9% (95% ДИ: 8,6–47,7%) и 52,7% (95% ДИ: 40,5–64,9%) соответственно (COR; 95% ДИ: 0,24; 0,07–0,92,  $p=0,037$ ).

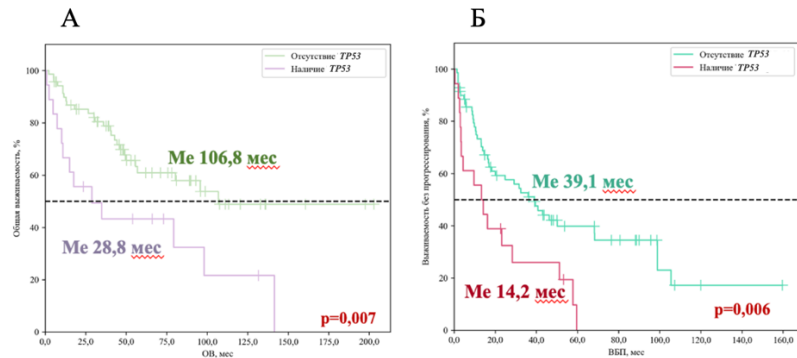


Рисунок 9 – Показатели ОВ(А) и ВБП (Б) в зависимости от делеции *TP53/17p13*

Негативное влияние как на ОВ (HR; 95% ДИ: 2,36; 1,18–4,73,  $p=0,015$ ), так и на ВБП (HR; 95% ДИ: 2,05; 1,1–3,83,  $p=0,024$ ), оказывали aberrации *MYC*. Ме ОВ и ВБП в группе с *MYC* составили 42,8 мес. (95% ДИ: 17,5–68,1 мес.) и 14,6 мес. (95% ДИ: 3,2–30,1 мес.), в группе без *MYC* – 98,1 мес. (95% ДИ: 55,7–∞ мес.) и 36 мес. (95% ДИ: 16,7–57,8 мес.) соответственно (Рисунок 10). Показатели трехлетней ОВ в группе с *MYC* и без составили 50,3% (95% ДИ: 24–76,6%) и 70,4% (95% ДИ: 59,4–81,4%) соответственно (COR; 95% ДИ: 0,27; 0,08–0,89,  $p=0,031$ ). Трехлетняя ВБП в группе с aberrацией была ниже, чем в группе без aberrаций, 30% (95% ДИ: 9,5–54,1) против 50,8% (95% ДИ: 38,8–62,7%), однако различия не были статистически значимы (COR; 95% ДИ: 0,33; 0,09–1,26,  $p=0,1$ ).

