

На правах рукописи

ЧЕБЫКИНА ДАРЬЯ АЛЕКСАНДРОВНА

**ВЛИЯНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РИСКА
НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ
С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ**

3.1.28 – Гематология и переливание крови

3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России)

Научные руководители:

Сидоркевич Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, доцент

Мартынкевич Ирина Степановна – доктор биологических наук

Официальные оппоненты:

Менделеева Лариса Павловна – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный работник здравоохранения Российской Федерации, заведующая отделением химиотерапии парапротеинемических гемобластозов, руководитель управления по научной и образовательной работе Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения 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

Ведущая организация:

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы».

Защита диссертации состоится «___» _____ 202__ 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 научной библиотеке ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России и на сайте www.bloodscience.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 202__ года.

Ученый секретарь

диссертационного совета 68.1.007.01

доктор медицинских наук

Глазанова Татьяна Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Множественная миелома (ММ) характеризуется агрессивным течением и масштабной распространенностью среди онкологических заболеваний. ММ составляет примерно 1% случаев всех опухолевых заболеваний и занимает вторую позицию по распространённости среди гематологических опухолей, имея удельный вес порядка 12% (Dimopoulos M.A. et al., 2016). В России уровень заболеваемости на 2024 г. достигает значения 5364 новых случая ММ в год, что соответствует частоте около 3,67 на 100 тысяч населения (Каприн А.Д. и соавт., 2024). По данным ряда исследований, за последние 25 лет заболеваемость ММ выросла более чем на 120% (Cowan A.J., 2016). Чаще всего ММ встречается у пациентов старше 65 лет (Blimark S.H. et al., 2018). Продолжительность жизни больных с ММ может колебаться от нескольких месяцев до многих лет. За последнее десятилетие вопросы терапии и диагностики ММ значительно изменились, что позволило добиться улучшения показателей выживаемости (Blommestein H.M. et al., 2019). Использование мультиомиксных молекулярно-генетических исследований с применением технологии NGS позволило получить данные, которые способствовали созданию новых лекарственных средств и протоколов лечения (Binder M. et al., 2021). Тем не менее, основу молекулярной диагностики при ММ по-прежнему составляют цитогенетика и флюоресцентная *in-situ* гибридизация (fluorescent *in-situ* hybridization, FISH), которые занимают ведущие позиции в повседневной практике. Внедрение методов NGS в рутинное использование пока остается недостаточно масштабным.

Почти у всех пациентов, включая тех, кто прошёл аутологичную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК), возникают рецидивы. Особенно сложная ситуация наблюдается у больных с высоким генетическим риском, для которых существующие методы терапии пока не обеспечивают существенного улучшения выживаемости (Chalopin T. et al., 2021).

В рутинной практике чаще всего используют системы стадирования Durie и Salmon и Международную систему стадирования (ISS). Однако эти стратификационные шкалы не учитывают важные цитогенетические и молекулярно-генетические особенности опухолевого клона, которые играют решающую роль в понимании клинического фенотипа болезни и прогнозировании результатов терапии (Mikhael J.R. et al., 2013). Анализ цитогенетического профиля включен в систему стратификации риска R-ISS (Palumbo A. et al., 2014). В 2022 г. были опубликованы обновлённые прогностические системы R2-ISS и MASS, в которых определённым хромосомным абберациям и лабораторным данным присваиваются баллы для

последующей верификации категории риска (D'Agostino M., 2022). Согласно системе стратификации риска и риск-адаптированной терапии миеломы клиники Мейо (mSMART), к цитогенетическим аномалиям высокого риска относят амплификацию 1q21 (+1q21), делецию 17p (del(17p)), транслокации t(4;14), t(14;16), t(14;20) (Garcia-Gomez A. et al., 2021). Однако современные клинические рекомендации по лечению ММ не предусматривают дифференцированного подхода к выбору терапии в зависимости от выявления специфических хромосомных aberrаций (Ojo A.S., 2023). Кроме того, развитие лекарственной резистентности напрямую связано с взаимодействиями опухолевых клеток с их микроокружением, включая не только растворимые регуляторные молекулы, выделяемые в строме, но и прямые клеточные контакты с элементами костномозговой ниши (Семенова Н.Ю. и соавт., 2020).

Следует отметить, что тяжелый коморбидный фон пациентов способствует увеличению осложнений от лечения, частоте повторных госпитализаций, а также повышает вероятность ранней смерти и общей смертности, независимо от прочего комплекса факторов. Среди множества шкал коморбидности ни один из общепринятых инструментов не обладает специфической направленностью на пациентов с ММ (Engelhardt M., 2017). Несмотря на значительный объем публикаций, в современных условиях по-прежнему остро стоит задача разработки стратификационных инструментов, которые бы обеспечивали более точное распределение пациентов с ММ на группы риска, что определяет необходимость в проведении дальнейших исследований.

Степень разработанности темы исследования

За последнее десятилетие опубликовано немало научных исследований, посвященных анализу эффективности различных терапевтических подходов при множественной миеломе. Однако данных, основанных на реальных условиях клинической практики, сравнительно немного (60 публикаций). Рассмотрев данные международной системы поиска pubmed.gov с 2016 по 2026 г., можно отметить, что значению секвенирования следующего поколения при множественной миеломе посвящено 130 статей, особенностям микроокружения – 155, 10 работ посвящено прогностической значимости клеточного состава костного мозга. В анализируемый временной промежуток на платформе elibrary.ru можно обнаружить относительно небольшое количество публикаций, которые посвящены влиянию таких прогностических факторов как генетические aberrации, сопутствующие заболевания иммунофенотипические характеристики и минимальная остаточная болезнь (МОБ). При этом детальная оценка молекулярно-генетического ландшафта встречается лишь в единичных работах.

Цель исследования

Установить наиболее значимые клинические и генетические факторы риска, влияющие на эффективность терапии множественной миеломы.

Задачи исследования

1. Изучить влияние клинических факторов риска на течение заболевания, прогноз и эффективность терапии у пациентов с множественной миеломой.
2. Определить значение статуса клеток микроокружения костного мозга для выбора оптимального режима терапии множественной миеломы.
3. Исследовать мутационный статус генов, включая гены метилирования ДНК, у пациентов с множественной миеломой, изучить их значение и взаимосвязь с клиническими параметрами и стандартными прогностическими факторами.
4. Разработать алгоритм персонифицированной терапии с учетом наиболее значимых клинических и генетических факторов течения множественной миеломы.

Научная новизна

В настоящем исследовании впервые:

- установлено влияние наиболее значимых клинических факторов риска на особенности течения заболевания. Установлено, что возраст ($\geq 73,5$ лет) и статус ECOG (ECOG 3) являются неблагоприятными прогностическими факторами риска;
- впервые проведен комплексный анализ генетического ландшафта у пациентов с ММ с применением методов секвенирования по Сэнгеру и NGS. Показана взаимосвязь выявленных мутаций с клиническими характеристиками заболевания. Мутации в генах *NOTCH1* и *ATM*, *FAT1*, *NRAS* являются независимыми биомаркерами неблагоприятного прогноза ММ;
- определен комплекс чувствительных маркеров микроокружения костного мозга, влияющий на эффективность терапии пациентов с множественной миеломой;
- впервые установлена пороговая величина мутационной опухолевой нагрузки (ТМВ >5 мутаций/Мб) у пациентов с множественной миеломой, позволяющая прогнозировать течение заболевания;
- предложен алгоритм персонифицированной терапии, основанный на данных клинического течения, анализе геномного профиля и маркеров микроокружения.

