

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«РОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГЕМАТОЛОГИИ  
И ТРАНСФУЗИОЛОГИИ ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА»

*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

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

Сидоркевич Сергей Владимирович,  
доктор медицинских наук, доцент

Мартынкевич Ирина Степановна,  
доктор биологических наук

Санкт-Петербург– 2026

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1 ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МОЛЕКУЛЯРНОМ ПАТОГЕНЕЗЕ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ .....	11
1.1 Клеточное происхождение и реактивное микроокружение опухоли.....	11
1.2 Хромосомные нарушения .....	16
1.3 Геномный ландшафт и сигнальные клеточные пути .....	22
Глава 2 АКТУАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ .....	28
2.1 Проблемы и перспективы диагностики и прогнозирования множественной миеломы..	28
2.2 Подходы к терапии множественной миеломы .....	33
2.3 Перспективы терапии множественной миеломы .....	38
2.4 Проведение специфической терапии у пациентов с множественной миеломой в условиях пандемии COVID-19 .....	41
Глава 3 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	44
3.1 Общая характеристика обследованных больных .....	44
3.2 Лабораторные методы оценки клинического анализа крови и основных биохимических и иммунологических параметров .....	53
3.3 Метод иммунофиксации для выявления моноклонального белка сыворотки крови и мочи .....	54
3.4 Исследование концентрации свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови .....	55
3.5 Иммунофенотипирование клеток костного мозга методом проточной цитометрии .....	55
3.6 Цитогенетическое исследование клеток костного мозга .....	56
3.7 Флюоресцентная гибридизация in situ (FISH) .....	56
3.8 Оценка пролиферативной активности мезенхимальных стромальных клеток.....	57
3.9 Оценка остеогенно-дифференцировочного потенциала мезенхимальных клеток.....	57
3.10 Окраска на ассоциированную со старением $\beta$ -галактозидазу (SA- $\beta$ -gal) .....	58
3.11 Иммунофлуоресцентный анализ.....	58
3.12 Оценка уровня экспрессии генов семейства <i>WNT</i> .....	58
3.13 Полимеразная цепная реакция в реальном времени .....	59
3.14 Секвенирование следующего поколения (NGS) .....	60
3.15 Статистические методы .....	61

Глава 4 ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ .....	63
4.1 Анализ общей и беспрогрессивной выживаемости .....	63
4.2 Влияние клинических и генетических факторов риска на эффективность первой линии терапии.....	66
4.3 Оценка эффективности терапии у пациентов после аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток .....	73
4.4 Влияние COVID-19 на результаты терапии и значение вакцинопрофилактики у пациентов с множественной миеломой.....	75
Глава 5 МУТАЦИОННЫЙ ЛАНДШАФТ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ .....	79
5.1 Молекулярно-генетические факторы риска эффективности терапии у пациентов с множественной миеломой .....	79
5.2 Влияние эпигенетических факторов риска на эффективность терапии .....	85
5.3 Опухолевая мутационная нагрузка.....	87
Глава 6 ОЦЕНКА СТАТУСА КЛЕТОК МИКРООКРУЖЕНИЯ НА ОСНОВЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ.....	89
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	96
ВЫВОДЫ.....	102
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	103
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	104
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....	105
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	108

## ВВЕДЕНИЕ

## 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% [73]. 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 [9]. По данным ряда исследований, за последние 25 лет заболеваемость ММ выросла более чем на 120% [67]. Чаще всего ММ встречается у пациентов старше 65 лет [37]. 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 [108, 123]. Использование мультиомиксных молекулярно-генетических исследований с применением технологии NGS позволило получить данные, которые способствовали созданию новых лекарственных средств и протоколов лечения [34]. 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, кому была проведена аутологичная трансплантация 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 [49].

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. Анализ цитогенетического профиля включен в систему стратификации риска R-ISS [134]. 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 [144]. 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) [134]. Однако современные клинические рекомендации по лечению ММ не предусматривают дифференцированного подхода к выбору терапии в зависимости от выявления специфических хромосомных aberrаций [144]. 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 [16].

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 одна из общепринятых не обладает специфической направленностью на пациентов с ММ [80, 156]. Несмотря на значительный объем публикаций, в современных условиях по-прежнему актуальной является 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 ММ. Однако данных, основанных на реальных условиях клинической практики, сравнительно немного (60 публикаций). Рассмотрев данные международной системы поиска pubmed.gov с 2016 по 2026 гг., можно отметить, что значению секвенирования следующего поколения при ММ посвящено 130 статей, по вопросу прогностической значимости клеточного состава костного мозга опубликовано 20 работ. В анализируемый временной промежуток на платформе elibrary.ru было обнаружено 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 персонализированной 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 ММ;
- впервые установлена пороговая величина мутационной опухолевой нагрузки (ТМВ $>5$  мутаций/Мб) у пациентов с ММ, позволяющая прогнозировать течение заболевания;
- предложен алгоритм персонализированной 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  $\alpha$ -SMA+/SA- $\beta$ -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 также 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); EHA2025 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 и дневным стационаром ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России.

#### Личный вклад автора

Личный вклад автора состоит в анализе литературных и клинических данных, сборе анамнеза и ранее проведенных исследований, выполнении диагностических манипуляций (аспирационная биопсия 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.

## ГЛАВА 1. ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МОЛЕКУЛЯРНОМ ПАТОГЕНЕЗЕ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ

### 1.1 Клеточное происхождение и реактивное микроокружение опухоли

Множественная миелома (ММ) – злокачественное новообразование терминально дифференцированных плазматических клеток (ПК), продуцирующих иммуноглобулины. Эти долго живущие клетки обладают способностью сохраняться в костном мозге (КМ) на протяжении нескольких месяцев и даже до года, играя ключевую роль в формировании иммунологической памяти [31; 33]. Злокачественная трансформация В-лимфоцитов при ММ происходит в терминальных центрах периферических лимфоидных органов после соматических гипермутаций реаранжированных генов иммуноглобулинов и изотипического переключения антител [184]. Поздние онкогенные трансформации, напротив, возникают уже в КМ, когда клон, ведущий к ММ, полностью дифференцируется в долгоживущие плазматические клетки (ПК).

Современные исследования указывают на то, что генетические и функциональные изменения ПК часто обнаруживаются не равномерно во всех клонах опухоли, а преимущественно в отдельных субпопуляциях клональных клеток [182]. Эти атипичные ПК обладают уникальными морфологическими особенностями, которые отличают их от нормальных клеток, а также демонстрируют способность формировать компактные скопления в нетипичных зонах костного мозга, удалённых от их привычной локализации возле кровеносных сосудов [154]. Такой нестандартный паттерн размещения играет ключевую роль в создании микроокружения КМ, способствующего развитию опухоли. Важнейшими элементами опухолевого микроокружения являются клетки стромы, остеокласты, остеобласты (ОБ) и сосудистые структуры, с которыми ПК вступают в сложные взаимодействия [2; 12]. Эти взаимодействия не только обеспечивают выживание и устойчивость миеломного клона, но и существенно влияют на развитие лекарственной резистентности. Можно выделить три основных типа взаимодействия, которые устанавливаются между опухолевыми ПК и окружающими их клетками КМ – это прямые клеточные контакты, паракринная и аутокринная сигнализация [62]. Одним из важных механизмов передачи сигналов между клетками является выделение экзосом – мембранных везикул, которые переносят белки, микроРНК (miR) и различные факторы роста, обеспечивая направленный и эффективный обмен информацией [2]. Значительным элементом этого взаимодействия служит секреция биологически активных молекул, таких как цитокины и факторы роста, среди которых выделяются интерлейкин 6 (IL-6) и фактор некроза опухоли  $\alpha$

(ФНО- $\alpha$ ). Помимо этого, контакт между клетками осуществляется через молекулы клеточной адгезии – специализированные белки, включая ICAM-1 и VCAM-1 [120].

Мезенхимальные стромальные клетки костного мозга (МСК) представляют собой уникальную популяцию фибробластоподобных клеток с широким дифференцировочным потенциалом. В патогенезе ММ на данный потенциал влияют сложные взаимодействия с цитокинами, а также сигналы, передаваемые через экзосомы. Кроме того, эпигенетические изменения, такие как метилирование ДНК, играют важную роль в переопределении биологических функций [19; 161]. Многообразие функций этих клеток опосредовано широким спектром молекул: молекулами клеточной адгезии, включая ALCAM, VCAM-1 и ICAM-1, которые обеспечивают клеточные контакты; факторами роста, такими как трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), фактор стволовых клеток (SCF), эпидермальный фактор роста (EGF), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) и фактор роста гепатоцитов (HGF), стимулирующими пролиферацию и выживание клеток; различными цитокинами, включая интерлейкины IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-7 и IL-8 [13; 16; 64; 95; 191].

Тем не менее, при некоторых гематологических заболеваниях отмечается дисрегуляция МСК, что способствует возникновению и/или прогрессированию течения заболевания. Значительное увеличение скорости деления клеток сопровождается повышением уровня специфических опухолевых маркеров, включая  $\beta$ -галактозидазу и  $\alpha$ -гладкомышечный актин [16]. Одним из ключевых элементов патогенеза является активная роль стромальных клеток, которые секретируют CXCL12. Данный хемокин опосредует удержание незрелых клеток крови внутри костного мозга. Рецептор CXCR4, экспрессируемый опухолевыми клетками, взаимодействует с CXCL12, обеспечивая миграцию и возвращение опухолевых ПК из периферических зон обратно в микроокружение костного мозга [145].

Под влиянием злокачественных клеток стромальные компоненты КМ активируют синтез ряда биологически активных молекул, включая онкостатин М, IL-6, IL-17, факторы роста нервов и сосудистый эндотелиальный фактор роста VEGF [145]. Увеличение концентрации провоспалительных цитокинов, таких как ФНО- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-6, прямо коррелирует с числом опухолевых клеток, колонизирующих КМ [5; 126]. Особенно важную роль играет IL-6, который через активацию сигнального пути JAK/STAT3 повышает уровень антиапоптотических белков MCL-1 и BCL-XL, способствуя выживанию опухолевых клеток. Помимо этого, MCL-1 синтезируется и при других условиях, что дополнительно поддерживает жизнеспособность опухоли. У пациентов с ММ наблюдается повышение уровней факторов BAFF и APRIL, которые выделяются микроокружением и стимулируют размножение В-клеток [187; 212]. Области интенсивного роста ПК совпадают с местами локализации остеохондроретикулярных стволовых

клеток, характеризующихся экспрессией белка Grem1, что способствует увеличению пролиферации миеломных клеток в лабораторных условиях [127].

Ремоделирование костной ткани – повсеместный компонент ММ и ее предшествующих стадий. Нормальное ремоделирование костной ткани обусловлено равновесием между деятельностью ОБ, синтезирующих новый костный матрикс, и остеокластов (ОК), обеспечивающих резорбцию костной ткани [45]. При ММ равновесие в этой системе нарушается из-за избыточного остеокластогенеза, ключевую роль в котором играют MIP-1 $\alpha$  и RANKL, существенно ускоряя деградацию костной ткани [185]. ОБ продуцируют протеогликан декорин, который непосредственно угнетает клеточное деление и выживаемость ПК *in vitro*, вызывая апоптоз [53; 121]. Взаимосвязь между клетками ММ и стромой поддерживает рост опухолевых клеток, создаёт подходящую нишу для «спящих» злокачественных ПК и подавляет дифференцировку остеобластов за счёт выработки растворимых факторов, таких как остеооптин, остеокальцин, TGF $\beta$  и FGF [174]. Некоторые препараты для лечения миеломы оказывают благоприятное воздействие на ремоделирование костной ткани, восстанавливая гомеостаз костномозговой мембраны [194].

При лизисе костной ткани происходит выделение ростовых факторов, ионизированного кальция и белков внеклеточного матрикса, которые способствуют росту и выживанию опухолевых клеток [10]. Наиболее важным регуляторным путём, поддерживающим ремоделирование костной ткани, является RANK-RANKL/OPG, который при ММ сильно нарушен: экспрессия RANKL повышена, а экспрессия остеопрogerина снижена. RANKL, вырабатываемый клетками-предшественниками ОБ и ПК, связывается с остеопрogerином и нейтрализует его, что в норме препятствует передаче сигналов RANK/RANK-L и активации ОК. На сегодняшний день в лечении ММ активно применяются антагонисты RANKL, в частности деносумаб – моноклональное антитело, способное эффективно предотвращать разрушение костной ткани при ММ [96; 185]. ОК могут активировать покоящиеся клетки миеломы, изменяя эндостальную нишу, и способствовать ангиогенезу за счёт выработки проангиогенных факторов [23; 196].