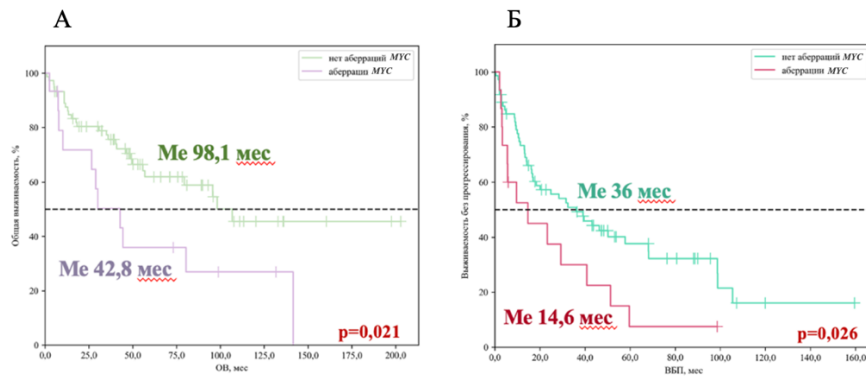


Рисунок 10 – Показатели ОВ и ВБП в зависимости от aberrаций *MYC*

Также в результате анализа было установлено, что КК является неблагоприятным фактором риска в отношении ОВ (HR; 95% ДИ: 2,54; 1,17–5,5,  $p=0,018$ ) и ВБП (HR; 95% ДИ: 2,33; 1,22–4,48,  $p=0,011$ ). В группе с КК Ме ОВ и ВБП составили 30,1 мес. (95% ДИ: 2,4–56,8 мес.) и 13,3 мес. (95% ДИ: 1,2–25,5 мес.), в группе без КК – 141 мес. (95% ДИ: 2,4–∞ мес.) и 40,8 мес. (95% ДИ: 24,6–57 мес.) соответственно (Рисунок 11). Трехлетняя ОВ у больных с КК была 45,5% (95% ДИ: 16,1–74,9%) против 79,4% (95% ДИ: 69,4–89,4) в группе без КК (COR; 95% ДИ: 0,18; 0,05–0,66,  $p=0,01$ ). В группе КК также отмечалась тенденция к снижению трехлетней ВБП: 36,4% (95% ДИ: 11,2–62,7%) против 55,6% (95% ДИ: 43,3% – 67,9%) соответственно, однако значения не были статистически значимыми (COR; 95% ДИ: 0,39; 0,1 – 1,56,  $p=0,1$ ).

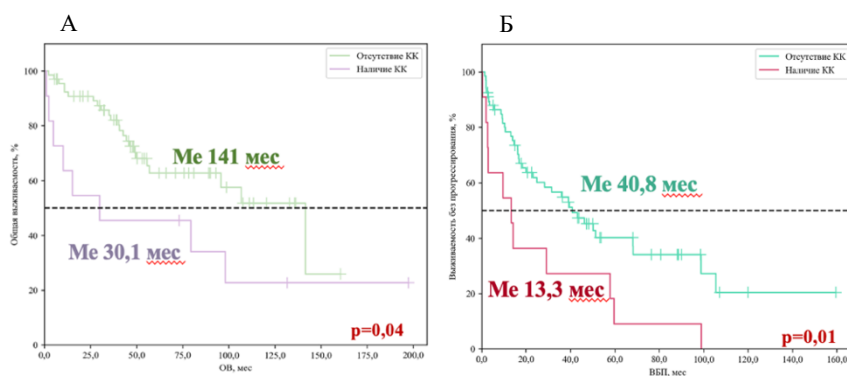


Рисунок 11 – Показатели ОВ и ВБП в зависимости от КК

Помимо вышеупомянутых факторов маркером неблагоприятного прогноза в отношении ОВ являлась РП324 (HR; 95% ДИ: 7,14; 3,5–14,6,  $p < 0,001$ ). В группе пациентов без РП324 Ме ОВ не была достигнута, у больных с РП324 Ме ОВ составила 26,6 мес. от начала наблюдения (95% ДИ: 11,6–55,7 мес.) (Рисунок 12). Трехлетняя ОВ в группе без РП324 составила 93,6% (95% ДИ: 87,1–99,7%) против 44,3% (95% ДИ: 28–60,6%) у больных с РП3, различия в группах были статистически значимыми (COR; 95% ДИ: 0,05; 0,01–0,18,  $p < 0,001$ ).



Рисунок 12 – Показатели ОВ в зависимости от РП324

Далее был проведен многофакторный регрессионный анализ Кокса с целью определения независимых маркеров неблагоприятного прогноза. Так как у 75% исследуемых с КК была выявлена делеция *TP53*, данные факторы являются сильно коррелирующими, в связи с чем в многофакторную модель не включен КК. При оценке влияния изучаемых факторов на ОВ были получены следующие результаты (Таблица 4). Различия ОВ, оцененные с помощью теста отношения правдоподобия, были статистически значимы ( $p < 0,001$ ).

Таблица 4 – Изменения рисков смерти в зависимости от влияния отдельных факторов

Фактор риска	Многофакторный анализ	
	HR; 95% ДИ	p
<b>Агрессивный гистологический подтип</b>	<b>2,61; 1,1–6,17</b>	<b>0,029</b>
Делеция <i>TP53/17p13</i>	2,62; 1,23–5,59	0,013
Аберрации <i>MYC/8q24</i>	1,5; 0,67–3,35	0,326
<b>РП324</b>	<b>5,81; 2,74–12,3</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Поражение ЦНС</b>	<b>6,12; 2,11–17,7</b>	<b>&lt;0,001</b>
Высокий риск МРІс	1,3; 0,64–2,63	0,476

Для анализа влияния факторов на ВБП в модель включены гистологический вариант, делеция *TP53/17p13*, аберрации *MYC/8q24*, высокий риск по МРІс. При оценке взаимосвязи

ВБП с описанными факторами с помощью метода регрессии Кокса были получены следующие результаты (Таблица 5). Различия ВБП, оцененные с помощью теста отношения правдоподобия, были статистически значимы ( $p < 0,001$ ).