Теоретическая и практическая значимость работы

Определена распространенность мутаций в генах группы больных ММ с помощью метода NGS. Результаты, полученные в исследовании, расширяют существующие знания о частоте и разнообразии мутаций в генах, связанных с ММ, а также подчеркивают их

значение для прогноза заболевания. Использование технологии NGS подтвердило свою эффективность в разработке персонализированной диагностики ММ, что способствует точному распределению пациентов по категориям риска и оптимизации лечебных стратегий. Результат исследования молекулярных механизмов взаимодействия опухолевых клеток с микроокружением позволил определить новые потенциальные биомаркеры для таргетного лекарственного воздействия. Реализация комплексного анализа для определения наиболее значимых прогностических маркеров дает возможность проведения более корректной стратификации, что позволит оптимизировать терапевтические стратегии.

Методология и методы работы

В соответствии с данными литературы был подобран комплекс методологических подходов, включающий клинические, цитоморфологические, иммуногистохимические (ИГХ) и молекулярно-генетические исследования. Для анализа генетического профиля проведено стандартное цитогенетическое исследование, флуоресцентная гибридизация *in situ* и секвенирование следующего поколения. При исследовании костномозгового микроокружения применялись культуральные методы. В рамках оценки значимости полученных данных были использованы статистические методы анализа.

Положения, выносимые на защиту

1. Наиболее значимыми клиническими факторами, влияющими на эффективность терапии, являются возраст, ECOG-статус и наличие инфекционных осложнений.
2. Совокупность признаков в культурах мезенхимальных стромальных клеток костного мозга, включающая низкую пролиферативную активность, высокое содержание α -SMA+/ β -gal+ клеток, снижение остеогенного потенциала на фоне отсутствующей или минимально повышенной экспрессии WNT10B, WNT13, WNT14 и WNT15, свидетельствует о формировании в костном мозге дисфункционального микроокружения и данный маркерный профиль может рассматриваться в качестве потенциального предиктора неудовлетворительного ответа на терапию.
3. Мутационный ландшафт является комплексным у пациентов с множественной миеломой, что подтверждается выявлением мутированных генов (*NOTCH1* и *ATM*, *FAT1*), высокой мутационной опухолевой нагрузкой, а наличие мутированного статуса генов метилирования ДНК (*DNMT3A*, *TET2*) не влияет на формирование структуры ответа на терапию и показатели выживаемости пациентов с множественной миеломой.
4. Алгоритм, включающий анализ клинических данных, микроокружения костного мозга, мутационного статуса и мутационной нагрузки, позволяет подобрать эффективную персонализированную терапию.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов исследования определяется использованием актуальных технологий сбора и анализа информации, а также достаточным объемом выборки – 153 пациента с ММ, получавших современное противоопухолевое лечение. Для решения поставленных задач были применены информативные методики исследования, обработка полученных результатов проведена с применением параметрических и непараметрических методов статистического анализа. Выводы диссертационной работы доказательны и логически взаимосвязаны с результатами работы.

Ключевые теоретические и практические положения диссертации были представлены в качестве устных докладов на российских и международных конференциях: «Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии» (Санкт-Петербург, 2024); VII Международный форум онкологии и радиотерапии (Москва, 2024); Мемориальная микологическая конференция Национальной академии микологии (Москва, 2025); IV Научно-практическая конференция с международным участием «Инфекции в гематологии и трансплантации костного мозга» (Санкт-Петербург, 2025); VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Генетика опухолей кроветворной системы – от диагностики к терапии» (Санкт-Петербург, 2025); Лимфорум (Москва, 2025); IV научно-практическая конференция молодых ученых (Санкт-Петербург, 2025).

Данные, полученные в ходе исследования, были представлены в виде тезисов на российских и международных конференциях и опубликованы в журналах и сборниках V Московской международной школы молодых ученых по гематологии им. С.П. Боткина (2024); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии» (2024); VII Конгресса гематологов России и IV конгресса трансфузиологов России (2024); ЕНА2025 Congress (Милан, 2025); SOHO Congress (Хьюстон, 2025.); IV Научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии» (2025); I Конгресса Национального общества трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, генной и клеточной терапии (2025).

По результатам исследования опубликовано 13 печатных работ, в том числе 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ. Подана заявка на получение патента РФ на изобретение № 2025122978/14(054033) «Способ лечения множественной миеломы» от 19.08.2025.

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 практическую и научно-исследовательскую работу Центра клеточной и молекулярной патологии, клинического отделения гематологии, химиотерапии и трансплантации костного мозга с блоком интенсивной терапии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России.

Личный вклад автора

Личный вклад автора состоит в проведении планирования исследования, анализе литературных и клинических данных, сборе анамнеза и ранее проведенных исследований, выполнении диагностических манипуляций (аспирационная и трепанобиопсия костного мозга), заборе материала для проведения молекулярно-цитогенетических исследований, его подготовке и дальнейшем анализе полученных результатов. Автором проводилось лечение включенных в исследование пациентов посредством назначения стандартных режимов химиотерапии и современных таргетных препаратов. Создана электронная база данных, проведён комплексный анализ и систематизация полученных результатов исследования. На их основе сформулированы ключевые выводы, а также подготовлены материалы для последующих публикаций.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 125 страницах машинописного текста и состоит из введения, глав обзора литературы, описания методологии и методов исследования, собственных результатов исследования, заключения и выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Список литературы включает 217 источников литературы, в том числе 19 на русском и 198 на иностранных языках. Работа содержит 31 рисунок и 19 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Характеристика исследуемой когорты

В исследование включено 153 пациента с ММ, наблюдавшихся в период с 2011 по 2025 гг. в клинике ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России. Критерием включения был возраст старше 18 лет. Медиана возраста участников на момент установления диагноза составила 62 года, при этом диапазон возрастов варьировался от 35 до 90 лет.

Средний возраст участников исследования составил 62 года (95% ДИ: 35,0-90,0). В исследуемой когорте было зарегистрировано 78 пациентов женского пола (51,0%) и 75 пациентов мужского пола (49,0%). Распределение по гендерному признаку равномерно, соотношение составило 1:1. Продолжительность периода наблюдения в среднем составила 32,8 мес. Максимальная длительность мониторинга достигла 13 лет.

При анализе функционального статуса по шкале ECOG данные удалось оценить у 144 пациентов (96,6% от общей численности когорты). Медиана данного показателя составила один балл. В подгруппе пациентов с оцененным функциональным статусом было зарегистрировано 15 случаев (10,4%) с показателем ECOG, равным или превышающим два балла, включая 3 пациентов с ECOG, соответствующим трем баллам.