Современная теория патогенеза моноклональной гаммопатии неясного генеза (МГНЗ) предлагает пересмотреть роль эндостальной ниши в последующей развитии заболевания. Так согласно этой теории, первопричиной развития МГНЗ является нарушение эндостальной ниши. Вместо того, чтобы рассматривать костные изменения как следствие прогрессирующей патологии, предполагается, что именно дисфункция эндостальной ниши и сбой контроля микроокружения запускают процессы патогенеза опухоли. В свою очередь, генетические аномалии в миеломных клетках играют роль не первопричины, а скорее фактора, который усиливает и стабилизирует уже начавшиеся патологические процессы [46; 146]. Таким образом,

именно дисфункциональная эндостальная ниша должна стать ключевой терапевтической мишенью при МГНЗ [45].

Особое значение в патогенезе ММ отводится жировой ткани, которая оказывается не просто пассивным запасом энергии, а активным участником регуляции функций миеломных клеток. Интересно, что жировая ткань исчезает по мере прогрессирования заболевания, что позволяет предположить, что роль адипоцитов может быть особенно важна на начальных стадиях заболевания [18]. Гипоадипонектинемия, опосредованная секрецией ФНО- $\alpha$  клетками миеломы, ассоциирована с прогрессией заболевания [1; 139].

Клетки жировой ткани костного мозга играют важную роль в обеспечении миграции и пролиферации ПК, а также способны снижать уровень их гибели. Это обусловлено выработкой таких веществ, как лептин, IGF-1 (инсулиноподобный фактор роста 1), IL-6 и ФНО- $\alpha$ . Повышенная продукция этих молекул при избыточной массе тела рассматривается как один из факторов, способствующих развитию ММ [6; 160]. Помимо этого, жировые клетки КМ синтезируют вещества, стимулирующие образование новых кровеносных сосудов, в частности VEGF и ангиопоэтин [198]. Вместе с тем, адипоциты способны выделять различные противовоспалительные агенты. Одним из таких веществ является адипонектин – гормон, который оказывает существенное влияние на воспалительные реакции. Этот белок подавляет сигнальный путь NF- $\kappa$ B и способствует активации апоптоза злокачественных ПК через киназу AMPK [95; 139].

Имеются убедительные данные, что интерлейкин-10 (IL-10), секретируемый T-регуляторными клетками, играет значимую роль в патогенезе ММ. В сыворотке крови пациентов с ММ концентрация IL-10 существенно повышена по сравнению с уровнем у здоровых лиц, что ассоциируется с ухудшением ответа на проводимую терапию и неблагоприятным клиническим исходом. Этот рецепторы подавляет активацию макрофагов, регулирует продукцию других медиаторов воспаления и влияет на процессы презентации антигенов [208]. Более того, IL-10 способствует ускоренной пролиферации плазматических клеток, а также стимулирует развитие новых кровеносных сосудов, что поддерживает рост и выживание опухолевых клеток [102]. В целом растворимые сигнальные молекулы вырабатываются как клетками ММ, так и клетками стромы КМ и поддерживают выживаемость и костномозговую пролиферацию ММ [70].

Ангиогенез играет ключевую роль в патогенезе ММ, оказывая значительное влияние на прогрессирование заболевания. С момента первого выявления в 1999 г., повышенная васкуляризация КМ прочно ассоциируется с ММ как одна из ее характерных морфологических признаков [168]. Основной триггер формирования новых кровеносных сосудов – это комплекс проангиогенных факторов, таких как TGF- $\beta$ , VEGF и bFGF, которые активно стимулируют ангиогенез, способствуя росту эндотелиальных клеток и образованию сосудистых структур.

Ранее упомянутый сигнальный белок, вырабатываемый клетками для стимулирования васкулогенеза (VEGF), и в особенности его изоформа VEGF-а, является главным белком-регулятором как нормального, так и патологического ангиогенеза. Рецепторы VEGF выявляются на поверхности стромальных клеток и ПК. Таким образом, задействованы механизмы аутокринной и паракринной обратной связи [112, 168]. Кроме того, выявлена корреляция между плотностью микрососудов и маркерами неблагоприятного прогноза при ММ [132].

Развитие ММ напрямую связано не только с ингибированием апоптоза, но и с уклонением опухолевых клеток от иммунного надзора. При анализе клеточного состава микроокружения КМ при ММ наблюдается усиленная экспрессия CD84 на клетках, что в свою очередь, активирует синтез белка PD-L1 (лиганд запрограммированной клеточной смерти 1), который играет ключевую роль в подавлении активности Т-клеток. PD-L1 сверхэкспрессируется в клеточных линиях миеломы и клетках миеломы пациентов, а его лиганд PD1 обнаруживается в Т-клетках пациентов с ММ. Высокая экспрессия PDL1 наблюдалась при рецидивирующей/рефрактерной ММ и коррелировала с неблагоприятным прогнозом [149].

Кроме того, цитокины IL-6, TGF- $\beta$  и IL-1 $\beta$  совместно стимулируют формирование подтипа Т-хелперов Th17, которые выделяют IL-17 – фактор, способствующий как иммуносупрессии, так и поддержанию опухолевого роста [170]. Исследования клеточного состава опухолевого микроокружения также выявили значительное, но неоднородное увеличение числа Т-лимфоцитов на стадии МГНЗ, отражая сложную картину иммунной реакции в ранних фазах заболевания. Сбой иммунных реакций при ММ сопровождается изменениями в различных клеточных популяциях. Зрелые макрофаги, экспрессирующие CD14, утрачивают экспрессию молекул главного комплекса гистосовместимости II класса (МНС-2), что приводит к приобретению ими иммуносупрессивных свойств. В тоже время, начиная со стадии тлеющей миеломы (smoldering multiple myeloma, ТММ), наблюдается снижение количества цитотоксических Т-клеток памяти, которые содержат гранзим В. При развитии ММ происходит угнетение активности цитотоксических Т-лимфоцитов, а также снижение функциональной активности  $\gamma\delta$  Т-клеток и натуральных киллеров (НК-клеток), что способствует нарушению иммунного надзора [192; 212].

## 1.2 Хромосомные нарушения

Патогенез ММ в большинстве случаев коррелирует с предшествующей трансформацией из МГНЗ, что обусловлено длительной антигенной стимуляцией различного происхождения. Важно отметить, что вероятность перехода ТММ в активную форму заболевания составляет приблизительно 10% ежегодно в течение первых пяти лет, около 3% в последующие пять лет и снижается до 1% через десять лет после постановки первоначального диагноза [90; 169]. Следовательно, центральный патогенетический механизм болезни заключается не в изолированных мутациях отдельных генов, а в системном сбое регуляции онкогенных сигнальных путей. Данное заключение привело к формированию концепции о двух основных моделях прогрессирования ММ. В соответствии с «моделью статического прогрессирования» пул злокачественных клеток формируется уже на стадии ТММ, а активная ММ развивается в результате непрерывной пролиферации этого клона. Согласно «модели спонтанной эволюции» прогрессирование заболевания происходит посредством клональной эволюции, сопровождающейся приобретением дополнительных хромосомных транслокаций, aberrаций и точечных мутаций [154]. Последующие генетические изменения, возникающие в злокачественном клоне зрелых плазматических клеток, включают вариации числа копий генов, нарушения паттернов метилирования ДНК и соматические мутации, которые потенцируют опухолевую прогрессию. На всём пути развития от стадии МГНЗ через ТММ до терминальной стадии активной ММ последовательно регистрируется комплекс цитогенетических аномалий [90].

Своевременное выявление и правильная оценка генетических aberrаций существенно влияет на определение группы прогноза, а также на выбор терапии [165]. В клинической практике различают две основные категории цитогенетических нарушений при ММ – первичные и вторичные аномалии. Первичные аномалии считаются ключевыми инициаторами патологического процесса, начиная с самых ранних стадий, включая МГНЗ. Эти генетические изменения запускают каскад биологических процессов, приводящих к развитию ММ, что делает их критически важными для понимания природы заболевания и разработки новых терапевтических стратегий. Вторичные аномалии, в свою очередь, появляются на более поздних этапах и определяют дальнейшую эволюцию патологического клона и клиническую картину [165; 180].

Первичные нарушения можно разделить на две основные категории, каждая из которых встречается примерно с одинаковой частотой. Первая категория включает опухоли, в которых происходят транслокации с участием гена тяжелой цепи иммуноглобулина (IgH). Вторая категория охватывает опухоли с трисомиями на нескольких хромосомах, часто обозначаемые как гипердиплоидные. Прогноз для пациентов с гипердиплоидными опухолями обычно более

благоприятен, тогда как наличие транслокаций в области IgH связано с неблагоприятным исходом. При этом примерно у 10% пациентов наблюдаются как трисомии, так и транслокации IgH. Есть данные, что в абсолютном большинстве данные транслокации возникают ввиду неточной рекомбинации в процессе переключения классов антител, а также в некоторых случаях при V(D)J-рекомбинации, ведущей к формированию антигенраспознающих участков антител [106]. В процессе развития заболевания и увеличения опухолевой массы нарастает частота выявления транслокаций с вовлечением IgH, достигая 50% при МГНЗ, около 70% – при интрамедуллярной миеломе, 90% – при экстрамедуллярной ММ [22].

С большей вероятностью трисомии на ранней стадии ММ, определяются по нечетным хромосомам 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 и/или 21, что приводит к гипердиплоидному кариотипу [60]. Следующий комплекс цитогенетических событий, характеризующий развернутую стадию ММ, включает моносомию хромосомы 13 и делецию ее длинного плеча, выявляется у 35-40 и 6-10% больных соответственно, а также изменение числа копий хромосомы 1, моносомию хромосомы 17 и делецию ее короткого плеча [105]. Международная рабочая группа по миеломе разработала классификацию ММ с учетом цитогенетических особенностей, которая приведена в Таблице 1 [190].

Таблица 1 – Частота встречаемости хромосомных aberrаций

Цитогенетическая группа	Частота встречаемости
Гипердиплоидные	45
Диплоидные	40
Транслокации с вовлечением локусов генов	
<i>CCND1, CCND2, CCND3</i>	18
t(11;14)(q13;q32)	16
t(6;14)(p25; q32)	2
t(12;14)(p13; q32)	менее 1
Транслокации <i>NSD2 (MMSET):t(4;14)( p16;q32)</i>	15
Транслокации <i>MAFA:</i>	8
t(14;16)(q32;q23)	5
t(14;20)(q32;q11)	2
t(12;14)(p13;q32)	1
Неклассифицированные опухоли	15

Анализ данных ретроспективного исследования с включением 484 пациентов с впервые диагностированной множественной миеломой (ВДММ) позволил выявить важные закономерности в распределении генетических aberrаций и их влиянии на прогноз заболевания. Особенно примечательной оказалась высокая частота трисомий, которая была подтверждена у 60% всех пациентов, включенных в исследование. Интересно, что среди пациентов с цитогенетическими аномалиями высокого риска, такими как делеция гена *TP53*, транслокации  $t(4;14)$ ,  $t(14;16)$  и  $t(14;20)$  – трисомия также присутствовала у 40% больных [36; 117]. Важным выводом исследования стало то, что общая выживаемость (ОВ) пациентов с трисомией в группе высокого риска незначительно отличалась от выживаемости пациентов с ММ стандартного риска. Для сравнения, пациенты с ММ высокого риска без трисомии характеризовались значительно более короткой выживаемостью. Прогноз течения заболевания при наличии трисомии значительно зависит от вовлеченной хромосомы. В недавнем анализе, проведенном на выборке из 965 пациентов с ММ, были выявлены существенные различия в выживаемости в зависимости от типа трисомии. Особенно положительную тенденцию демонстрировали случаи с трисомией хромосом 3 и 5, где показатели выживаемости оказались выше по сравнению с другими вариантами. Напротив, трисомии таких хромосом, как 7, 9, 11, 15, 17, 18 и 19, не приносили заметных улучшений в ОВ и зачастую воспринимались как нейтральные или даже неблагоприятные факторы прогноза. Отдельного внимания заслуживают пациенты с трисомией хромосомы 21, у которых наблюдалась сниженная ОВ, что может указывать на более агрессивное течение болезни [117].