Таблица 5 – Изменения рисков прогрессии в зависимости от влияния отдельных факторов

Фактор риска	Многофакторный анализ	
	HR; 95% ДИ	p
<b>Делеция <i>TP53/17p13</i></b>	<b>2,31; 1,21–4,4</b>	<b>0,011</b>
Аберрации <i>MYC/8q24</i>	1,86; 0,93–3,71	0,076
<b>Агрессивный гистологический подтип</b>	<b>3,16; 1,57–6,38</b>	<b>0,001</b>
Высокий риск MIP1c	1,65; 0,9–3,02	0,104

Далее была исследована прогностическая роль аберраций, обнаруженных методом NGS, выполненного у 22 пациентов. Анализ включал только те гены, мутации которых были определены у двух и более пациентов. Ме наблюдения в данной группе составила 29 (min–max 4,8–133) мес. При проведении однофакторного регрессионного анализа Кокса было обнаружено статистическое значимое влияние мутаций в гене *ATM* на исход заболевания (HR; 95% ДИ: 4,42; 1,15–17), ( $p = 0,031$ ) (Рисунок 13).

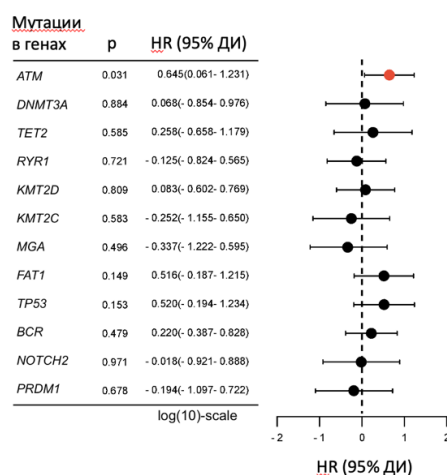


Рисунок 13 – Оценка влияния исследуемых мутаций на исход (однофакторный анализ).  
Примечание: значения отношения рисков (HR) на рисунке указаны в  $\log_{10}$ -шкале.

Ме ОБ в группе с *ATM* составила 12,9 мес. (95% ДИ 10,2–48 мес.), в группе без *ATM* – не достигнута ( $p = 0,019$ ) (Рисунок 14). Однако при проведении многофакторного анализа с учетом поправки на делецию *TP53*, мутация *ATM* теряла прогностическую значимость (HR; 95% ДИ: 3,4; 0,8–14,5,  $p = 0,099$ ).

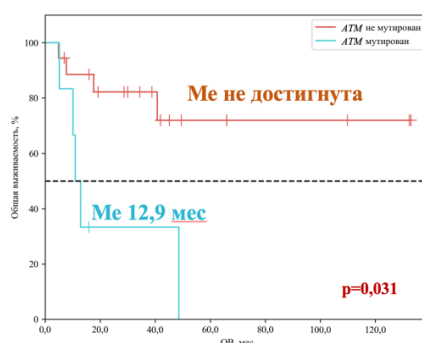


Рисунок 14 – Показатели ОБ в зависимости от мутаций в гене *ATM*

Согласно полученным результатам молекулярно- и цитогенетических исследований пациенты были стратифицированы в группы риска согласно прогностическому индексу MIP1 genetic, который включает aberrации гена *TP53*, мутации в гене *KMT2D*, высокий риск согласно индексу MIP1c. Низкий риск был констатирован у 36,4% (8) исследуемых, промежуточный – у 36,4% (8), высокий риск – у 27,2% (6). Показатели ОВ в различных группах риска имели статистически значимые различия ( $p=0,04$ ). Ме ОВ в группе низкого риска не была достигнута, в группе промежуточного риска составила 40,7 мес. (95% ДИ: 7,7–∞ мес.), в группе высокого риска – 17,6 мес. (95% ДИ: 4,8–∞ мес.) (Рисунок 15).