Среди всех включенных в исследование пациентов большинство составляли лица со II стадией по системе ISS – 32,7% от общего числа участников (n=50). Кроме того, 18,3% (n=28) были отнесены к группе высокого цитогенетического риска согласно классификации mSMART3.0. Общая характеристика группы представлена в Таблице 1.

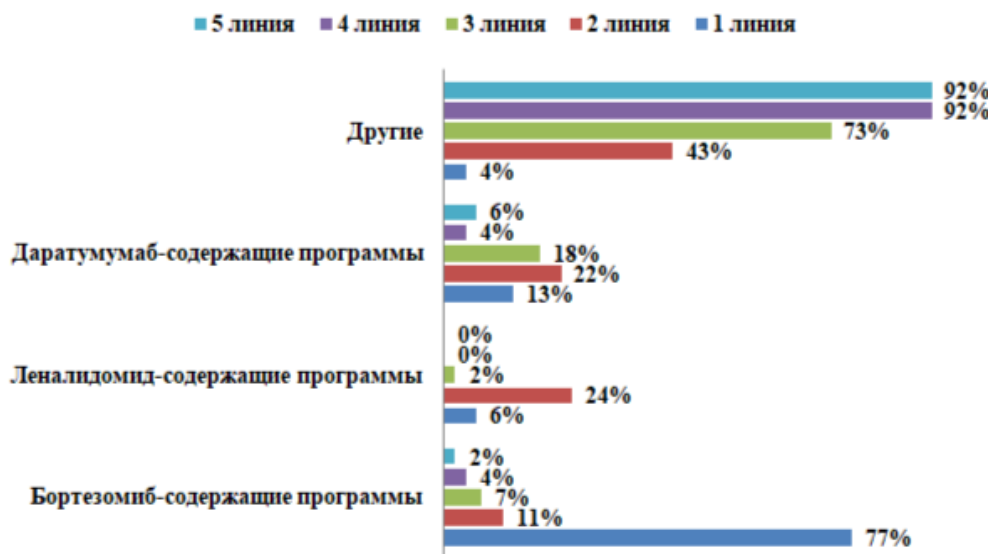
Таблица 1 – Общая характеристика пациентов с ММ

Характеристика	Всего (n=153)
Пол: женский	78 (51,0%)
Пол: мужской	75 (49,0%)
Возраст	62 (35-90) года
ISS: I стадия	43 (28,3%)
ISS: II стадия	50 (32,9%)
ISS: III стадия	60 (38,8%)
Цитогенетический риск, стандартный/высокий, mSMART 3.0	
Группа стандартного риска	110 (71,9%)
Группа высокого риска	43 (28,1%)
АутоТГСК проведена	81 (52,9%)
Без аутоТГСК	72 (47,1%)

Исследование хромосомных перестроек методом FISH было выполнено у 147 пациентов, aberrации выявлены у 61/147 (41,9%) человек. Наиболее часто определяемыми aberrациями были: *CKS1B/1q21*, выявленная у 28 (19,0%) пациентов, *IGH/14q32* у 26 (17,7%) пациентов и *DLEU/13q14.2* у 24 (16,3%) пациентов.

Секвенирование следующего поколения (NGS) было выполнено у 45 пациентов (29,4%). При проведении NGS выявлено 500 мутаций генов; 2,0% мутаций (n=10) – вероятно патогенные, 1,2% мутаций (n=6) – патогенные, большинство выявленных мутаций были с неизвестным клиническим значением 66,4% (n=332). Наибольшая частота мутаций отмечалась в генах *KMT2C* – 50%, *KMT2D* – 50%, *CREBBP* – 31%, *NOTCH2* – 31%, *GNAS* – 23%, *FAT1*, *ITPKB* и *KDR* – по 19%, *ATM* – 15%, *ARID1A* – 12%.

В качестве терапии первой линии преобладали бортезомиб-содержащие режимы: терапия по протоколу CVD была проведена у 91 (58%) пациентов, VD – у 21 (14%), VMP – у 7 (5%), другие схемы терапии применялись у 15 (10%) больных (Рисунок 1). Медиана количества линий терапии равнялась 2 (максимум 5).



Режим	1 линия терапии	2 линия терапии	3 линия терапии	4 линия терапии	5 линия терапия
Бортезомиб-содержащие программы	77%	11%	7%	8%	4%
Леналидомид-содержащие программы	6%	24%	2%	0%	0%
Даратумумаб-содержащие программы	13%	22%	18%	4%	0%
Другие	10%	43%	73%	92%	96%

Рисунок 1 – Характеристика проводимой терапии (n=153)

Полный ответ (ПО) на терапию первой линии был достигнут у 20% (n=31) больных, частичный ответ (ЧО) у 26% (n=40) больных, стабилизация заболевания (отсутствие критериев для ПО, ЧО или прогрессирования заболевания (ПЗ)) у 5% (n=9). Двухлетняя длительность полного ответа (ДО) составила 58% (95% ДИ: 33-73%). Медиана ДО составила около 20 мес.

Молекулярно-генетические методы исследования

Цитогенетическое исследование клеток костного мозга проводилось с применением стандартной GTG-методики (G-бэндинг с использованием трипсина и красителя Гимза). Для каждого анализируемого образца изучалось 20 метафазных пластинок. Трактовка аномалий кариотипа проведена в соответствии с Международной системой цитогенетической номенклатуры человека (ISCN, 2021). Анализ клеток на наличие транскриптов сателлитной ДНК выполнялся с использованием методов ДНК- и РНК-FISH.

Перечень праймеров для амплификации десяти генов семейства *WNT*, а также гена *CTNNB1* был взят из статьи «Expression Profiles and Functional Analyses of Wnt Related Genes in Human Joint Disorders» (McGowan-Jordan J., 2020).

Генетический скрининг на предмет мутаций осуществлялся посредством высокопроизводительного секвенирования с применением таргетной панели, содержащей зонды к 118 генам, релевантных лимфоидным патологиям. Состав генетической панели: *ABLI1*, *AKT3*, *ALK*, *APC*, *ARID1A*, *ASXL1*, *ATM*, *ATRX*, *B2M*, *BCL2*, *BCOR*, *BCORL1*, *BCR*, *BIRC3*, *BRAF*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BTK*, *CALR*, *CARD11*, *CBL*, *CCND1*, *CD58*, *CD79B*, *CDKN2A*, *CDX2*, *CEBPA*, *CIITA*, *CREBBP*, *CSF3R*, *CUX1*, *DDX3X*, *DEK*, *DIS3*, *DEK*, *DNMT3A*, *EP300*, *ETV6*, *EZH2*, *FAT1*, *FBXW7*, *FLT3*, *GATA1*, *GATA2*, *GJB2*, *GNA13*, *GNAS*, *H1-1*, *HRAS*, *ID3*, *IDH1*, *IDH2*, *IKZF1*, *IKZF3*, *IRF4*, *ITPKB*, *JAK2*, *JAK3*, *KDM6A*, *KDR*, *KIT*, *KLF2*, *KMT2A*, *KMT2C*, *KMT2D*, *KRAS*, *MAP2K1*, *MEF2B*, *MGA*, *MPL*, *MSN*, *MYC*, *MYD88*, *NF1*, *NOTCH1*, *NOTCH2*, *NPM1*, *NRAS*, *NSD2*, *PDGFRA*, *PHF6*, *PIK3CB*, *PIM1*, *PKHD1*, *PLCG2*, *POT1*, *PRDM1*, *PTCH1*, *PTEN*, *PTPN1*, *PTPRD*, *RAD21*, *RBI*, *RHOA*, *RPS15*, *RUNX1*, *RYR1*, *SAMHD1*, *SETBP1*, *SF3B1*, *SH2B3*, *SMARCA4*, *SMC1A*, *SMC3*, *SOCS1*, *SRSF2*, *STAG2*, *STAT3*, *STAT6*, *SUZ12*, *SYK*, *TENT5C*, *TET2*, *TNFAIP3*, *TP53*, *U2AF1*, *WT1*, *XPO1*, *ZRSR2*. Секвенирование выполнялось на системе Illumina NextSeq (США) с использованием методики парных концевых прочтений. В ходе анализа генетических данных был установлен порог аллельной частоты (VAF) на уровне 2%. Для оценки прогностической значимости идентифицированных мутаций у каждого обследованного пациента была вычислена опухолевая мутационная нагрузка (ТМВ).