ММ с транслокацией IgH может быть выявлена примерно у трети случаев ВДММ. Данная форма ММ состоит из нескольких подтипов, наиболее часто встречающимися из которых являются  $t(4;14)(p16.3;q32.3)$ ,  $t(6;14)(p25;q32)$ ,  $t(8;14)(q24;q32)$ ,  $t(11;14)(q13;q32)$  и  $t(14;16)(q32.3;q23)$  [60; 110]. В каждой из этих транслокаций онкоген с хромосомы партнера транслоцируется в IgH область на хромосоме 14q32. Таким образом, генами с нарушенной регуляцией в этих транслокациях являются: 11q13 (*CCND1* 67 (ген *cyclin D1*)), 4p16.3 (*FGFR-3* и *MMSET*), 6p21 (*CCND3* (ген *cyclin D3*)), 16q23 (*c-MAF*) и 20q11 (*MAF-B*) соответственно [29].

У некоторых пациентов с ММ могут отсутствовать характерные цитогенетические изменения, такие как транслокации IgH или трисомии. Вместо этого у них выявляются: изолированная моносомия 14 – встречается у 4,5% больных ММ, транслокации с участием локусов легких цепей иммуноглобулинов на хромосомах 2 или 22, другие редкие аномалии. Отсутствие выявления стандартных цитогенетических маркеров у этой категории пациентов может быть связано с техническими ограничениями диагностики, включая недостаточный набор специализированных зондов. Кроме того, у части больных ММ цитогенетические нарушения вообще не определяются. Это может объясняться малым количеством ПК, доступных для

исследования, или наличием нестандартных генетических aberrаций, которые пока не выявляются рутинными диагностическими методами.

В любом из первичных подтипов ММ могут возникать вторичные цитогенетические аномалии, которые неоднозначно влияют на прогноз течения заболевания. Одной из самых изученных и часто встречающихся (более 80%) цитогенетических аномалий при несекретирующей ММ является транслокация  $t(11;14)(q13;q32)$ . В ходе этой транслокации происходит разрыв в участке *bcl-1* на хромосоме 11, локализованном в области 11q13. После разрыва данный фрагмент переносится на хромосому 14, где находится locus тяжелой цепи иммуноглобулина (14q32). Транслокация  $t(11;14)(q13;q32)$  встречается при различных лимфопролиферативных новообразованиях, включая мантийноклеточную лимфому, пролимфоцитарный лейкоз, а также фолликулярную и лимфоплазмочитарную лимфомы [43; 111]. Характерной чертой В-клеток с данной хромосомной перестройкой является их склонность к лимфоплазмочитарной дифференцировке (чаще при продукции IgM), что в большинстве случаев ассоциировано с низкой моноклональной секрецией. В исследовании, включавшем 409 пациентов с ВДММ, получавших высокодозную химиотерапию (ВДХТ) в течение первого года после установления диагноза, проведен анализ выживаемости. Несмотря на традиционную трактовку транслокации  $t(11;14)$  как маркера стандартного риска, ее наличие коррелировало с худшей ОВ по сравнению с группой стандартного риска. Применение поддерживающей терапии на основе бортезомиба или леналидомида после индукционного этапа ВДХТ позволило нивелировать негативное влияние цитогенетических маркеров высокого риска [178, 188]. По данным пятилетнего наблюдения, показатели ОВ у пациентов высокого риска, получавших поддерживающую терапию после индукционного этапа ВДХТ, не имели статистически значимых отличий от таковых в группе стандартного риска [30; 116].

У порядка 10% пациентов выявляется транслокация  $t(4;14)$ , которая является независимым фактором неблагоприятного прогноза [110]. Транслокация приводит к образованию производных хромосом, в которых 2 гена находятся под контролем энхансеров IgH: рецептор фактора роста фибробластов 3 (FGFR3) и ядерный рецептор SET доменный белок 2 (NSD2) [29]. Точный механизм, посредством которого нарушение регуляции этих предполагаемых онкогенов приводит к агрессивному фенотипу ММ с транслокацией  $t(4;14)$ , до конца не изучен. У большинства пациентов с транслокацией  $t(4;14)$  наблюдается сверхэкспрессия FGFR3, однако неблагоприятный прогноз сохраняется и у пациентов с отсутствием экспрессии [111]. Известны результаты исследований о более частом обнаружении транслокации  $t(4;14)$  при трансформации МГНЗ в ММ [110]. Изначально транслокация  $t(4;14)$  была классифицирована как маркер промежуточного риска, поскольку ассоциировалась с химиочувствительной формой заболевания. Однако последующие исследования показали, что применение бортезомиба позволяет минимизировать негативное прогностическое влияние

данной цитогенетической аномалии, что привело к ее переклассификации в категорию высокого риска [29; 215]. На сегодняшний день проведение аутоТГСК является стандартом лечения ММ высокой группы цитогенетического риска, однако данных о влиянии аутоТГСК на течение ММ с t(4;14) недостаточно. Результаты исследования, в котором сравнивались результаты аутоТГСК у пациентов с ММ с транслокацией t(4;14) и без нее, показали, что по сравнению с пациентами без t(4;14) у пациентов с t(4;14) были хуже показатели выживаемости без прогрессирования (БПВ) (медиана – 9,9 мес. против 25,8 мес.;  $p=0,0003$ ) и ОВ (медиана – 18,3 мес. против 48,1 мес.;  $p<0,0001$ ) [101]. В исследовании CIBMTR проведено сравнение исходов трансплантации у пациентов с ММ с выявленной транслокацией t(4;14) (группа высокого цитогенетического риска) и пациентов стандартного риска. Анализ показал статистически значимое снижение трехлетней БПВ (28% против 49%) и ОВ (60% против 85%) в группе с цитогенетическими аномалиями высокого риска [111; 183].

Практически у половины пациентов с МГНЗ уже на ранних этапах заболевания выявляется моносомия 13 или делеция 13q, что указывает на её важную роль в патогенезе ММ [29]. Однако роль данной хромосомной перестройки при МГНЗ и ТММ на сегодняшний день не определена. В контексте патогенеза ММ делеции в области длинного плеча хромосомы 13 (13q) обычно затрагивают регион 13q14, где локализован ген-супрессор опухолевого роста *RB1*. У пациентов с агрессивными формами заболевания в опухолевых клетках часто выявляется биаллельная инактивация данного гена, что ассоциируется с неблагоприятным прогнозом. Помимо этого, делеции 13q могут распространяться на локус 13q21.33, содержащий ген *DIS3*. Этот ген кодирует каталитическую субъединицу экзосомы – мультибелкового комплекса, который участвует в регуляции клеточного метаболизма и контроле качества матричной РНК [51; 216].

У пациентов с активной ММ стандартное цитогенетическое исследование выявляет данную аномалию примерно у 10-15% пациентов, а при использовании FISH-исследования частота обнаружения достигает 50% [180]. Несмотря на это, влияние данных хромосомных изменений на прогрессирование МГНЗ и ТММ до сих пор остаётся предметом обсуждения. Моносомия хромосомы 13, которая выступает в качестве вторичного генетического события, ассоциируется с более короткой выживаемостью и худшим ответом на стандартную терапию или ВДХТ [35].

Делеции короткого плеча хромосомы 17 (17p) приводят к гемизиготному состоянию гена-супрессора опухолевого роста *TP53*, который расположен в локусе 17p13 [203]. Указанные цитогенетические аномалии хромосомы 17 выявляются при кариотипировании клеток пациентов с МГНЗ с относительно высокой частотой [101].

Однако на ранних стадиях у пациентов с МГНЗ делеция 17p встречается редко (около 1% случаев) [125]. Среди пациентов с ВДММ этот показатель составляет порядка 11%, а при прогрессировании заболевания частота может возрастать выше 70%. В клетках опухоли часто

возникают соматические мутации, инактивирующие второй аллель гена *TP53* [83]. Наличие делеции 17p (*del(17p)*) ассоциировано с ухудшением показателей выживаемости как после проведения стандартных схем химиотерапии, так и после выполнения аутоТГСК. Однако важно отметить, что пациенты с *del(17p)* представляют собой клинически неоднородную группу, причём ключевое прогностическое значение имеет именно биаллельная инактивация *TP53*, которая рассматривается в качестве драйверной мутации, определяющей опухолевый рост [130]. В исследовании, включившем 59 пациентов с ВДММ, было выявлено, что пациенты с делецией гена *TP53* (19 человек) имели достоверно меньшую медиану общей выживаемости (14 мес. против 39 мес.) [99]. Данная цитогенетическая аномалия способствует низкой частоте достижения ПР, развитию ранних рецидивов, трансформации в плазмоклеточный лейкоз и формированию экстрамедуллярных очагов поражения [74; 83].

Увеличение копийности короткого плеча хромосомы 1 или отдельных его регионов объединяют под термином *+1q*. Аномалии, связанные с удвоением участка 1q, могут возникать на ранних этапах развития ММ. Уже при МГНЗ такие изменения выявляются примерно у 20-30% пациентов. По мере прогрессирования болезни и постановки диагноза ММ частота выявления *+1q* увеличивается и колеблется в пределах от 20 до 50%, а в некоторых случаях достигает 80% на более поздних стадиях. При этом, согласно ряду исследований, амплификация 1q21 на стадии МГНЗ встречается крайне редко, однако у пациентов с диагнозом ММ она отмечается примерно в 40% случаев. Согласно имеющимся данным, амплификация 1q (более четырех копий), абберрации 1q21 и делеция 1p ассоциированы с прогрессией заболевания и неблагоприятным прогнозом [135; 181]. Особое внимание уделяется усилению копий в области 1q21, где расположен ген *CKS1B* – его избыточная экспрессия способна стимулировать активность сигнальных каскадов MEK/ERK и JAK/STAT3. В то же время, несмотря на традиционное мнение о том, что аномалии, связанные с добавлением дополнительного материала 1q, ухудшают прогноз, некоторые учёные напротив подчеркивают неоднородность группы пациентов и взаимное влияние хромосомных перестроек, таких как транслокации *t(4;14)* и *t(14;16)*. На протяжении десяти лет наблюдения, при наличии двух, трех или более трех копий участка 1q21, БПВ составила, соответственно, 72,2%, 42,5% и 43,4% [97]. Особую клиническую значимость имеет усиленная амплификация 1q21, охватывающая четыре и более копий гена *CKS1B*. Это сочетание, которое относят к группе ультравысокого риска, ассоциировано с крайне неблагоприятным прогнозом [209].

### 1.3 Геномный ландшафт и сигнальные клеточные пути

Злокачественные опухоли характеризуются рядом ключевых признаков: способность поддерживать постоянные сигналы для клеточного деления, умение обходить механизмы подавления роста, стимулирование образования новых кровеносных сосудов, уход от иммунного контроля, а также активное продвижение через ткани с последующим метастазированием и устойчивость к программируемой клеточной смерти. Мутация генома опухолевых клеток определяется как основополагающий признак, инициирующий злокачественную трансформацию [103].

Генетическая гетерогенность ММ проявляется не только в образцах разных пациентов, но и у одного и того же больного в виде сосуществования различных генотипов опухолевых ПК, которые могут различаться в зависимости от локализации в организме. На всём протяжении заболевания ММ характеризуется олигоклональностью, при этом количественный и качественный состав опухолевых клонов, а также их доминирование, могут подвергаться динамическим изменениям [109]. В 2010 г. первые попытки изучения экзома клеток миеломы не выявили уникальных изменений, патогномоничных для данного заболевания [203]. Уровень клональной гетерогенности ММ напрямую коррелирует с прогностическим риском, определяемым на основании клинико-лабораторных показателей.

Исследование, проведённое J.J. Keats и соавт., показало, что у пациентов, входящих в категории среднего и высокого риска, отмечалось существенное нарастание субклональной гетерогенности, коррелирующее с увеличением агрессивности течения заболевания. Напротив, на протяжении всего курса специфического лечения у пациентов, отнесённых к группе низкого риска (что составляло приблизительно треть от общей когорты), наблюдался стабильный генетический профиль [111].