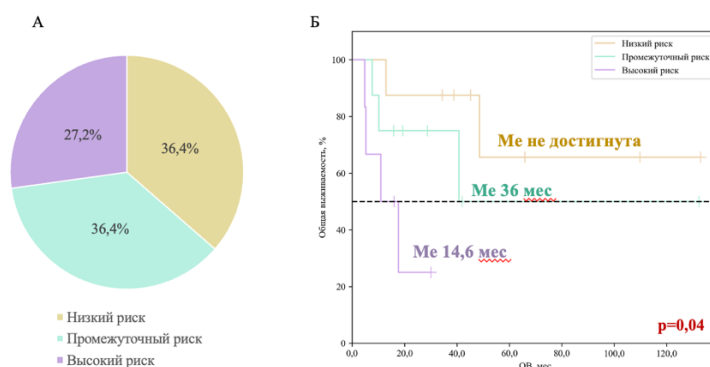


Рисунок 15 – Стратификация согласно MIP1 genetic (А) и показатели ОВ в группах риска (Б)

### Оценка эффективности терапии лимфомы из клеток мантии

При оценке эффективности терапии группы исследуемых разделены с учетом результата анализа влияния прогностических маркеров на летальный исход и прогрессирование заболевания. Так как независимыми предикторами неблагоприятного прогноза в отношении ОВ и ВБП являлись делеция *TP53* и ПБП, показатели выживаемости в данных подгруппах пациентов были проанализирована отдельно.

В качестве терапии 1 линии в исследуемой группе применялись следующие режимы: НДТ, ВДТ терапия с аутоТГСК. В группе больных с классическим вариантом без aberrаций *TP53* количество пациентов с НДТ составило 57,7% (30), ВДТ+аутоТГСК – 42,3% (22). Частота ОО и ПО у пациентов с НДТ составила 79% и 50%, в группе ВДТ+аутоТГСК – 100% и 78% соответственно.

При анализе ОВ и ВБП в данной группе больных в зависимости от варианта терапии 1 линии были получены статистически значимые различия. Применение ВДТ+аутоТГСК улучшало прогноз пациентов как в отношении ОВ (HR; 95% ДИ: 0,38; 0,16–0,89,  $p=0,025$ ), так и ВБП (HR; 95% ДИ: 0,43; 0,23–0,8,  $p=0,008$ ). Ме ОВ и ВБП были не достигнуты. В подгруппе с НДТ Ме ОВ составила 80,5 мес. (95% ДИ: 26,8–134 мес.), Ме ВБП – 24,8 мес. от начала наблюдения (95% ДИ: 4,1–45,6 мес.) (Рисунок 16).

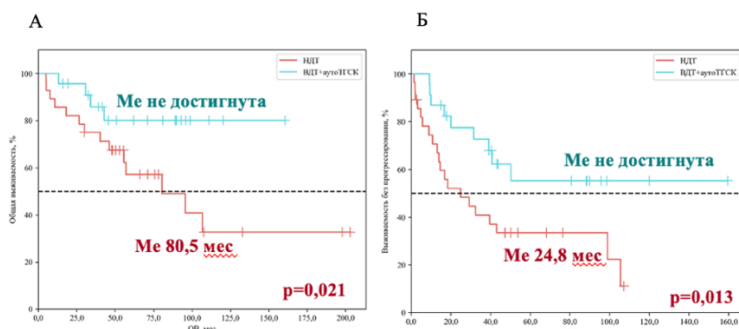


Рисунок 16 – Показатели ОВ (А) и ВБП (Б) в зависимости от варианта терапии 1 линии у больных с классическим вариантом без aberrаций *TP53*

У пациентов с делецией *TP53* и бластоидным подтипом статистически значимые различия в зависимости от варианта терапии не были выявлены как в отношении ОВ ( $p=0,07$ ), так и в отношении ВВП ( $p=0,089$ ).

Определенным преимуществом у больных с ЛКМ обладает проведение поддерживающей терапии (ПТ). При оценке дискриминационной способности летального исхода и прогрессирования заболевания от длительности поддерживающей терапии с помощью ROC-анализа были получены следующие результаты. Длительность поддерживающей терапии являлась статистически значимым предиктором исхода заболевания ( $AUC=0,67$ ; 95% ДИ: 0,53– 0,8,  $p=0,031$ ). Пороговое значение длительности поддерживающей терапии в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 24 мес. Чувствительность и специфичность полученной прогностической модели составили 83,3% и 57,1%, соответственно. Длительность поддерживающей терапии являлась статистически значимым предиктором прогрессии ( $AUC=0,82$ ; 95% ДИ: 0,71–0,93,  $p<0,001$ ). Пороговое значение длительности поддерживающей терапии в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составило 24 мес. Чувствительность и специфичность полученной прогностической модели составили 83,3% и 65,5%, соответственно. Таким образом, в результате анализа установлено, что проведение ПТ менее 24 мес. повышает риск прогрессирования заболевания и летального исхода.