Клеточные культуры и линии

Оценка статуса клеток микроокружения проведена у 40 пациентов с ММ и медианой возраста 59 (51-68) лет. МСК выделяли из миеловзвеси, полученной путем пункционной биопсии костного мозга. Мононуклеарные клетки выделяли по стандартному протоколу в градиенте плотности Ficoll-Paque ($\rho=1,077$ г/см³, «ПанЭко», Россия).

Статистические методы

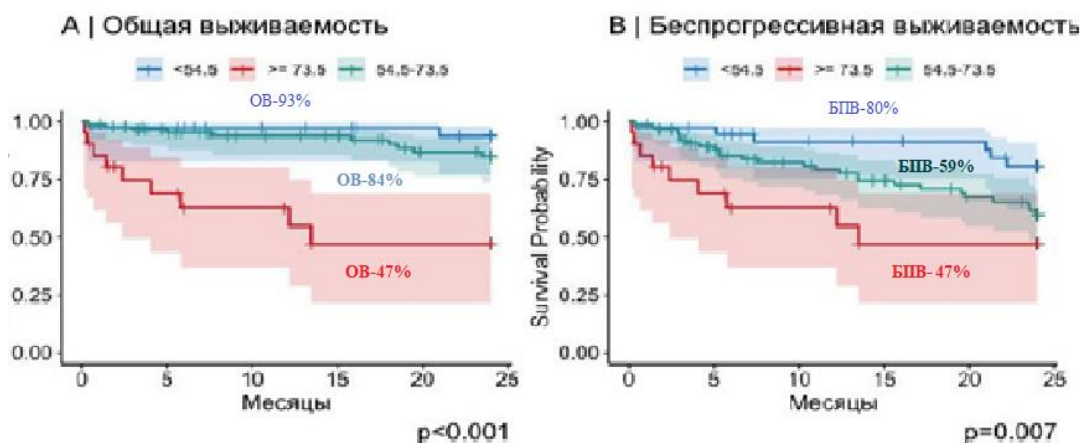
Для статистической обработки полученных данных использовались методы, применяемые для медицинских и биологических исследований. При проверке различий количественных переменных применялись статистические тесты в зависимости от распределения данных – t-тест Стьюдента для случаев нормального распределения и альтернативные методы для данных с отклонением от нормальности. Для сравнения структуры ответа в зависимости от размера выборки применялись тесты Фишера или Хи-квадрат. В свою очередь, для оценки различий между группами использовались непараметрические методы: U-критерий Манна-Уитни. Полученные результаты были проанализированы с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics 26.0.0.0 (macOS), Microsoft Excel 16.75.2 (for Mac), R version 4.2.2, Morpheus. Для оценки прогностической значимости отдельных мутаций был выполнен однофакторный регрессионный анализ Кокса. С целью повышения достоверности статистического анализа и исключения случайных ассоциаций из анализа были исключены гены, мутации в которых встречались менее чем у трёх пациентов. Для каждого гена рассчитывались отношение рисков (hazard ratio, HR), 95% доверительный интервал (ДИ) и p-значение. Сравнительный анализ выживаемости между группами высокого и низкого риска проводился с использованием метода Каплана–Майера и критерия log-rank.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Прогностическое значение клинических и генетических факторов

При анализе выживаемости в зависимости от возраста пациенты были разделены на возрастные группы: младше 54,5 лет; 54,5-73,5 лет; старше 73,5 лет. Двухлетняя ОВ в группе младше 54,5 лет составила 93% (95% ДИ: 76-98%), в группе 54,5-73,5 лет – 84% (95% ДИ: 74-92%), и для пациентов старше 73,5 лет – 47% (95% ДИ: 74-92%) ($p<0,001$). При анализе БПВ получены аналогичные данные (Рисунок 2). Полученные результаты говорят о достоверных различиях в ОВ пациентов с ММ в зависимости от возраста.

В однофакторной модели статистически значимая ассоциация была выявлена для возраста, а также наличия комплексного кариотипа (Triple hit). Возраст демонстрировал повышение риска рецидива с HR=1,08 (95% ДИ: 1,03-1,13, $p=0,001$).

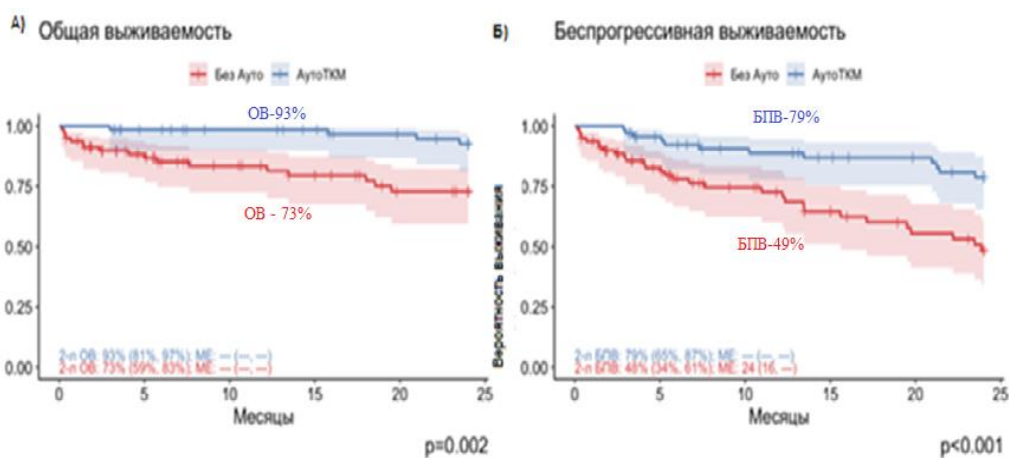


А – ОБ пациентов с ММ различного возраста ($p < 0,001$);

В – БПВ пациентов с ММ различного возраста ($p = 0,007$).