В настоящее время известно свыше 60 генов, играющих ключевую роль в развитии ММ и связанных с её канцерогенезом [109]. Мутации каждой определенной опухоли можно условно разделить на три типа, учитывая их роль в патогенезе заболевания: первый тип мутаций, так называемые драйверные мутации, которые инициируют развитие заболевания; второй – мутации в мутаторных генах, ускоряющих накопление изменений в геноме; третий – нейтральные, возникающие по причине нарастания темпа мутагенеза в миеломных клетках, не влияя при этом на развитие опухоли. Анализ опубликованных данных показывает, что рост мутационной нагрузки опухолевых клеток ассоциирован с более тяжелым течением болезни [197; 205].

Приблизительно у 50% пациентов с ММ выявляются мутации, приводящие к нарушению передачи сигнала по пути MAPK/ERK (гены *NRAS*, *KRAS*, *BRAF*, *EGR1*, а также *FGFR3*).

Биологическая значимость данных генетических вариантов систематизирована в Таблице 2. Около 15% пациентов с ММ имеют мутации, затрагивающие гены, участвующие в репарации ДНК, такие как *TP53*, *ATR*, *ATM* и *ZFHX4*, что ассоциировано с сокращением продолжительности жизни. Кроме того, мутации, вовлекающие сигнальный путь NF-κB, могут быть обнаружены примерно у 20% пациентов с ММ и затрагивают гены *TRAF3*, *NFKBIA*, *BIRC2/3* или *CYLD* [211]. Дисфункция пути PI3K наблюдается у пациентов с транслокациями, вовлекающими гены семейства *MAF*. Мутации в генах *CCND1/2/3*, *CDK4/6* и *RBI* нарушают регуляцию клеточного цикла и коррелируют с неблагоприятными клиническими исходами [52; 206].

Таблица 2 – Биологическое значение наиболее часто встречающихся мутаций при ММ (NCT01554852, CRUK/09/014)

Ген	Биологическое значение	Частота встречаемости
<i>NRAS</i>	MAPK- сигнальный путь	25%
<i>KRAS</i>	MAPK- сигнальный путь	19-23%
<i>TP53</i>	Супрессор опухолевого роста, вовлеченный в репарацию ДНК и апоптоз	5-15%
<i>FAM46C</i>	Процессы трансляции	10%
<i>BRAF</i>	MAPK- сигнальный путь	5-15%
<i>TRAF3</i>	NF-κB-сигнальный путь	2-6%
<i>EGR1</i>	Транскрипционный фактор	3-6%
<i>FAT3</i>	Клеточная адгезия (кадгерины)	5-7%
<i>CCND1</i>	Регуляция процессов клеточного цикла	3%

Гены семейства *RAS*. Наиболее часто выявляемыми мутациями при множественной миеломе являются изменения в генах семейства *RAS*. Согласно исследованию, проведенному W. Chang и соавт., мутации этих генов обнаружены у 23% пациентов (102 из 561), при этом 17% (74 случая) приходятся на ген *NRAS*, а 6% (28 случаев) – на ген *KRAS* [56]. Белки семейства *RAS*, являясь мембраносвязанными, играют ключевую роль в передаче внешних сигналов внутрь клетки, функционируя в сигнальном каскаде Ras-Raf-MAPK, который запускает последовательность киназных реакций.

Активация сигнального каскада RAS-MAPK активирует процессы генной экспрессии. Если в гене *RAS* возникает мутация, усиливающая его активность, данный путь начинает работать постоянно, что способствует бесконтрольному делению клеток и последующему канцерогенезу

[56]. Мутационные изменения в *RAS* связаны с переходом ММ от ограниченного поражения костного мозга к более агрессивной экстрамедуллярной форме [40]. Кроме того, помимо влияния на рост опухоли, мутации в этих генах участвуют в формировании лекарственной резистентности [171].

Исследование G. Mulligan и соавт. выявило, что у пациентов, у которых присутствовала мутация *NRAS* при отсутствии изменений в гене *KRAS*, эффективность монотерапии бортезомибом была значительно снижена. У таких пациентов наблюдалась как меньшая частота положительного ответа ( $p=0,016$ ), так и более быстрое наступление прогрессирования заболевания ( $p=0,012$ ). Эти результаты позволяют предположить, что механизм действия бортезомиба направлен на этап, предшествующий активации сигнальных путей, связанных с выживанием клеток, опосредованным *NRAS*, что ограничивает его способность эффективно уничтожать миеломные клетки с данной мутацией [140].

*BRAF*. Киназа *BRAF* играет ключевую роль в передаче сигнала от белков семейства *RAS* к следующим компонентам сигнального каскада *MAPK*. В случае ММ частота мутаций в гене *BRAF* колеблется в пределах от 4 до 14,9% [171]. Наиболее распространённой является мутация в 600-м кодоне, при которой валин заменяется на глутаминовую кислоту (вариант V600E). Существуют данные, что носительство этой мутации связано с более агрессивным течением заболевания, снижением общей выживаемости пациентов, а также с высокой вероятностью появления экстрамедуллярных компонентов, выявляемых в более чем половине случаев [27].

*c-MYC*. Белок *c-myc*, являющийся протоонкогеном, играет ключевую роль в многочисленных сигнальных каскадах, запускаемых рецепторами на мембране клеток. Его избыточная экспрессия тесно связана с начальной фазой неопластической трансформации и ускоренным клеточным делением [44]. Кроме того, усиленная экспрессия *c-myc* способствует развитию геномной нестабильности, что связано с активацией митохондрий и повышенным образованием активных форм кислорода [68]. Этот процесс может приводить к хромосомным перестройкам, таким как транслокации [118].

*CCND1* и *CCND2*. Белки из семейства D-циклинов, в частности *CCND1* и *CCND2*, играют ключевую роль в контроле клеточного цикла, обеспечивая переход клетки из фазы G1 в фазу S. Эти высококонсервативные регуляторные субъединицы киназ взаимодействуют с опухолевым супрессором *Rb*, при этом их синтез усиливается под влиянием *Rb*. В патогенезе ММ ранние молекулярные изменения, такие как IGH-транслокации, гипердиплоидия и трисомии, приводят к значительному увеличению экспрессии данных циклинов [171].

*Notch2*. Белки из семейства *Notch* играют ключевую роль в контроле процесса гемопоэза. Их дефицит приводит к сбоям на поздних этапах созревания В-клеток [175]. Блокирование активности белков из семейства *Notch* способствует запуску апоптоза в опухолевых клетках,

нейтрализует лекарственную резистентность, а также влияет на поведение плазматических клеток, включая их миграцию, рециркуляцию и обновление [124]. Кроме того, белки Notch могут способствовать развитию ММ, за счёт повышения уровня интерлейкина-6 (IL-6), который является важным стимулятором клеточного деления [63; 152].

Гены семейства *WNT*. В патогенезе ММ нарушение WNT-сигнального пути выполняет двойственную функцию: с одной стороны, способствует выживанию опухолевых клеток, с другой – участвует в процессах образования костной ткани, оказывая противодействие заболеванию. При проникновении миеломных клеток изменённое костномозговое микроокружение продуцирует WNT-лиганды, которые запускают аномальную активацию WNT-сигнализации, направленную на поддержание жизнеспособности опухоли. Кроме этого, клетки ММ экспрессируют антагонисты WNT, предназначенные для ингибирования нормальной WNT-сигнализации в костном мозге и подавления остеогенеза, что опосредует разрушение костной ткани [3]. Комплексное воздействие сигнальных клеточных путей на патогенез ММ представлено на Рисунке 1.

Согласно современным данным, эпигенетические нарушения, такие как глобальное гипометилирование ДНК и локус-специфическое гиперметилирование, а также аномальная экспрессия и/или мутации в генах, кодирующих ферменты метилирования ДНК, играют существенную роль в патогенезе ММ, способствуя геномной нестабильности, прогрессированию заболевания и развитию рецидивов. Более того, накапливаются доказательства того, что формирование генетически гетерогенных опухолевых клонов, ответственных за лекарственную резистентность среди зрелых и незрелых ПК, в значительной степени обусловлено изменениями паттернов метилирования ДНК. Подобная эпигенетическая гетерогенность позволяет опухолевым клеткам адаптироваться к терапевтическому воздействию и формировать устойчивость. Этиологические факторы, приводящие к нарушению метилирования ДНК в опухолевых клетках, остаются не до конца изученными, однако наиболее вероятной причиной считается дисфункция экспрессии и/или активности генов, регулирующих данный процесс. Повышенная экспрессия *DNMT3B*, *DNMT1* и *DNMT3A* регистрируется при многих солидных опухолях и гематологических злокачественных новообразованиях, включая ММ. Кроме того, при ММ также выявляются мутации в генах, участвующих в модификации метилирования ДНК, которые ассоциируются с сокращением продолжительности жизни пациентов. Хотя мутации в генах эпигенетической регуляции обнаруживаются лишь у 4% пациентов на момент первичной диагностики, их частота существенно возрастает при развитии рецидива, особенно в случае мутаций в генах *DNMT3A* и *TET2*. В то же время, мутации в генах *DNMT1*, *DNMT3B*, *TET1* и *TET3* при ММ встречаются значительно реже [54; 78].

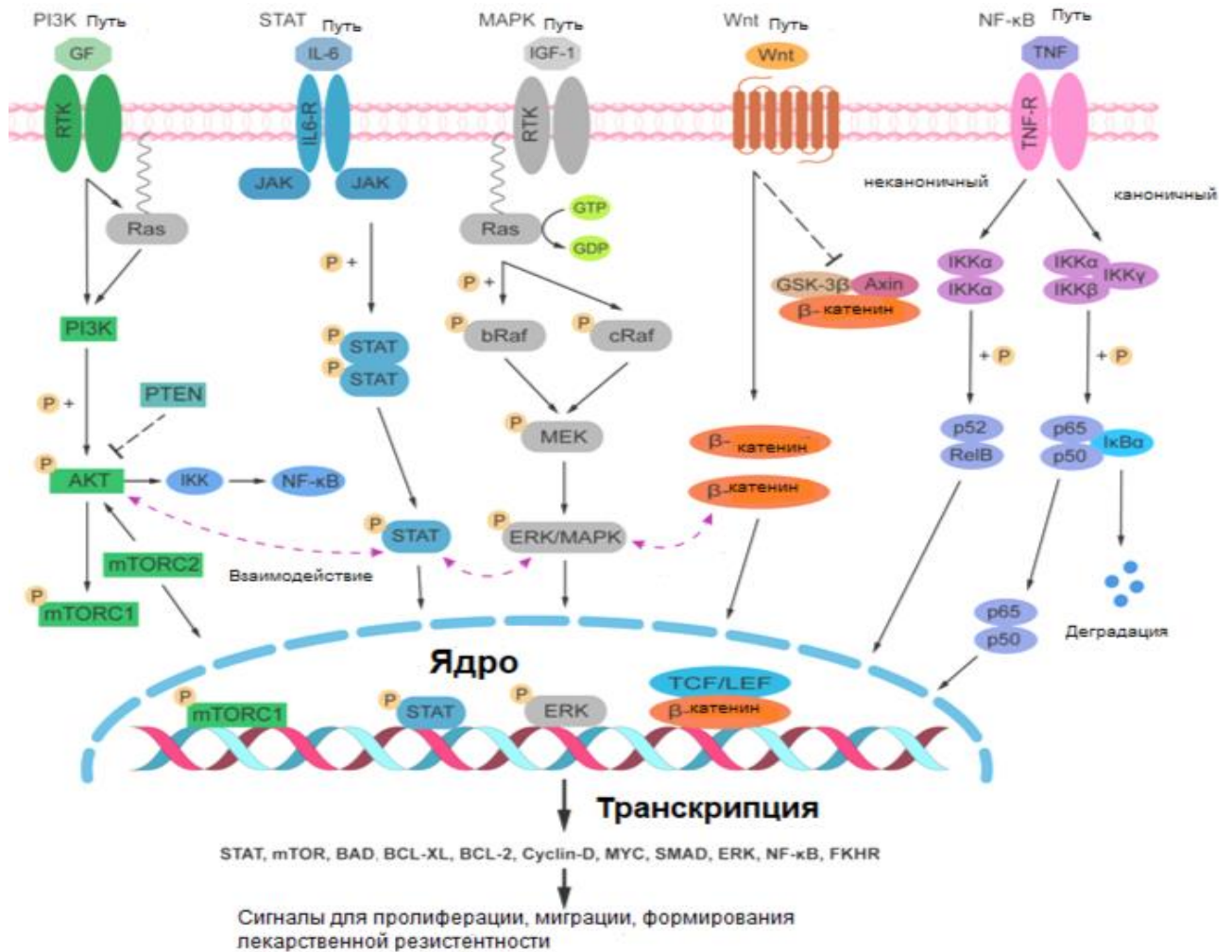


Рисунок 1 – Сигнальные пути в патогенезе ММ

На сегодняшний день известно, что эпигенетические нарушения, включая глобальное гипометилирование ДНК и локус-специфическое гиперметилирование ДНК, а также aberrантная экспрессия и/или мутации в генах, модифицирующих метилирование ДНК, играют важную роль в развитии ММ, геномной нестабильности, прогрессировании заболевания и возникновении рецидивов. Более того, становится все более очевидным, что в основе развития генетически гетерогенных опухолевых клонов, обуславливающих лекарственную резистентность среди зрелых и юных ПК, лежат процессы модификации метилирования ДНК [87]. Такая эпигенетическая неоднородность позволяет ПК адаптироваться к проводимому лечению и сформировать устойчивость. Причины нарушения метилирования ДНК в опухолевых клетках в настоящее время неизвестны, но наиболее вероятным объяснением является нарушение экспрессии и/или изменение активности генов, регулирующих метилирование ДНК. Гиперэкспрессия *DNMT1*, *DNMT3A* и *DNMT3B* может быть отмечена при многих солидных и