Комплексный анализ клинико-морфологических и генетических факторов позволил разработать алгоритм диагностики терапии пациентов с ЛКМ, являющихся кандидатами для проведения ВДТ (Рисунок 17).

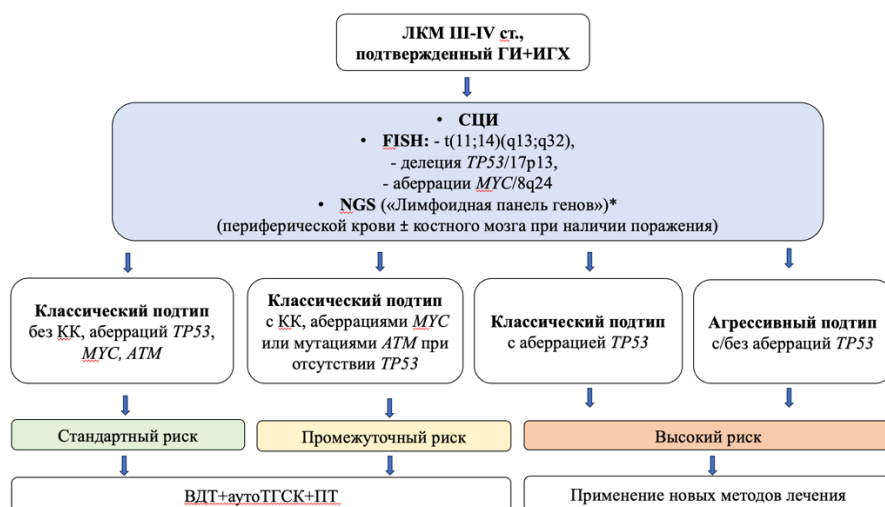


Рисунок 17 – Алгоритм диагностики и терапии некоморбидных пациентов с ЛКМ III-IV ст. Примечание: \* – исследования, дополняющие комплексную диагностику пациентов.

Так как в нашем исследовании большая часть больных была включена ретроспективно, нам не удалось провести сравнение с учетом ТТ в 1 линии, что бесспорно представляет особый интерес. Однако не меньше вопросов вызывают пациенты с прогрессией заболевания после ИХТ, для которых выбор тактики терапии 2 линии может быть затруднительным. Открытым остается вопрос о выборе между ВДТ с аутоТГСК и таргетной терапией для группы больных в прогрессии ЛКМ, которым не проводилась аутоТГСК в 1-й линии. В связи с этим мы проанализировали небольшую когорту больных ( $N=27$ ), включенных в исследование, с прогрессией ЛКМ, не получившим аутоТГСК в 1 линии, и сравнили 2 варианта лечения по эффективности, а также частоте развития нежелательных явлений.

При сравнении ОВ и ВБП у пациентов, получивших ВДТ+аутоТГСК и ТТ, показатели оказались сопоставимы, статистической разницы обнаружено не было ( $p=0,5$  и  $p=0,6$  соответственно) (Рисунок 18).

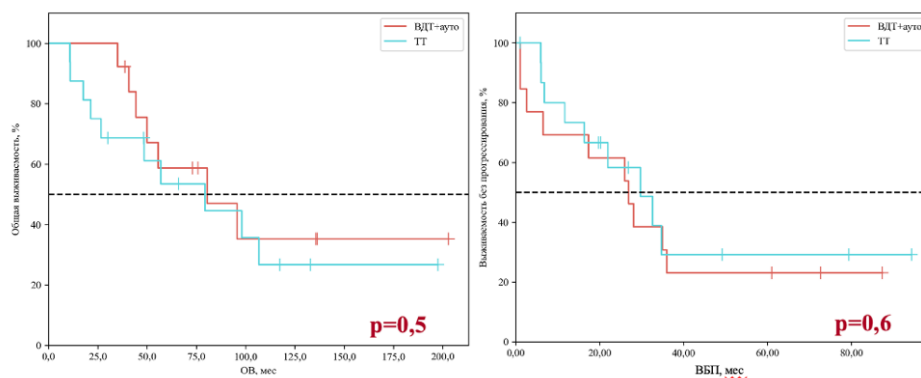


Рисунок 18 – Показатели ОВ (А) и ВБП (Б) в зависимости от варианта терапии 2 линии

При сопоставлении частоты развития нежелательных явлений 3–4 степени (согласно Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTC AE) v. 5.0) в данных подгруппах, были получены статистически значимые различия (Таблица 10).