Рисунок 2 – Выживаемость в зависимости от возрастной группы

Значение HR для комплексного кариотипа составляло 4,23 (95% ДИ: 0,98-18,24, $p = 0,046$). Также в однофакторной модели прогностическую значимость демонстрировал статус по ECOG (ECOG 3): HR=46,05 (10,79-196,5, $p < 0,001$). В многофакторной модели статистически значимыми предикторами сохранялись возраст и наличие Triple hit. Возраст оставался устойчивым фактором с HR=1,09 (95% ДИ: 1,03-1,13, $p < 0,001$). Для тройных аббераций величина HR составила 7,11 (95% ДИ: 1,58-31,90, $p = 0,01$). Для остальных клинических, биохимических и цитогенетических показателей статистически значимой связи с ОБ не установлено. Двухлетняя ОБ в группе пациентов без аутоТГСК составила 73% (95% ДИ: 60-83%); медиана ОБ не достигнута в обеих группах ($p = 0,001$). Двухлетняя БПВ – 79% (95% ДИ: 66-87%) в группе аутоТГСК и 49% (95% ДИ: 35-62%) в группе без аутоТГСК; медиана БПВ не достигнута и 24 мес. соответственно ($p < 0,001$) (Рисунок 3).



А – двухлетняя ОБ; Б – БПВ.

Рисунок 3 – Анализ выживаемости в группе пациентов после аутоТГСК и пациентов, получавших лечение без аутоТГСК

МУТАЦИОННЫЙ ЛАНДШАФТ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ

Для графического представления спектра генетических аномалий был создан oncoPrint-график, который продемонстрировал частоту и распределение выявленных мутаций среди обследованных пациентов (Рисунок 4).

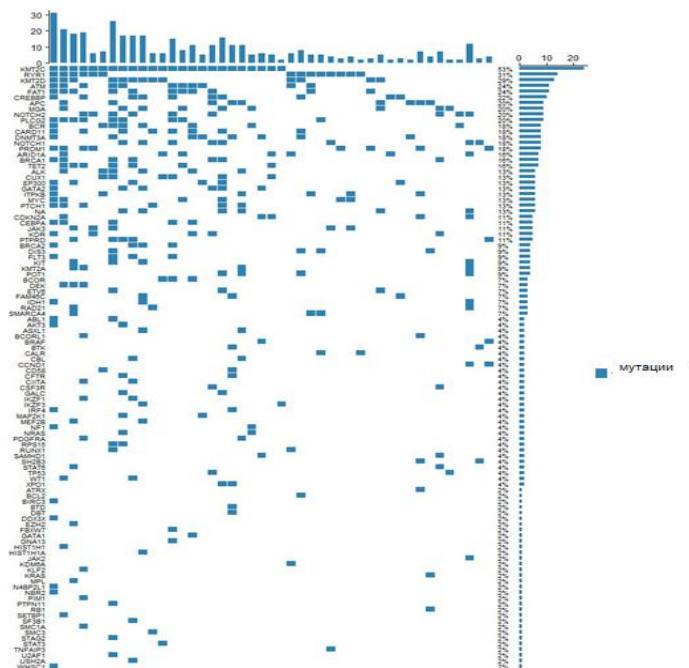
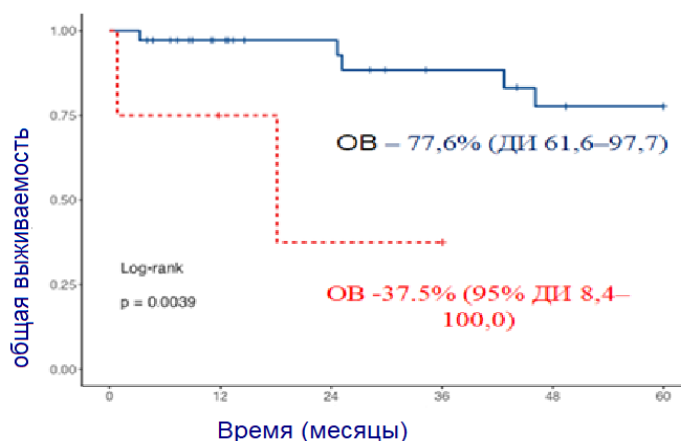


Рисунок 4 – Онкокарта мутаций исследуемой группы

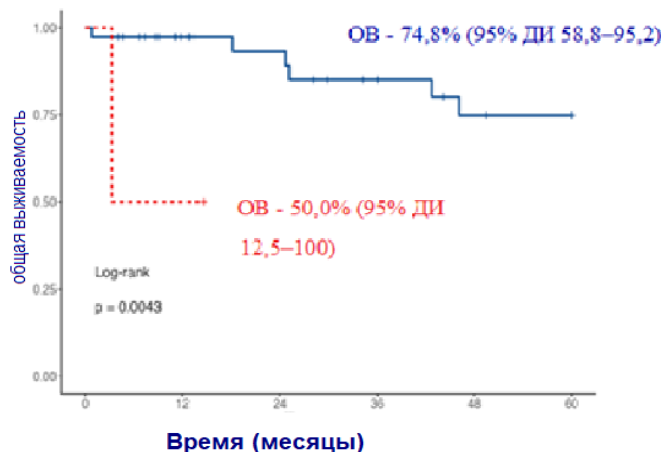
Анализ влияния различных вариантов генетических аномалий на клиническое течение ММ выявил, что мутации в генах *FAT1*, *NRAS* и *ATM* ассоциируются с неблагоприятным прогнозом. Трёхлетняя ОВ у пациентов с мутацией в гене *FAT1* составила 37,5% (95% ДИ 8,4–100,0), тогда как в группе пациентов с диким типом этого гена данный показатель достиг 77,6% (95% ДИ 61,6–97,7), $p=0,0039$ (Рисунок 5).



Красная линия – *FAT1* мутирован; синяя линия – *FAT1* не мутирован.

Рисунок 5 – Трёхлетняя ОВ пациентов с ММ в зависимости от мутационного статуса *FAT1*

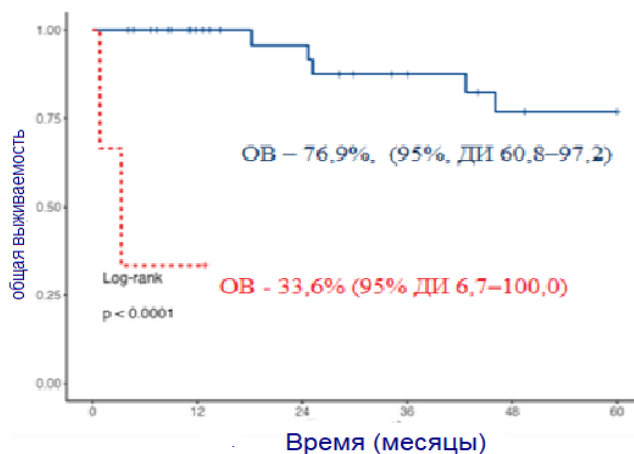
При ОВ было установлено, что у пациентов с мутацией в гене *NRAS* трёхлетняя ОВ достигла 50,0% (95% ДИ 12,5-100). В контрольной группе пациентов с диким типом данного гена ОВ составила 74,8% ($p=0,0043$). График ОВ у пациентов с наличием данной мутации приложен на Рисунке 6.