гематологических формах неоплазий, включая ММ. Кроме того, при ММ также наблюдаются мутации в генах, модифицирующих метилирование ДНК, которые коррелируют с более короткой продолжительностью жизни. Хотя мутации в генах эпигенетической регуляции наблюдаются только у 4% пациентов на момент постановки диагноза, их частота значительно возрастает при рецидиве, особенно в случае мутаций в генах *DNMT3A* и *TET2*. Напротив, мутации в генах *DNMT1/3B* и *TET1/3* при ММ встречаются реже [57; 130].

Изучение клональной эволюции, являющейся важным патогенетическим механизмом ММ, позволяет объединить данные о хромосомных аномалиях и молекулярно-генетическом профиле. Это способствует более детальному анализу клинических особенностей и механизмов возникновения рецидивирующих и устойчивых форм заболевания. Глубокое понимание нарушений в сигнальных путях клетки, открывает новые возможности для создания персонализированных методов лечения пациентов с ММ.

## ГЛАВА 2. АКТУАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ

### 2.1 Проблемы и перспективы диагностики и прогнозирования множественной миеломы

Диагностика ММ – обязательный этап ведения пациентов в обычной клинической практике. Для точного диагноза, определения масштаба поражения миеломным клоном и степени вовлечения органов-мишеней требуется тщательное исследование образцов крови, костного мозга и костной ткани. Совместный анализ результатов цитогенетических исследований, FISH и биохимических маркеров важен для прогнозирования течения заболевания. ММ, как и ряд других заболеваний, характеризуется специфическими признаками, которые оказывают существенное влияние на клинику и прогноз.

В современном подходе к прогнозированию ММ выделяют четыре ключевых направления. Первое направление связано с оценкой риска на основе стадии заболевания, индекса пролиферации ПК, а также результатов цитогенетики и геномного профиля экспрессии (GER). Второе направление связано с динамическим мониторингом ответа на проводимое лечение, что предполагает измерение уровней свободных легких цепей иммуноглобулинов, соотношения различных цепей и использование методик визуализации. Третья категория охватывает методы выявления минимальной остаточной болезни (МОБ), включая анализ циркулирующих плазматических клеток и глубину терапевтического ответа. Наконец, четвертый блок включает в себя изучение новых биомаркеров прогноза заболевания [148, 165].

Одной из первых систем стадирования больных ММ была классификация Durie&Salmon (DS), предложенная в 1975 г. Исходя из известного уровня продукции иммуноглобулина одной плазматической клеткой и периода его полураспада, была рассчитана общая численность плазматических клеток в организме пациента, что позволило определить размер опухолевой массы. К минусам данной системы можно отнести использование показателей, связанных с опухолевой нагрузкой, при этом не учитываются специфические биологические характеристики клона ПК. Кроме того, рентгенологический способ выявления литических изменений обладает субъективной составляющей, так как его результаты во многом зависят от квалификации и опыта специалиста [98].

В 2005 г. Международная рабочая группа по ММ (IMWG) представила Международную систему стадирования (ISS), которая базируется на анализе концентраций  $\beta$ 2-микроглобулина и альбумина в сыворотке крови [58; 94]. Уровень  $\beta$ 2-микроглобулина служит маркером опухолевой массы и состояния почек, тогда как количество альбумина отражает активность воспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-6, продуцируемых микроокружением при ММ. Кроме того,

для оценки тяжести заболевания часто учитывают сывороточный уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ), который свидетельствует о скорости клеточной пролиферации опухоли [72; 195].

В 2015 г. была предложена пересмотренная Международная система стадирования (R-ISS), которая представляет собой комбинацию ISS, результатов цитогенетического исследования и уровня ЛДГ сыворотки крови [151]. Хотя шкала R-ISS удобна в применении, её нельзя считать идеальной, поскольку она, как и многие аналогичные системы, обладает рядом недостатков. В частности, следует подчеркнуть, что состав шкалы ограничен: в неё не включены некоторые клинические и биологические параметры, которые уже доказали свою прогностическую значимость. Особенно важно отметить, что дополнительное число копий 1q21, играющее значимую роль, в R-ISS не учитывается [59; 107].

В обзоре G. Ravi и W. Gonsalves выделяются две основные категории факторов, влияющих на прогноз пациентов с ВДММ [172]. К первой группе относятся индивидуальные особенности больного, в частности – возраст, наличие сопутствующих заболеваний, наличие почечной дисфункции. Вторая группа объединяет параметры, непосредственно связанные с самим заболеванием. В неё включены цитогенетические аномалии высокого риска, такие как t(14;20), амплификация 1q, делеция 1p, а также различные хромосомные перестройки, которые помимо прочего учитываются в шкале R-ISS. Особое внимание уделяется вовлечению локуса *MYC*. Кроме того, важными показателями считаются маркеры, свидетельствующие о высокой скорости клеточного деления, такие как увеличенный уровень ЛДГ и более 2% плазматических клеток, находящихся в S-фазе клеточного цикла. Также учитывается профиль экспрессии генов, ассоциированных с высоким риском, а также избыточное количество плазматических клеток, циркулирующих в периферической крови, и присутствие экстрамедуллярных очагов. Исследователи C. Wallington-Beddoe и R. Mynott также делают акцент на необходимости учета различных биомаркеров, в т.ч. полученных с помощью секвенирования нового поколения [207].

В 2015 г. В. Walker и соавт. предложили метод стратификации пациентов по риску ISS-MUT, который расширяет традиционную шкалу R-ISS, включая анализ мутаций в генах *TP53*, *ZFH4*, *CCND1* и *ATM/ATR*, а также учитывает определённые хромосомные изменения, такие как дополнительные копии 1q21 и транслокации с участием *MYC* [206]. В другом исследовании была предложена модификация шкалы ISS за счёт выделения двух групп высокого риска: пациентов с биаллельной инактивацией *TP53* и тех, у кого обнаружена амплификация 1q21 с количеством копий гена *CKS1B* не менее четырёх. Это позволило более точно классифицировать пациентов по степени риска [135].

mSMART – прогностическая система, созданная специалистами клиники Мейо в США, которая фокусируется на обнаружении цитогенетических aberrаций высокого риска. Принцип работы mSMART заключается в концепции «двойных» и «тройных» мутаций – одновременного

наличия нескольких неблагоприятных генетических аномалий, что оказывает значительное влияние на прогноз и определение терапевтической стратегии для пациентов с ММ [204; 115].

Работа N. Abdallah с соавт., представленная в публикации 2022 г., предлагает новую систему стадирования MASS (The Mayo Additive Staging System), основанную на оценке влияния ряда ключевых клинических и генетических факторов на формирование клинических исходов. В зависимости от количества обнаруженных неблагоприятных прогностических маркеров, пациенты были разделены на группы. К этим маркерам относятся: наличие IGH-транслокаций высокого риска, таких как t(4;14), t(14;16), t(14;20), увеличение числа копий 1q, делеция части или всей хромосомы 17 (del(17p) или моносомия 17), а также III стадия по шкале ISS и повышенный уровень ЛДГ. В результате проведенной классификации исследователи определили три когорты с равным числом больных, продемонстрировавшие существенные различия в БПВ и ОБ [29; 210]. Показатели выживаемости по группам риска представлены в Таблице 3.

Таблица 3 – Системы стадирования и показатели выживаемости у пациентов с ММ

Система стадирования	Медиана ОБ, мес.	Медиана БПВ, мес.
<b>R-ISS</b>		
Стадия I	Не достигнута	66
Стадия II	83	42
Стадия III	43	29
<b>m-SMART</b>		
Стандартный риск	Не достигнута	43
Высокий риск	48	29
<b>R2-ISS</b>		
Низкий риск (0 баллов)	Не достигнута	68
Промежуточный низкий риск (0,5-1 балл)	109,2	45,5
Промежуточный высокий риск (1,5-2,5 баллов)	68,5	30,2
Высокий риск (3-5 баллов)	37,9	19,9

Продолжение таблицы 3

Система стадирования	Медиана ОБ, мес.	Медиана БПВ, мес.
MASS		
MASS I (0 баллов)	124,8/не достигнута	36,7/не достигнута
MASS II (1 балл)	79,2/ не достигнута	31,3/75,6
MASS III ( $\geq 2$ баллов)	39,6/68,4	18,8/43,4

Помимо генетических аспектов, определяющих течение ММ, следует также обратить внимание на лабораторные показатели. Исследование, проведенное T. Dejoie и соавт., выявило, что аномальное соотношение СЛЦ в сыворотке крови у пациентов с ММ служит самостоятельным прогностическим маркером. При уровне СЛЦ ниже медианного значения пятилетняя выживаемость достигает 82%, тогда как у пациентов с показателями выше медианы этот показатель снижается до 30% ( $p=0,0001$ ) [71]. Поскольку период полувыведения СЛЦ составляет менее 6 часов, регулярное измерение их уровня во время терапии способствует своевременному отслеживанию уменьшения опухолевой массы и позволяет оперативно оценивать эффективность проводимого лечения [1].

Прогноз течения ММ ассоциирован с рядом характеристик ПК, среди которых важную роль играют уровень их пролиферации и количество циркулирующих в крови клеток и плазмобластная морфология [91; 137]. Индекс пролиферации отражает процент ПК, находящихся в S-фазе цикла деления клетки, что позволяет судить о способности клональных ПК к делению [85]. Было выявлено, что на момент постановки диагноза ММ показатели индекса пролиферации и концентрации  $\beta 2$ -микроглобулина обладают самостоятельной прогностической значимостью. Эти параметры позволяют предположить длительность БПВ и вероятность летального исхода [98]. Исследование H. Chang и соавт. показало, что у пациентов с ММ, у которых методом FISH выявлена делеция 13q14, наблюдается тенденция к увеличению показателей пролиферации ПК [50]. Сегодня оценка индекса пролиферации ПК преимущественно осуществляется на гистологическом материале (костный мозг, опухолевые образцы) [79]. Кроме того, циркулирующие ПК, выявляемые с помощью мультипараметрической проточной цитометрии, рассматриваются как один из ключевых предикторов эффективности лечения у пациентов с ВДММ. Работа, проведенная S. Pawlun и соавт., выявила, что число циркулирующих ПК служит самостоятельным маркером, прогнозирующим снижение общей выживаемости у пациентов с ММ высокого риска [155].