Таблица 6 – Сравнение частоты нежелательных явлений у пациентов с ВДТ+аутоТГСК и ТТ

Вид НЯ	Вид терапии 2 линии		p	ОШ; 95% ДИ
	ВДТ+аутоТГСК (n=13)	ТТ (n=16)		
<b>Все НЯ 3–4 степени</b>	<b>10 (76,9)</b>	<b>5 (31,3)</b>	<b>0,025</b>	<b>0,14; 0,03–0,72</b>
Анемия 3 ст.	2 (16,7)	0 (0)	0,175	0,13; 0,01–2,92
Тромбоцитопения 3–4 ст.	6 (46,2)	2 (12,5)	0,092	0,17; 0,03–1,05
<b>Нейтропения 3–4 ст.</b>	<b>9 (69,2)</b>	<b>4 (25)</b>	<b>0,027</b>	<b>0,15; 0,03–0,76</b>
<b>ФН</b>	<b>7 (53,8)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>0,001</b>	<b>0,03; 0,01–0,53</b>
Осложнения со стороны ССС	3 (23,1)	0 (0)	0,087	0,1; 0,01–2,07

Примечания: НЯ – нежелательные явления, ФН – фебрильная нейтропения, ССС – сердечно-сосудистая система.

## ВЫВОДЫ

- Лимфома из клеток мантии характеризуется генетической гетерогенностью с высокой частотой встречаемости характерных aberrаций: транслокация  $t(11;14)$  выявлялась у 83% исследуемых пациентов, комплексный кариотип – у 15,2%, aberrаций  $MYC/8q24$  – 16,9%, делеции  $TP53/17p13$  – 20,2%. По результатам NGS наиболее частой аномалией при лимфоме из клеток мантии является мутация в гене *ATM*, обнаруженная у 36% больных.
- Делеция  $TP53/17p13$  при лимфоме из клеток мантии ассоциирована с развитием клинической спленомегалии ( $p=0,017$ ) и высоким риском по прогностическому индексу MIPIC ( $p<0,001$ ), aberrации  $MYC/8q24$  – с поражением костного мозга ( $p=0,019$ ), комплексный кариотип – с тромбоцитопенией ( $p=0,023$ ) и высоким риском по MIPIC ( $p=0,026$ ). Лейкоцитоз достоверно чаще выявлялся как у пациентов с делецией  $TP53/17p13$  ( $p=0,016$ ), так и у больных с комплексным кариотипом ( $p=0,032$ ) и aberrациями  $MYC/8q24$  ( $p=0,004$ ).
- По результатам однофакторного анализа негативное влияние на общую выживаемость оказывали агрессивный гистологический подтип ( $p=0,046$ ), высокий риск по прогностической шкале MIPIC ( $p=0,031$ ), поражение центральной нервной системы ( $p=0,002$ ), делеция  $TP53/17p13$  ( $p=0,004$ ), ранняя прогрессия заболевания ( $p<0,001$ ), aberrации  $MYC/8q24$

( $p=0,015$ ), комплексный кариотип ( $p=0,018$ ). В отношении беспрогрессивной выживаемости значимыми оказались агрессивный гистологический подтип ( $p=0,012$ ), делеция *TP53/17p13* ( $p=0,004$ ), комплексный кариотип ( $p=0,011$ ), aberrации *MYC/8q24* ( $p=0,024$ ). По результатам многофакторного анализа значимыми для общей и беспрогрессивной выживаемости оказались агрессивный гистологический подтип ( $p=0,029$ ,  $p=0,001$ ), делеция *TP53/17p13* ( $p=0,013$ ,  $p=0,011$ ).