Красная линия – *NRAS* мутирован; синяя линия – *NRAS* не мутирован.

Рисунок 6 – Трёхлетняя ОВ пациентов с ММ в зависимости от *NRAS*

У пациентов с мутацией в данном гене пятилетняя ОВ составила 33,6% (95% доверительный интервал 6,7-100,0). В группе пациентов с диким типом гена *ATM* этот показатель был достоверно выше и достиг 76,9%, $p<0,0001$ (Рисунок 7).



Красная линия – *ATM* мутирован; синяя линия – *ATM* не мутирован.

Рисунок 7 – Пятилетняя ОВ пациентов с ММ в зависимости от *ATM*

В исследуемой когорте медиана аллельной частоты (VAF) составила 45,91% (диапазон 10,0–50,38), а медиана опухолевой мутационной нагрузки (ТМВ) – 5,0 мутаций на мегабазу (мутаций/Мб). Анализ БПВ в зависимости от уровня ТМВ (с разделением на группы ≤ 5 мутаций/Мб и >5 мутаций/Мб) выявил статистически значимые различия между

группами. У пациентов с низкой ТМВ (≤ 5 мутаций/Мб) двухлетняя БПВ составила 95,0% (95% ДИ 50,3-96,5), тогда как в группе с высокой ТМВ (>5 мутаций/Мб) данный показатель достиг 69,6% (95% ДИ 85,9-100), $p=0,046$ (Рисунок 8).

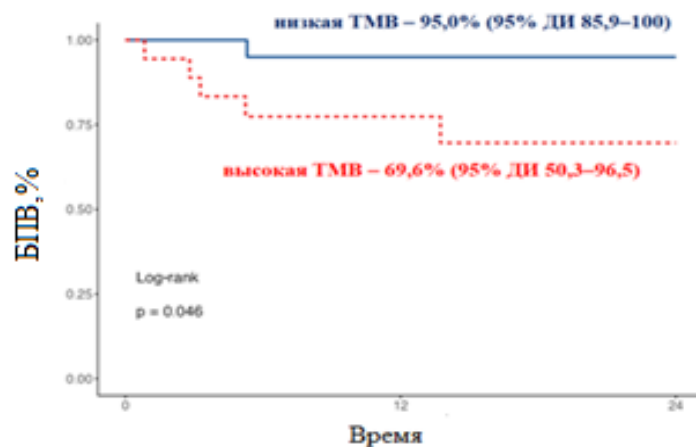
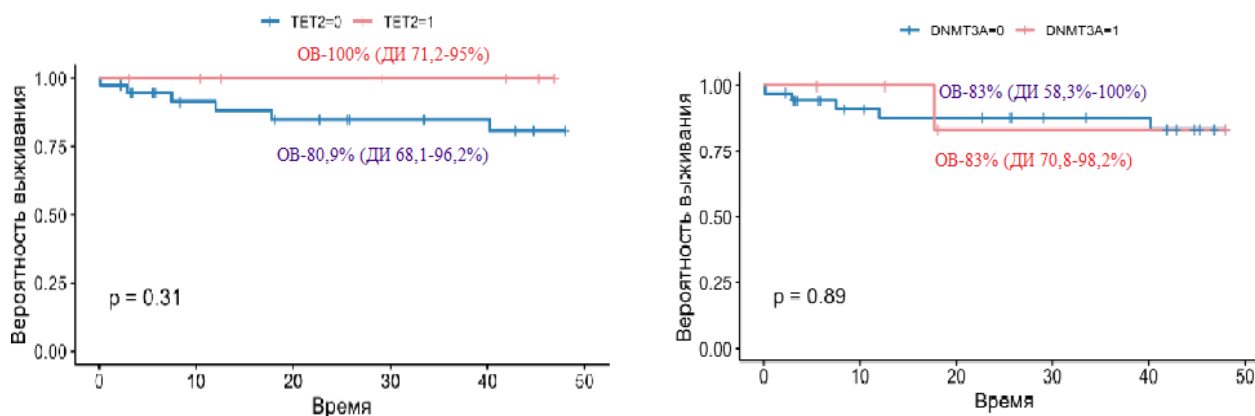


Рисунок 8 – Двухлетняя БПВ пациентов с ММ в зависимости от ТМВ

При анализе влияния мутаций в генах, регулирующих метилирование ДНК, на ОВ, *TET2* и *DNMT3A* не оказали значимого влияния: ОВ при мутированном варианте *TET2* 100% (ДИ 71,2-95%) vs 80,9% (ДИ 68,1-96,2%) при немутированном варианте, у пациентов с мутацией в гене *DNMT3A* ОВ 83% (ДИ 70,8-98,2%) vs 83% (ДИ 58,3%-100%) у пациентов без данной мутации (Рисунок 9).



TET2 – красная линия – мутирован, синяя линия – *TET2* не мутирован;

DNMT3A – красная линия – *DNMT3A* мутирован, синяя линия – *DNMT3A* не мутирован.

Рисунок 9 – ОВ пациентов с ММ в зависимости от мутационного статуса

Анализ взаимосвязей с использованием хордовой диаграммы не выявил статистически значимой ассоциации между мутационным статусом генов, участвующих в метилировании ДНК, и генами, мутации в которых потенциально ассоциируются с неблагоприятным прогнозом течения заболевания (Рисунок 10).

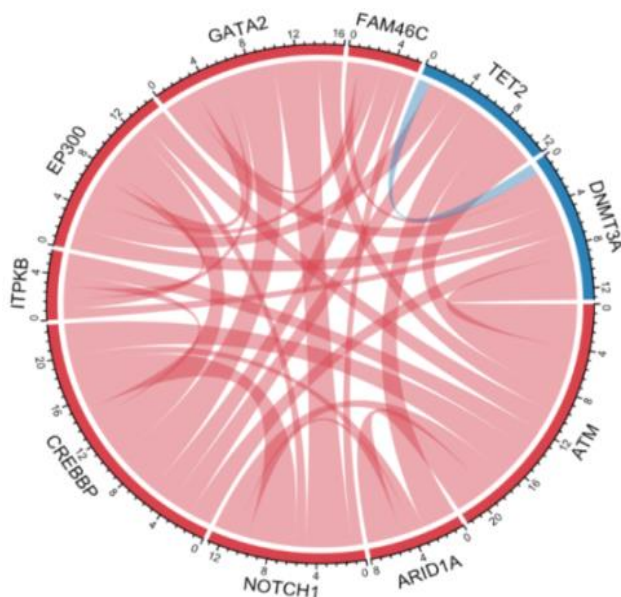


Рисунок 10 – Хордовая диаграмма: взаимосвязь генов, ухудшающих прогноз течения ММ

Выявленные в ходе работы факторы риска использованы в разработанном алгоритме (Рисунок – 11).