Впрочем, так как прогностические значения этих факторов сложно воспроизводимы, они используются редко. Тем не менее, на сегодняшний день доказана тесная взаимосвязь между глубиной терапевтического ответа и длительностью БПВ и ОВ пациентов с ММ. Ключевым стимулом для разработки инновационных способов оценки МОБ стал тот факт, что у значительной части пациентов с ММ, достигших ПР, после терапии происходит рецидив заболевания. В 2006 г. с целью повышения точности оценки ремиссии Международная исследовательская группа по множественной миеломе (IMWG) выступила с инициативой расширить существующее определение строгой полной ремиссии (сПР), включив в него новые параметры. Данные показатели включают достижение нормальных уровней свободных лёгких цепей иммуноглобулинов в сыворотке крови, а также отсутствие клональных ПК в КМ. Последнее должно быть верифицировано посредством биопсии КМ с использованием иммуногистохимического анализа и/или полимеразной цепной реакции [76, 114].

Традиционные количественные методы ПЦР оказываются недостаточно эффективными для отслеживания клональной эволюции при рецидивах болезни, что часто приводит к пропуску истинных положительных случаев [179]. Кроме того, анализ *IGH*-перестроек осложняется необходимостью одновременно исследовать несколько локусов, что значительно увеличивает сложность и затраты на проведение теста. В отличие от этого, технологии секвенирования нового поколения (NGS) предоставляют возможность всестороннего и точного выявления изменений в генах *IGH*, *IGK* и *IGL*, как на этапе диагностики заболевания, так и при оценке глубины ремиссионного статуса. Разрешающая способность новых технологий достигает 1 клетки на  $10^{-6}$  [86].

Особое значение при диагностике внекостномозгового поражения при ММ имеет использование позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) с  $^{18}\text{F}$ -фтордезоксиглюкозой, совмещённой с компьютерной томографией (КТ). Анализ данных ПЭТ/КТ позволяет выявить наличие и количество очагов с аккумуляцией ПК в костях и КМ. В зависимости от того, обнаружено ли менее трёх или более трёх таких очагов, а также с учётом прогноза, определяемого по шкале R-ISS, пациентов можно распределить на четыре различные группы. Каждая из этих категорий характеризуется значительными различиями в показателях ОВ и ВБП [85]. Помимо перечисленных факторов, значимыми могут оказаться циркулирующие плазматические клетки, уровень которых обратно связан с показателями ВБП и ОВ [91]. Рост концентрации цистатина С служит индикатором почечной недостаточности и представляет собой достаточно специфичный биомаркер ММ [214]. Инновационные подходы включают объединение шкалы R-ISS с анализом экспрессии ключевых генов, связанных с ММ [85], а также применение 3D-исследования теломерного профиля [167], что открывает новые перспективы в диагностике и прогнозировании заболевания.

## 2.2 Подходы к терапии множественной миеломы

Каждый новый случай ВДММ требует от клинициста решения целого ряда задач. Наибольшее значение придается вопросу интеграции генетических данных и клинических показателей (возраст больного, коморбидный фон, наличие дисфункции почек, степень поражения костей) [11].

Пациентам с ВДММ в возрасте до 65 лет, которые являются кандидатами для аутоТГСК, перед этапом мобилизации и забора гемопоэтических стволовых клеток крови (ГСКК) выполняется курс индукционного лечения. Клинический протокол индукционной терапии включает проведение 3-4 циклов лечения, направленных на достижение максимально возможного уменьшения опухолевой массы (эрадикации клона злокачественных клеток). Следует отметить, если пациент получал более четырех циклов терапии с леналидомидом, то для эффективной мобилизации ГСКК может быть показано применение плериксафора [202].

Говоря о выборе индукционной программы терапии, на сегодняшний день существует широко признанное мнение о высокой эффективности бортезомиба в качестве базового компонента первой линии терапии ММ, особенно у пациентов с острым почечным повреждением и повышенной вероятностью патологических переломов [113; 183]. Комбинированное лечение бортезомибом и дексаметазоном (VD), применяемое в шесть циклов с аутоТГСК, показало, что до проведения трансплантации общий уровень ответов достигает 65%, причем значительная часть положительных реакций возникает уже после первых двух курсов. После выполнения аутоТГСК общий ответ (ОО) у пациентов увеличивался до 88%, при этом полный ответ (ПО) отмечалась у 33% больных, а очень хороший частичный ответ (ОХЧО) – у 22% [150].

Алкилирующие агенты занимают важное место в терапии ММ, показывая высокую клиническую эффективность. Так циклофосфамид, в отличие от мелфалана, не обладает кумулятивным токсическим действием на ГСКК, что создает возможность их последующего забора после завершения индукционного этапа лечения. Режим терапии VCD (бортезомиб, циклофосфамид, дексаметазон) представляет собой одну из наиболее эффективных комбинаций на основе ингибитора протеасом. Данная схема в настоящее время утверждена в качестве стандартного протокола терапии первой линии при ММ. В исследованиях этот режим обеспечил высокий процент ответов – 61% пациентов достигли уровня  $\geq$  ОХЧО, а около 40% ПО или неподтвержденный ПО (нПО) [100; 173].

Введение бендамустина в группу алкилирующих средств открыло возможность сравнить его эффективность со схемой МР (мелфалан, преднизолон). В исследовании, посвященном терапии пациентов с ВДММ, программа ВР (бендамустин, преднизолон) показала общий ответ у 75% больных, тогда как при МР этот показатель составил 70%. При этом уровень частичного ответа (ЧО) был значительно выше при использовании бендамустина – 32% против 13%. Кроме того, медиана БПВ оказалась достоверно лучше в группе бендамустина и составила 15 мес., в сравнении с 12 мес. у пациентов, получавших мелфалан с преднизолоном [128].

Комплексное противоопухолевое действие оказывают иммуномодуляторы. Однако наибольшая эффективность достигается при использовании сочетания иммуномодуляторов и ингибиторов протеасом, что значительно повышает уровень объективного ответа на терапию. В настоящее время в лечении ВДММ наиболее применяемым является триплет VRd – комбинация бортезомиба (еженедельные введения), леналидомида, дексаметазона. Такая схема терапии обеспечивает частоту достижения ЧО в диапазоне от 23% до 48% среди пациентов [77].

Раннее выполнение аутоТГСК может иметь ключевое значение для пациентов со стандартным и высоким риском, в особенности, если основной целью лечения является достижение ПО [65]. Кроме того, если трансплантация не была осуществлена в рамках первой линии терапии, то при первом прогрессировании ММ следует рассмотреть возможность проведения аутоТГСК [38], что обсуждается в контексте применения новых классов лекарственных препаратов [55]. Пациентам, не достигшим ПО или ОХЧО после первой аутоТГСК, рекомендуется рассмотреть проведение повторной процедуры в период от 6 до 12 мес. Напротив, те, кто после первой аутоТГСК достигает ЧО или ОХЧО, вряд ли получают преимущество в показателях выживаемости при проведении немедленной повторной трансплантации; для этой когорты пациентов оптимальной стратегией может стать отсрочка второй процедуры до наступления следующей ремиссии [66; 89].

Эффективность тандемной аутоТГСК остается предметом дискуссий. Современные рандомизированные исследования указывают на отсутствие значимых преимуществ данной технологии у пациентов из группы стандартного и высокого цитогенетического риска. Тем не менее, обращаясь к более ранним данным, применение тандемной аутоТГСК продемонстрировало улучшение показателей ОВ [48; 153].

В 2024 г. результаты обширного исследования третьей фазы PERSEUS были опубликованы, подтверждая эффективность новой терапевтической комбинации D-VRd, которая превышает результаты применения традиционной схемы VRd. В исследование было включено 706 пациентов с ВДММ, которым было проведено четыре цикла индукционной терапии с использованием либо D-VRd, либо VRd, за которыми следовали аутоТГСК и два цикла консолидационной терапии, схожей с индукционной, и затем поддерживающее лечение.

В поддерживающем лечении группы D-VRd использовались даратумумаб и леналидомид (RD). Включение моноклональных антител против CD38 в первичные лечебные программы улучшило процент пациентов, достигших МОБ-отрицательного статуса до и после аутоТГСК [69]. Пациентам, у которых в течение не менее 12 мес. сохранялся стабильный МОБ-отрицательный ответ с чувствительностью  $10^{-5}$ , через два года прекращали назначение приема даратумумаба, продолжая лечение только леналидомидом до появления прогрессирования заболевания. В то же время в группе VRd пациенты получали исключительно леналидомид в поддерживающей фазе, также до прогрессирования. Доля пациентов с МОБ-отрицательным ответом на уровне  $10^{-5}$  была значительно выше в группе D-VRd – 75,2%, по сравнению с 47,5% в группе VRd ( $p < 0,0001$ ). Аналогично, частота МОБ-отрицательного ответа с чувствительностью  $10^{-5}$  достигла 65,1% в D-VRd против 32,2% в VRd ( $p < 0,0001$ ). Процентное соотношение составило 64,8, по сравнению с 29,7, ( $p < 0,0001$ ). Таким образом, устойчивый МОБ-отрицательный ответ ( $10^{-5}$ ) длиной не менее 12 мес. наблюдался преимущественно у пациентов, получавших даратумумаб в сочетании с леналидомидом [82]. В версии 1.2025 руководство NCCN выделяет использование квадриплета D-VRd как предпочтительный вариант терапии для пациентов, готовящихся к проведению аутоТГСК [141].

Также в выборе терапии требуется учитывать наличие генетических факторов риска. Появляются данные, свидетельствующие о том, что негативное влияние хромосомной перестройки  $t(4;14)$  на эффективность терапии бортезомибом может быть частично нейтрализовано. У пациентов, подходящих для трансплантации и имеющих одновременно  $t(4;14)$  и делецию 17p, показатели ответов на лечение, а также БПВ и ОВ остаются на примерно на одном уровне и не демонстрируют значительных изменений [100]. Результаты исследований показали, что леналидомид способен частично компенсировать неблагоприятные эффекты  $t(4;14)$  и  $del(17p)$  в отношении БПВ, однако не влияет существенно на ОВ. В то же время сочетание бортезомиба и леналидомида с дексаметазоном значительно уменьшает негативное влияние этих генетических аномалий на БПВ [189].

В зависимости от клинической ситуации могут применяться альтернативные терапевтические подходы, отличающиеся от ранее упомянутых. Для пациентов с экстрамедуллярным поражением зачастую рекомендуют использовать комбинации препаратов, включающие антрациклины. Например, схемы PAD (бортезомиб, доксорубин, дексаметазон) и VD-PACE (бортезомиб, дексаметазон, цисплатин, доксорубин, циклофосфамид, этопозид) показывают свою эффективность при наличии экстрамедуллярных очагов [77]. При развитии острого почечного повреждения применение леналидомида связано с повышенным риском токсических реакций, что делает предпочтительным использование бортезомиб-содержащих комбинаций, например, даратумумаб в сочетании с VCd [136; 200]. Несмотря на отсутствие

убедительных данных из рандомизированных контролируемых испытаний, подтверждающих долгосрочную эффективность этих схем, в отдельных ситуациях они могут иметь значительное клиническое значение.

Абсолютных противопоказаний к аутоТГСК не существует. Тем не менее, к общепринятым ограничениям относят возраст старше 65-70 лет, наличие множества сопутствующих заболеваний (высокий индекс коморбидности), ухудшение когнитивных функций и плохой функциональный статус организма [7]. Проведение аутоТГСК у пожилых и ослабленных пациентов несет в себе риск нежелательной токсичности и преждевременной смертности [84; 93].

При определении терапевтической стратегии для пожилых пациентов часто используется комбинация бортезомиба, мелфалана и преднизона (VMP) [57]. В рамках рандомизированного исследования III фазы (VISTA) сравнивалась эффективность VMP и MP (мелфалан, преднизолон) в терапии 682 пожилых пациентов (средний возраст 71 год) с ВДММ [128]. При медиане наблюдения 60 мес. VMP показала лучшую медиану ОБ (56,4 против 43,1 мес.) и 5-летнюю ОБ (46% против 34%) по сравнению с MP. Кроме того, данный режим позволил продлить время до назначения следующей линии терапии (30,7 и 20,5 мес. соответственно). Результаты актуальных клинических исследований III фазы по лечению пациентов с ВДММ, не являющихся кандидатами для аутоТГСК, представлены в Таблице 4.