4. Включение секвенирования следующего поколения в первичный алгоритм диагностики лимфомы из клеток мантии позволило выявить новый потенциальный неблагоприятный прогностический маркер – мутацию в гене *ATM* ( $p=0,031$ ) – который оказывал неблагоприятное влияние на ОВ. Также полученные данные о мутационном ландшафте лимфомы из клеток мантии позволили выполнить стратификацию риска с использованием нового прогностического индекса *MIP1 genetic*, согласно которому пациенты с высокой группой риска имели худшие показатели общей выживаемости ( $p=0,04$ ).

5. В результате комплексного анализа клинических и биологических характеристик лимфомы из клеток мантии независимыми прогностическими маркерами, влияющими на эффективность терапии, оказались aberrации *TP53* и бластоидный/плеоморфный вариант, что делает их определяющими факторами при выборе лечебной тактики. Применение высокодозной химиотерапии с аутологичной трансплантацией стволовых клеток и последующей поддерживающей терапией улучшает общую ( $p=0,021$ ) и беспрогрессивную ( $p=0,013$ ) выживаемость у больных без aberrаций *TP53* с классическим подтипом, в то время как пациенты с *TP53* и бластоидным/плеоморфным подтипом требуют других подходов с внедрением новейших вариантов лечения уже в 1 линии терапии лимфомы из клеток мантии.

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При лимфоме из клеток мантии рекомендовано проведение комплексной диагностики, включающей стандартное цитогенетическое и FISH-исследование, с целью подтверждения диагноза определением высокоспецифичной транслокации  $t(11;14)(q13;q32)$ , а также выявления aberrаций, обуславливающих неблагоприятный прогноз (aberrаций генов *TP53*, *MYC*, комплексный кариотип).
2. Применение секвенирования следующего поколения позволит определить более точную характеристику опухолевого клона, а также выявить новые неблагоприятные прогностические маркеры, характерные для лимфомы из клеток мантии.
3. Внедрение прогностического индекса *MIP1 genetic* рекомендовано наряду с применением *MIP1c* для стратификации больных на группы риска с учетом наиболее неблагоприятного прогностического предиктора – aberrаций гена *TP53*, а также мутации *KMT2D*.
4. При лимфоме из клеток мантии III–IV стадии с классическим гистологическим вариантом без aberrаций *TP53* применение в 1 линии высокодозной химиотерапии с аутологичной трансплантацией стволовых клеток позволит улучшить показатели выживаемости в сравнении с менее интенсивными химиотерапевтическими режимами.
5. Использование таргетной терапии у пациентов с лимфомой из клеток мантии во 2 линии может позволить достичь сопоставимых с высокодозной терапией результатов и избежать развития значимой токсичности.

### ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Полученные результаты подчеркивают необходимость дальнейшего изучения маркеров прогноза лимфомы из клеток мантии. Актуальными для дальнейшего изучения остаются следующие вопросы:

1. Получение новых данных о влиянии мутаций в гене *ATM*, а также в генах *KMT2D*, *KMT2C*, *BCR*, *FAT1* на клиническое течение и прогноз лимфомы из клеток мантии.
2. Сравнение частоты встречаемости мутаций в дебюте и при прогрессии лимфомы из клеток мантии с целью выявления дополнительных факторов рефрактерного течения.

3. Дальнейшее накопление и анализ данных, полученных методом секвенирования следующего поколения, с целью поиска причин устойчивости опухолевого клона к таргетной терапии.
4. Разработка персонифицированного подхода к терапии больных с лимфомой из клеток мантии на основании молекулярно-цитогенетических характеристик.

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

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

1. Клеина, Е.В. Результаты исследования цитогенетических и молекулярно-генетических особенностей у пациентов с мантийноклеточной лимфомой / Е.В. Клеина, С.В. Волошин, Н.Ю. Семенова [и др.] // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2023. – Т. 9, № 3. – С. 239–266.
2. Клеина, Е.В. Роль aberrаций гена *MYC/8q24* в генетической диагностике мантийноклеточной лимфомы / Е.В. Клеина, С.В. Волошин, Н.Ю. Семенова [и др.] // Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. – 2023. – Т. 24, № 2. – С. 1237–1257.
3. Куневич, Е.О. Ингибиторы тирозинкиназы Брутона в лечении рецидивов мантийноклеточной лимфомы с поражением ЦНС (два клинических наблюдения и обзор литературы) / Е.О. Куневич, Н.Н. Немсверидзе, М.А. Михалева [и др.] // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2025. – Т. 18, № 2. – С.184–196.
4. Немсверидзе, Н.Н. Молекулярно-генетические характеристики и патогенетические механизмы лимфомы из клеток мантии: когортное исследование / Н.Н. Немсверидзе, Е.В. Мотыко., А.Н. Кириенко [и др.] // Казанский медицинский журнал. –2025. – Т. 106, № 6. С. 898-908