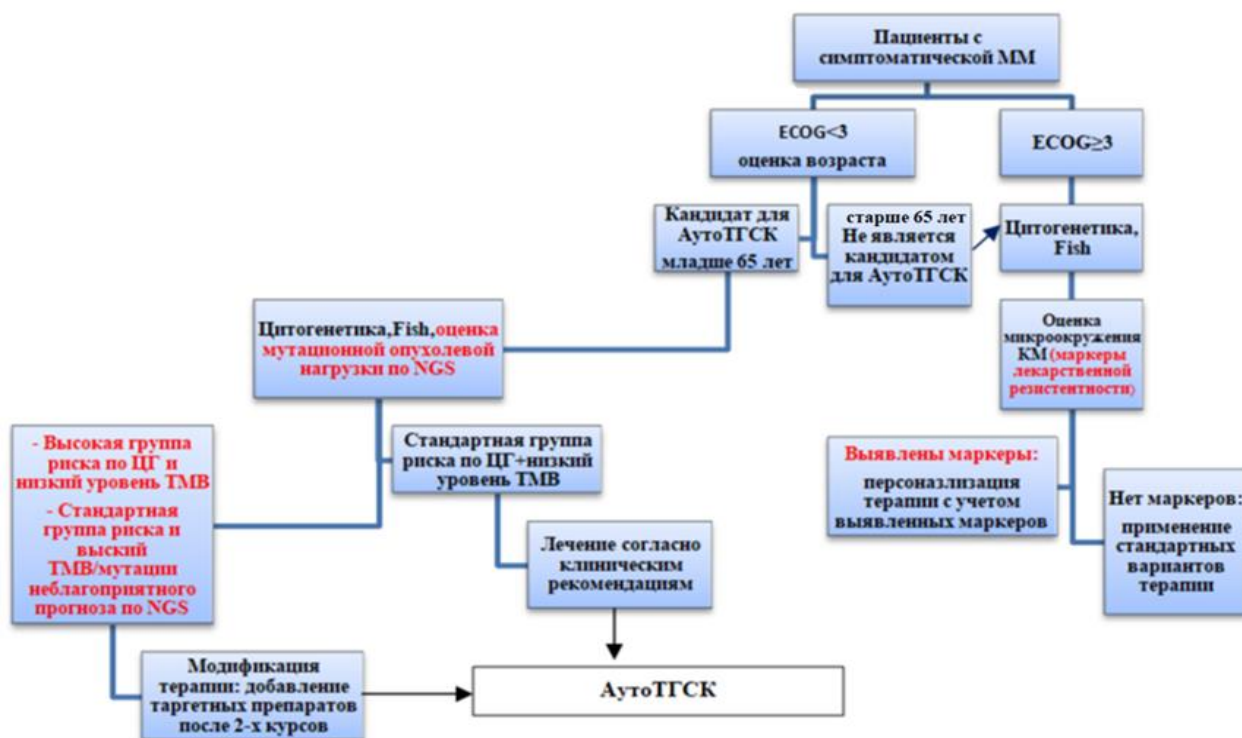


Рисунок 11– Алгоритм выбора персонализированной терапии для пациентов с множественной миеломой

Предложено первичное распределение пациентов согласно возрасту и группе ECOG. Учитывая ограниченность рутинного применения в клинической практике культуральных

методик и NGS, данный вариант углубленного обследования предложен в группе наиболее коморбидных пациентов, требующих назначения таргетной терапии. Оценка клеточного состава костного мозга проводится согласно выявленным маркерам дисфункционального микроокружения. При стратификации генетического риска в качестве прогностического фактора, определяющего необходимость интенсификации терапии, рассматривается показатель мутационной нагрузки опухоли (ТМВ).

ОЦЕНКА СТАТУСА КЛЕТОК МИКРООКРУЖЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

Выявленные в образцах комбинации исследуемых параметров, такие как низкая пролиферативная активность, снижение уровня экспрессии генов семейства WNT, снижение остеогенного потенциала, наличие транскриптов классических сателлитов 2 и 3 (HS2, HS3) и мутаций *NRAS*, *FAT1*, *ATM* в генах клеток костного мозга пациентов, свидетельствуют о наличии сформированного опухолевого микроокружения в гемопозитической нише костного мозга. В группах пациентов с рецидивом и прогрессией заболевания достоверно чаще ($p=0,038$) были выявлены морфофункциональные особенности клеток микроокружения костного мозга и определено более 350 мутаций методом NGS. Трехлетняя БПВ в когорте пациентов с выявленными низкими показателями морфофункциональных и генетических изменений составила 76,7% (95% ДИ: 22,6-81,0), $p=0,041$. Следует отметить, что при высоких значениях данных параметров БПВ была значительно ниже – 42,8% (95% ДИ: 22,6-81,0). Таким образом, результаты комплексной диагностики статуса клеток микроокружения костного мозга с использованием культуральных и генетических методов можно использовать как прогностический маркер неблагоприятного ответа на терапию.

ВЫВОДЫ

1. Клиническими факторами, определяющими эффективность лечения и выживаемость пациентов с множественной миеломой, являются возраст ($\geq 73,5$ лет) и функциональное состояние по шкале ECOG (ECOG 3), а также наличие инфекции COVID-19.
2. Совокупность биомаркеров в культурах мезенхимальных стромальных клеток костного мозга, включающая низкую пролиферативную активность, высокое содержание α -SMA+/ β -gal+ клеток, снижение остеогенного потенциала на фоне отсутствующей или минимально повышенной экспрессии WNT 10B, WNT13, WNT14 и WNT15, свидетельствует о формировании в костном мозге дисфункционального микроокружения и данный

маркерный профиль может рассматриваться в качестве потенциального предиктора неудовлетворительного ответа на терапию.

3. На показатели выживаемости пациентов с множественной миеломой негативное влияние оказывают мутации генов *NOTCH1* ($p=0,0043$), *ATM* ($p<0,0001$), *FAT1* ($p=0,0039$) и *NRAS* ($p=0,0043$), высокая мутационная опухолевая нагрузка ($TMB>5$ мутаций/Mb) ($p=0,046$). Наличие мутированного статуса генов метилирования ДНК (*DNMT3A*, *TET2*) не влияло на формирование структуры ответа на терапию и показатели выживаемости пациентов с ММ.

4. Разработанный алгоритм, включающий анализ клинических данных, клеточного состава микроокружения костного мозга, мутационного статуса и мутационной нагрузки, позволяет подобрать эффективную персонализированную терапию. При стратификации генетического риска в качестве прогностического фактора, определяющего необходимость интенсификации терапии, рассматривается показатель мутационной нагрузки опухоли (ТМВ).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В дебюте заболевания у пациентов с ММ необходима комплексная диагностика как функционального состояния организма, так и проведение стандартных диагностических исследований. Кроме того, своевременная вакцинация против инфекции COVID-19 может значительно снизить риск тяжелого течения инфекции, а как следствие, и развития осложнений.

2. При развитии рецидива у пациентов с ММ необходима оценка биомаркеров в культурах мезенхимальных стромальных клеток, с целью выбора наиболее эффективной терапевтической программы, используя данные о маркерах лекарственной резистентности.