Таблица 4 – Результаты оценки показателей эффективности современной терапии у пациентов с ВДММ, не являющихся кандидатами для аутоТГСК, в исследованиях III фазы

Характеристика	MAIA [81]	ALCYONE [129]	CEPHEUS [200]
Рандомизация	DRd vs Rd (n=952)	D-VMP vs VMP (n=706)	D-VRd/D-Rd vs VRd/Rd (n=395)
Общий ответ (ОО)	92 vs 81 (p<0,001)	90 vs 73 (p<0,001)	97 vs 92 (p<0,0001)
ПО/сПО	47 vs 24 (p<0,001)	42 vs 24 (p<0,001)	81 vs 61 (p<0,0001)
МОБ-отрицательный статус	32 vs 11 (p<0,0001)	28 vs 7 (p<0,0001)	60 vs 39 (p<0,0001)

Продолжение таблицы 4

Характеристика	MAIA [81]	ALCYONE [129]	CERNEUS [200]
Медиана БПВ, мес.	61 vs 34 ( $p < 0,0001$ )	36 vs 19 ( $p < 0,0001$ )	НД vs 52 ( $p = 0,0005$ )
Медиана ОБ, мес.	90 vs 64 ( $p < 0,0001$ )	82 vs 53 ( $p < 0,0001$ )	ОР 0,85; 95% ДИ 0,58-1,24
Медиана наблюдения, мес.	89	74	58
Примечание – НД – не достигнуто			

Интеграция моноклональных антител, направленных против CD38 (даратумумаб, изатуксимаб), в протоколы терапии первой линии при впервые диагностированной множественной миеломе (ВДММ) привела к значительному улучшению клинических исходов у пациентов пожилой возрастной группы. В рамках рандомизированного клинического исследования III фазы ALCYONE при медиане продолжительности наблюдения 74,7 мес. были получены следующие данные при оценке эффективности режима D-VMP: достижение ПО или сПО – 42% пациентов, МОБ-негативный ответ (чувствительность  $10^{-5}$ ) – 28%, в сравнении с 24% и 7% в группе VMP соответственно [129]. Достижение более глубокого терапевтического ответа ассоциировалось с улучшением показателей БПВ и ОБ в когорте пациентов, получавших терапию даратумумабом. Одним из ключевых преимуществ данной терапевтической стратегии является ограничение до 9 циклов интенсивного лечения D-VMP, после чего пациенты переходят на поддерживающее лечение даратумумабом, принимаемым один раз в четыре недели.

В клиническом исследовании SWOG S0777 третьей фазы альтернативой D-VMP и DRd является VRd триплет, который продемонстрировал превосходство по сравнению с Rd. В рамках другого исследования III фазы, MAIA, где сравнивались DRd и Rd, наблюдения проводились в течение 89 мес. Результаты показали, что медиана БПВ составила 61 мес. против 34 мес. ( $p < 0,0001$ ), а медиана ОБ – 90 мес. против 64 мес. ( $p < 0,0001$ ) для двух рандомизированных групп соответственно. В группе DRd вероятность достижения МОБ-отрицательного статуса была в три раза выше, чем в группе Rd, и улучшение ОБ наблюдалось у всех пациентов, достигших этого статуса [77].

В январе 2025 г. стали доступны результаты третьей фазы исследования CERNEUS, в котором были проанализированы две терапевтические схемы – D-VRd и VRd. В рамках исследования, участники получили один из двух вариантов лечения в течение восьми циклов, после чего они переходили к поддерживающему лечению с использованием DRd или Rd,

продолжая терапию до момента, когда начинались прогрессии ММ. У 60,9% участников, получавших D-VRd, был достигнут ответ с отрицательным статусом МОБ, тогда как в группе VRd этот показатель составил 39% ( $p < 0,0001$ ). При медиане наблюдения 58,7 мес. у пациентов, лечившихся по схеме D-VRd, медиана времени без прогрессирования болезни не была достигнута, в то время как в группе VRd она составила 52 мес. ( $p = 0,0005$ ). Данные по ОБ на данный момент отсутствуют. Следует отметить, что 21% всех летальных случаев в ходе исследования пришлось на период пандемии COVID-19 в 2020–2021 гг., когда вакцинация еще не была широко доступна [200].

Клинические исследования, включающие триплетные схемы (MAIA, ALCYONE) и квадриплетные комбинации (IMROZ, CEPHEUS) с применением моноклональных антител против CD38 (даратумумаб, изатуксимаб), показали хорошие результаты у пациентов с ММ в стадии рецидива или с рефрактерным течением, которые не являлись кандидатами для аутоТГСК.

### 2.3 Перспективы терапии множественной миеломы

В последние годы в области лечения ММ были достигнуты значительные успехи в области таргетной иммунотерапии. Новые группы препаратов включают в себя моноклональные антитела (МАТ), конъюгаты антител с лекарственными препаратами, биспецифические антитела, ингибиторы иммунных контрольных точек, Т-клетки с химерным антигенным рецептором (CAR-T), биспецифические активаторы Т-клеток (BiTE) (Рисунок 2). Разработка и оптимизация этих таргетных методов иммунотерапии открывают большие перспективы для улучшения результатов лечения пациентов с ММ.

Однако следует подчеркнуть, что на сегодняшний день разработку методов персонализированной терапии ММ нельзя считать вполне успешной. В рамках проекта MM-EP1 в институте Густава Русси (Institute Gustave Roussy) во Франции, исследователи анализировали 29 генов у 103 пациентов с рецидивирующей/рефрактерной формой ММ. На основании анализа проведенного обследования была определена терапевтическая стратегия согласно генетическому профилю каждого пациента. Так, 17% больных получали специализированную терапию, включая применение ингибиторов *BRAF*, например, вемурафениба или дабрафениба, основываясь на их индивидуальном генетическом профиле. Остальные 83% пациентов, для которых выбор целевой терапии не был возможен, составили контрольную группу. В результате пациенты, получившие персонализированное лечение, показали ОБ на уровне 65%, в то время как те, кто получал стандартное лечение, имели показатель ОБ 58% ( $p = 0,053$ ). Медиана БПВ была равна 9 мес. в

персонализированной терапии и 6 мес. в стандартной (ОР 0,96;  $p=0,88$ ). Медиана ОБ составила 26 мес. и 28 мес. соответственно (ОР 0,98;  $p=0,98$ ) [26; 159].

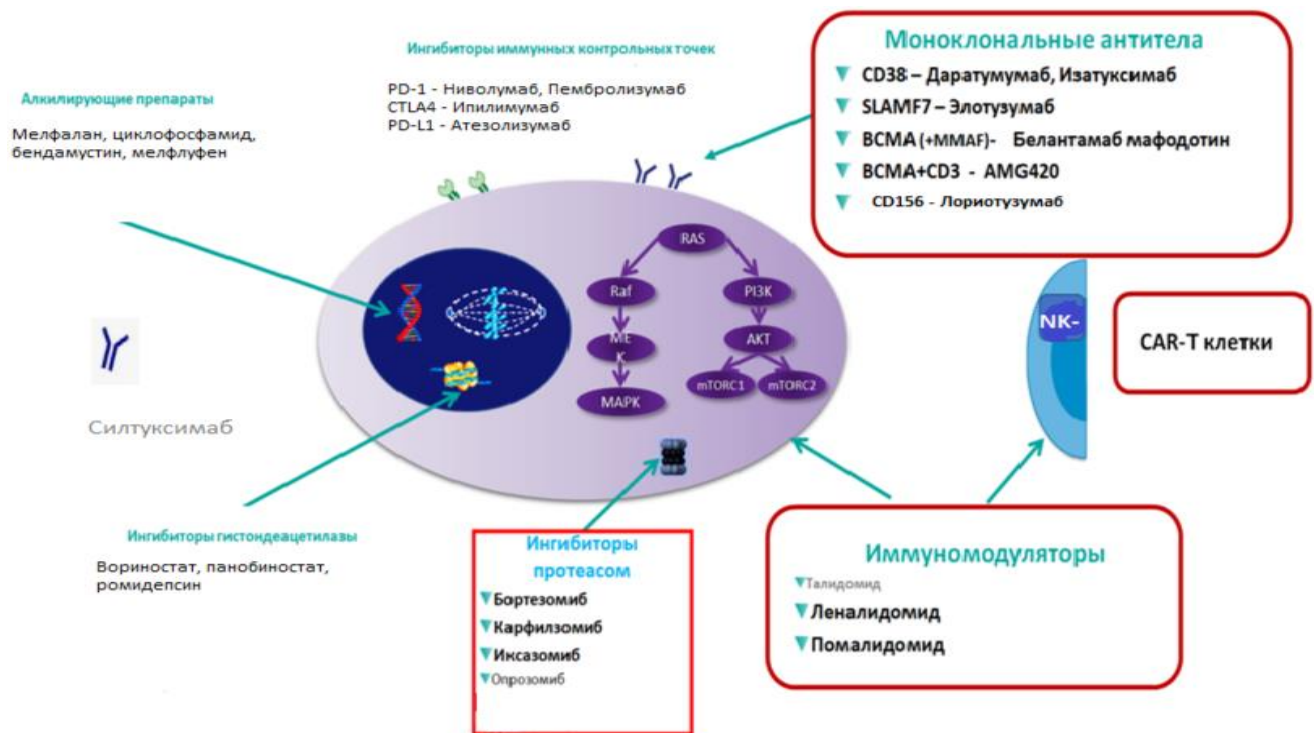


Рисунок 2 – Современная таргетная терапия ММ

В области лечения онкологических заболеваний, в частности ММ, значительные успехи были достигнуты благодаря прогрессу в иммунотерапии. Инновационные технологии, такие как CAR-T-клеточная терапия и биспецифические антитела, показали обнадеживающие результаты, подтверждая возможности для новых методик лечения. В первых клинических испытаниях наблюдались продолжительные и глубокие ремиссии у пациентов с рецидивирующей или рефрактерной ММ, которым не помогали традиционные схемы терапии, включая иммуномодуляторы, ингибиторы протеасом и антитела против CD38. Таким образом, эти инновационные методы могут стать альтернативой традиционным лекарственным схемам и аутоТГСК [17].

В исследовании III фазы CARTITUDE-4 были включены 414 пациентов с рецидивирующей/рефрактерной ММ после 1-3 предшествующих линий терапии [17]. У всех включенных в исследование пациентов была подтверждена резистентность к леналидомиду. Участники были рандомизированы в две группы: в экспериментальной группе применяли однократную инфузию цилтакабтагена аутолейсела, представляющего собой анти-BCMA CAR-

Т-клеточный препарат второго поколения, тогда как в контрольной группе проводили стандартную терапию по схемам Pvd или DPd до момента прогрессирования заболевания.

По результатам исследования, показатель выживаемости без прогрессирования составил 73% в группе CAR-T-терапии по сравнению с 22% в группе стандартного лечения. Частота достижения отрицательного статуса МОБ была существенно выше в экспериментальной группе и составила 60,6%, тогда как в контрольной группе данный показатель достигал 15,6%. При медиане наблюдения 15 мес. медиана времени до прогрессирования в группе цилтакабтагена аутолейседа не была достигнута, тогда как в группе стандартной терапии она составила 11,8 мес. (HR 0,26;  $p < 0,0001$ ).

В терапии ММ появляется перспективный класс препаратов – биспецифические антитела. Их уникальная структура позволяет одновременно взаимодействовать с опухолевыми антигенами, такими как BCMA, GPRC5D или FcRH5, которые находятся на поверхности миеломных клеток, и с рецептором CD3 на Т-лимфоцитах, что приводит к формированию цитотоксического иммунного синапса [119]. Ранние клинические испытания биспецифических антител, включая теклистамаб, талкетамаб и элранатамаб, показали обнадеживающие результаты у пациентов с рецидивирующей или рефрактерной формой ММ. Например, в исследовании MajesTEC-1, в котором участвовали 165 пациентов с р/р ММ, применение теклистамаба (нацеленного на BCMA/CD3) показало значимые терапевтические эффекты после не менее чем трех линий предшествующей терапии, включавших три класса препаратов, позволило достичь ПО/сПО в 46,1% случаев и МОБ-отрицательный ( $10^{-5}$ ) ответ – в 85,7% [157].