#### **В прочих источниках**

5. Немсверидзе Н.Н. Определение особенностей молекулярно-генетического профиля пациентов с лимфомой из клеток мантии / Н.Н. Немсверидзе, Е.В. Клеина, Е.О. Куневич [и др.] // Трансфузиология. – 2024. – Т. 24, № 2, прил. 1 – С. 176–190.
6. 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.
7. Nemstsveridze N. Molecular genetic features of mantle cell lymphoma/ N. Nemstsveridze, E. Motyko, A. Kirienko [et al.] // HemaSphere. – 2025. – Vol. 9, Suppl. 1. – P. 1642–1643.
8. Kunevich, E. A clinical case of successful use of Ibrutinib in relapsed mantle cell lymphoma (MCL) with CNS involvement and results of a meta-analysis / E. Kunevich, S. Samarina, M. Mikhaleva [et al.] // HemaSphere. – 2025. – Vol. 9, Suppl. 1. – P. 1645–1646.
9. Nemstsveridze N. Genetic Prognostic Markers in Mantle Cell Lymphoma / N. Nemstsveridze, E. Motyko, A. Kirienko [et al.] // Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia. – 2025. – Vol. 25, Suppl. 1. – P. 856–857.
10. Немсверидзе Н.Н. Молекулярно-генетические факторы резистентности мантийноклеточной лимфомы / Н.Н. Немсверидзе, Е.В. Мотыко, А.Н. Кириенко [и др.] // Трансфузиология. – 2025. – Т. 26, № 2, прил. 1. – С. 55–56.
11. Немсверидзе Н.Н. Генетические факторы прогноза лимфомы из клеток мантии / Н.Н. Немсверидзе, Е.В. Мотыко, А.Н. Кириенко [и др.] // Клеточная терапия и трансплантация. – 2025. – Т. 14, прил. 2. – С. 76–77.

### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АутоТГСК – аутологичная трансплантация стволовых клеток  
 ВБП – выживаемость без прогрессирования  
 ДИ – доверительный интервал  
 ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИБТК – ингибитор тирозинкиназы Брутона  
ИГХ – иммуногистохимическое исследование  
ИХТ – иммунохимиотерапия  
КМ – костный мозг  
ЛКМ – лимфома из клеток мантии  
НХЛ – неходжкинская лимфома  
НЯ – нежелательное явление  
ОВ – общая выживаемость  
ОР – относительный риск  
ОШ – отношение шансов  
ПЗ – прогрессирование заболевания  
ПК – периферическая кровь  
ПО – полный ответ  
ПЭТ – позитронно–эмиссионная томография  
РПЗ – ранняя прогрессия заболевания  
СЦИ – стандартное цитогенетическое исследование  
ТТ- таргетная терапия  
ЦНС – центральная нервная система  
ЧО – частичный ответ  
ЧОО – частота общего ответа  
AUC – area under curve (площадь под кривой)  
CD – cluster of differentiation (кластер дифференцировки)  
ECOG – Eastern Cooperative Oncology Group (Восточная Кооперативная Онкологическая  
FISH – fluorescence in situ hybridization (флюоресцентная in situ гибридизация)  
IQR – interquartile range (интерквартильный размах)  
MIPic – Mantle Cell Lymphoma International Prognostic Index combined (комбинированный  
международный прогностический индекс из клеток мантии)  
MIPi genetic – Mantle Cell Lymphoma International Prognostic Index genetic (генетический  
международный прогностический индекс из клеток мантии)  
NGS – next generation sequencing (секвенирование следующего поколения)  
OR – odds ratio (отношение шансов)  
ROC – receiver operating characteristic (рабочая характеристика приемника)  
SD – стандартное отклонение  
SPD – sum of the product of perpendicular diameters (сумма произведений  
перпендикулярных диаметров)  
TMB – tumor mutation burden (опухолевая мутационная нагрузка)  
VAF – variant allele frequency (частота встречаемости аллеля)