3. Результаты секвенирования следующего поколения позволяют определить степень мутационной нагрузки опухоли, что служит важным критерием для выбора более интенсивных программ лечения. Детальный анализ мутационного профиля открывает возможности для использования таргетных препаратов.

4. У пациентов пожилого возраста с соматическим статусом ECOG 3 и выше требуется комплексная оценка молекулярно-генетического и биологического профиля заболевания. Разработанный алгоритм терапии предлагает применение у коморбидных пожилых пациентов в первой линии терапии таргетных препаратов на основании проведенной диагностики, а для более молодых пациентов интенсификацию терапии на основании группы генетического риска.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Результаты данного диссертационного исследования подчёркивает значимость углублённого изучения молекулярных механизмов патогенеза ММ для создания индивидуализированных подходов к лечению. В качестве перспективных направлений для дальнейших исследований целесообразно рассмотреть следующие аспекты:

1. Идентификация новых молекулярно-генетических маркеров, связанных с неблагоприятным течением и отсутствием ответа на противоопухолевую терапию на основании использования метода NGS. Уточнение клинической значимости генетических вариантов с неопределённым прогностическим значением.

2. Исследование клональной эволюции ММ сделает возможным верификацию молекулярных паттернов, ассоциированных с ранней резистентностью/рефрактерностью к специфической терапии. Это, в свою очередь, создаст основу для определения потенциала применения новых таргетных препаратов и их комбинаций в клинической практике.

3. Исследование aberrантных паттернов метилирования ДНК у пациентов с ММ позволит провести коррекцию прогностических систем и определит новые мишени для эпигенетической терапии.

4. Унификация алгоритмов клинической интерпретации результатов таргетного секвенирования следующего поколения.

5. Создание алгоритмов диагностики и прогностической оценки течения ММ на основе совокупной оценки морфофункционального статуса клеток микроокружения КМ и генетических характеристик МСК.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Из перечня, рекомендованного ВАК

1. Чебыкина, Д.А. Раскрывая новые парадигмы: обзор патогенетических механизмов и перспективных методов лечения множественной миеломы / Д.А. Чебыкина, Д.В. Моторин, Н.Ю. Семенова [и др.] // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2024. – Т.10, № 4. – С. 544-563.
2. Чебыкина, Д.А. Гены метилирования ДНК при множественной миеломе: что мы уже знаем и как это можно использовать? / Д.А. Чебыкина, Е.В. Мотыко, А.Н. Кириенко [и др.] // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2025. – Т. 18, № 4. – С. 315-325.

3. Чебыкина, Д.А. Основные аспекты профилактики и течения инфекции SARS-CoV-2 у пациентов с множественной миеломой / Д.А. Чебыкина // Трансфузиология. –2025. – Т. 26, № 3. – С. 299-308.
4. Чебыкина, Д.А. Особенности молекулярного ландшафта множественной миеломы / Д.А. Чебыкина, Д.В. Моторин, Н.Ю. Семенова [и др.] // MEDLINE.RU. – 2025. – Т. 26. – С. 68-95.
5. Чебыкина, Д.А. Особенности течения и возможности профилактики COVID-19 у больных множественной миеломой / Д.А. Чебыкина, И.И. Кробинец // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2026. – Т. 19, № 1. – С. 96-103.

В прочих источниках

6. Заявка на получение патента РФ на изобретение № 2025122978/14(054033) «Способ лечения множественной миеломы» от 19.08.2025.
7. Белик, Л.А. Количественная оценка распределения лигандов WNT в костном мозге у пациентов с множественной миеломой» / Л.А. Белик, Н.И. Енукашвили, Д.А. Чебыкина [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика в гематологии и трансфузиологии. Трансфузиология. – 2024. – Т. 25, № 1, приложение 2. – С. 5-16.
8. Чебыкина, Д.А. Возможности применения высокопроизводительного секвенирования у пациентов с множественной миеломой / Д.А. Чебыкина, А.В. Шмидт, Е.О. Куневич, [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика гематологии и трансфузиологии. Трансфузиология. – 2024. – Т. 25, № 1, приложение 2. – С. 147-148.
9. Чебыкина, Д.А. Особенности молекулярного ландшафта множественной миеломы / Д.А. Чебыкина, Е.О. Куневич, А.Ю. Кувшинов [и др.] // Вестник гематологии. – 2024. – Т. 20, № 2. – С. 87.
10. Чебыкина, Д.А. Анализ молекулярного профиля пациентов с множественной миеломой методом секвенирования следующего поколения / Д.А. Чебыкина, Н.Ю. Семенова, Е.В. Мотыко, [и др.] // «Генетика опухолей кроветворной системы – от диагностики к терапии»: материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – 2025. – Т. 26, № 2, приложение 1. – С. 83-84.
11. Чебыкина, Д.А. Генетические факторы прогноза течения множественной миеломы / Д.А. Чебыкина, Н.Ю. Семенова, Е.В. Мотыко, [и др.] // «Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии»: материалы IV научно-практической конференции молодых ученых. – 2025. – Т. 26, № 4, приложение 1. – С. 52-53.
12. Чебыкина, Д.А. Характеристика течения COVID-19 у пациентов с множественной миеломой / Д.А. Чебыкина, Н.Ю. Семенова, Е.В. Мотыко [и др.] // «Актуальные

проблемы гематологии и трансфузиологии»: материалы IV Научно-практической конференции молодых ученых. – 2025. – Т. 26, № 4, приложение 1. – С. 53-54.

13. 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.
14. Chebykina, D. Analysis of the molecular profiling of the patients with multiple myeloma by next-generation sequencing / D. Chebykina, N. Semionova, E. Motyko [et al.] // «V Московская международная школа молодых ученых-гематологов имени С.П. Боткина». Тезисы докладов и сообщений. Клиническая онкогематология. – 2025. – Т. 18, № 1, приложение 1. – С. 70-72.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АутоТГСК	–	аутологичная трансплантация стволовых клеток
БПВ	–	беспрогрессивная выживаемость
ДИ	–	доверительный интервал
ДО	–	длительность полного ответа
ИГХ	–	иммуногистохимическое исследование
ИФТ	–	иммунофенотипирование
КМ	–	костный мозг
ММ	–	множественная миелома
ОВ	–	общая выживаемость
ОХЧО	–	очень хороший частичный ответ на терапию
ПК	–	плазматические клетки
ПО	–	полный ответ на терапию
ПЦР	–	полимеразная цепная реакция
ЧР	–	частичная ремиссия
CVD	–	схема терапии: бортезомиб, циклофосфамид и дексаметазон
ECOG	–	Eastern Cooperative Oncology Group (Восточная Кооперативная Онкологическая группа)
FISH	–	fluorescence in situ hybridization (флюоресцентная in situ гибридизация)
HR	–	hazard ratio (отношение рисков)
IPSS	–	международная система стадирования

- MASS – система стратификации риска при множественной миеломе (The Mayo Additive Staging System)
- NGS – секвенирование следующего поколения (Next Generation Sequencing)
- VD – схема терапии: бортезомиб и дексаметазон
- VRD – схема терапии: бортезомиб, леналидомид и дексаметазон