В исследовании EMN30/MajesTEC-4, в котором участвовали 94 пациента, теклистамаб показал хорошие результаты при лечении ВДММ в первой линии терапии, достигнув 100% МОБ-негативных ответов среди всех участников. Когда рассматривалось применение трех различных классов препаратов в трех линиях терапии, полный или строго полный ответ (ПО/сПО) наблюдался у 46,1% пациентов, а 85,7% достигли МОБ-отрицательного ответа. Наблюдение за пациентами в течение среднего периода в 30,4 мес. показало, что медиана времени до прогрессирования заболевания у пациентов с ПО/сПО еще не была определена. Биспецифические антитела, особенно в сочетании с традиционными противомиеломными средствами, продолжают изучаться, включая их применение в первой линии лечения.

#### 2.4 Проведение специфической терапии у пациентов с множественной миеломой в условиях пандемии COVID-19

Несомненно, что ММ протекает на фоне вторичной иммунной недостаточности, главным проявлением которой является склонность данной группы больных к смешанным инфекциям. У больных с ММ наблюдается дефект антителообразования, что клинически проявляется симптомами вторичного иммунодефицита. Кроме того, лечение опухоли нередко вызывает глубокое снижение уровня нейтрофилов, что значительно повышает вероятность инфекционных заболеваний. В результате вероятность заражения вирусными инфекциями у таких пациентов увеличивается в десятки раз [42].

Среди причин высокой восприимчивости к инфекционным агентам можно выделить следующие факторы [24; 42; 158; 217]:

- избыточный синтез моноклонального парапротеина и подавление поликлональных В-лимфоцитов ассоциировано с гипогаммаглобулинемией – явление, которое зарубежные исследователи часто называют «иммунопарезом»;
- нарушение функции лимфоцитов (изменение соотношения CD4/CD8, дисфункция естественных клеток-киллеров, паталогическое соотношение CD4+ Th1/Th2);
- иммуносупрессия, опосредованная лекарственными веществами;
- вторичная нейтропения, обусловленная постцитостатическим эффектом противоопухолевой терапии или массивной инфильтрацией костного мозга клетками опухолевого клона;
- контакт ПК с клетками стромы КМ, опосредованный рядом цитокинов, таких как трансформирующий фактор роста- $\beta$ 1, фактор роста гепатоцитов, VEGF и IL-6;
- дисфункция контрольных точек иммунитета, таких как CTLA-4 и PD-1, приводит нарушению равновесия между активирующими и подавляющими сигнальными механизмами, которые критически важны для контроля над иммунным ответом.

Особенно высокая вероятность гибели от инфекционных осложнений наблюдается у пациентов с ММ в первые три месяца после начала лечения и до старта индукционной терапии. В этот период организм находится в состоянии выраженного подавления иммунной системы, что связано как с большой опухолевой массой, так и с проведением специфической терапии [133].

В научных исследованиях все чаще отмечается корреляция между использованием различных противоопухолевых препаратов и ростом частоты инфекционных осложнений [177]. В этом контексте работа А. Allegra и соавт. отражает анализ данных, где систематизированы наиболее распространённые препараты, применяемые при лечении ММ, с кратким обзором их воздействия на вероятность возникновения инфекции во время курса специфической терапии [24]. Основные лекарства, используемые в рамках программной терапии ММ, представлены в Таблице 5.

Таблица 5 – Лекарственные препараты, применяемые в терапии ММ, и их влияние на риск развития инфекционных осложнений

Лекарственное средство	Частота инфекционных осложнений	Механизм
Дексаметазон	Повышена	Снижение показателей клеточного иммунитета
Леналидомид	Повышена	Нейтропения
Бортезомиб	Повышена	Супрессия, дисфункция дендритных и НК-клеток, изменение продукции цитокинов, нейтропения
Бисфосфонаты	Повышена	Дисфункция нейтрофилов
CD38+ моноклональные антитела (Даратумумаб)	Повышена	Уменьшение числа НК-клеток, регуляторных Т-клеток

Результаты ряда исследований указывают на то, что лечение с использованием карфилозомиба или сочетания помалидомида и даратумумаба не способствует росту риска инфекционных осложнений [217]. Некоторые исследования не выявили увеличения вероятности инфекционных заболеваний при применении иммуномодуляторов, таких как леналидомид и талидомид, а также ингибиторов протеасом, например, бортезомиба [213]. Поэтому вопрос влияния проводимой противоопухолевой терапии на течение COVID-19 остается открытым.

К январю 2025 г. ситуация с COVID-19 оценивалась как стабильная и контролируемая: уровень заболеваемости на каждые 100 тыс. человек снизился до 94,85, что почти в пять раз меньше, чем в декабре предыдущего года. Несмотря на общее улучшение эпидемиологической обстановки, пациенты с ММ остаются в группе высокого риска летального исхода. Исследования W. Liang и соавт. продемонстрировали, что у больных с подтвержденными злокачественными опухолями повышена вероятность развития нетипичной пневмонии, связанной с COVID-19, а также значительно возрастает риск серьезных клинических событий – необходимость в интенсивной терапии, применение инвазивной вентиляции лёгких или летальный исход [122].

Кроме того, необходимо учитывать характерное для коронавирусной инфекции развитие полиорганных осложнений. С 2020 г. для обозначения симптомов, которые сохраняются или возникают спустя недели и месяцы после инфицирования вирусом SARS-CoV-2, независимо от наличия самого вируса в организме, стали использовать термин «длительный COVID» («Long-COVID»). Позже данное состояние получило официальное наименование – PASC (post-acute

sequelae of COVID-19). На сегодняшний день этот термин широко применяется в медицине для описания долгосрочных последствий болезни. Состояние, обозначаемое как постковидный синдром и зарегистрированное в Международной классификации болезней (МКБ-10) под кодом U09.9, характеризует последствия перенесённой инфекции COVID-19. Точные данные о распространённости этого состояния отсутствуют, однако большинство учёных отмечают, что примерно у 20% пациентов симптомы сохраняются более пяти недель после острой фазы болезни. Ещё около 10% больных переносят продолжающиеся проявления инфекционных осложнений на протяжении трёх месяцев и более. В настоящее время постковидные симптомы чаще всего объясняют не вирусной активностью, а развитием аутоиммунных процессов, затрагивающих центральную и вегетативную нервную системы, а также сердечно-сосудистую систему и другие группы органов. При этом продолжительное нарушение баланса иммунной системы, вероятно, играет роль индикатора риска длительных остаточных нарушений [8; 14].

Вакцинация является одним из ключевых способов предотвращения распространения COVID-19. Тем не менее, при ММ данный метод демонстрирует ограниченную эффективность. Это объясняется сниженным уровнем как гуморального, так и клеточного иммунного ответа на мРНК-вакцину против коронавируса у таких пациентов [122]. По данным N. Chuleeragux и соавт. [61], у пациентов, получавших анти-CD38 моноклональные антитела или имеющих факторы высокого цитогенетического риска, частота выработки гуморального иммунного ответа была достоверно ниже: объединённое отношение шансов составило 0,36 (95% ДИ: 0,18, 0,69),  $I^2=0\%$  и 0,42 (95% ДИ: 0,22, 0,79),  $I^2=14\%$  соответственно. В то же время, у больных ММ, которые не получали специфическое лечение, вероятность ответа на вакцинацию была выше: объединённое отношение шансов составило 2,42 (95% ДИ: 1,10, 5,33),  $I^2=7\%$  [92].

## ГЛАВА 3. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1 Общая характеристика обследованных больных

В исследование включено 153 пациента с ММ, проживающих в Санкт-Петербурге, Ленинградской области и других регионах Северо-Запада России. Все участники этого исследования проходили лечение и находились под динамическим наблюдением в гематологической клинике ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России. Период, в течение которого осуществлялось наблюдение за пациентами, охватывает временной промежуток с 2011 по 2025 гг. Критерием включения был возраст старше 18 лет. Медиана возраста участников на момент установления диагноза составила 62 года, при этом диапазон возраста варьировался от 35 до 90 лет.

Диагностика ММ проводилась в соответствии с критериями, установленными Международной рабочей группой по изучению миеломы для случаев с измеряемым уровнем М-компонента (Таблица 6) [164]. Для стадирования заболевания и оценки риска использовалась Международная система стадирования ММ, а также ее пересмотренная версия, в зависимости от доступности исходных цитогенетических данных. Среди всех включенных в исследование пациентов наибольшее количество составили пациенты 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.

Таблица 6 – Диагностические критерии ММ

Клональные ПК по данным цитологического исследования КМ	Клональные ПК в КМ $\geq 10\%$ или $\geq 1$ доказанной по данным биопсии плазмочитом
Клинические события, связанные с миеломой	1 или более связанных с ММ событий: $\geq 1$ CRAB признака и $\geq$ биомаркера злокачественности: клональные ПК в КМ $\geq 60\%$ , соотношение FLC сыворотки $\geq 100$ , $>1$ фокального поражения

Продолжение таблицы 6

Клональные ПК по данным цитологического исследования КМ	Клональные ПК в КМ $\geq 10\%$ или $\geq 1$ доказанной по данным биопсии плазмоцитом
С: повышение кальция ( $>110$ мг/л или $>10$ мг /л выше ВГН)	
R: почечная недостаточность (клиренс Cr 20 мг/л)	
А: анемия (Hb < нормы)	
В: поражение костей ( $\geq 1$ литического поражения по данным рентгенологического, КТ или ПЭТ/КТ исследования)	

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 между полами составило 1:1. Продолжительность периода наблюдения в среднем составила 32,8 мес. Максимальная длительность наблюдения достигла 13 лет. Характеристика пациентов представлена в Таблице 7.

Таблица 7 – 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%)
Ауто-ТГСК проведена	81 (52,9%)
Без ауто-ТГСК	72 (47,1%)

У большинства пациентов уровень гемоглобина находился ниже референсных значений. Медиана уровня гемоглобина составила 103 г/л (52-103). Все биохимические показатели были

оценены у 149 больных. Медиана ЛДГ составила 208 Ед/л (69-732), повышенный уровень ЛДГ был выявлен у 34,6% (n=53). Тем не менее, у 80% (n=120) пациентов с ММ уровень креатинина сыворотки крови не превышал верхнюю границу нормы (ВГН). Медиана клиренса креатинина по формуле MDRD составила 68,1 (10,8-188) мл/мин. Хроническая болезнь почек (ХБП) была верифицирована у 71% (n=109) пациентов.

При исследовании гуморального иммунитета у всех пациентов были измерены значения сывороточных иммуноглобулинов. Медиана уровня IgG составила 19,9 г/л (0,6-116 г/л), IgM – 0,32 г/л (0,0-10,0 г/л), IgA – 0,7 г/л (0,06-45,6 г/л).

В процессе установления диагноза ММ использовались различные методики для определения уровня и активности моноклональных иммуноглобулинов и их легких цепей. Среди применяемых методов были капиллярный электрофорез и иммунофиксация, которые позволяли анализировать образцы сыворотки и мочи. Также проводилась количественная оценка иммуноглобулинов (IgA, IgG, IgM) в сыворотке крови и измерение уровней свободных и общих легких цепей иммуноглобулинов (FLC).

При оценке поражения органов-мишеней, особое внимание уделялось анализу функции почек. Это включало проведение биохимических тестов крови для измерения таких показателей, как креатинин, мочевины, мочевиная кислота, а также уровни электролитов, в том числе натрия и калия. Для оценки функционального состояния почек проводился подсчет скорости клубочковой фильтрации и клиренса креатинина. Также проводился общий анализ мочи, определение содержания белка в суточной моче и электрофорез белков мочи.

Для диагностики степени поражения КМ использовали различные подходы, включая клинический анализ крови с морфологическим исследованием мазков. Кроме того, применяли цитологическое исследование КМ, полученного методом аспирационной биопсии, и гистологический анализ материала, полученного при трепанобиопсии подвздошной кости. Для обнаружения клоальности ПК использовали методы иммунофенотипирования и иммуногистохимического анализа биопсийного материала.

В рамках исследования были также оценены уровни экспрессии различных маркеров дифференцировки клеток, включая CD138, CD38, CD45, CD19, CD20, CD27, CD28, CD56, CD117, а также легкие цепи иммуноглобулинов  $\kappa$  и  $\lambda$  и индекс пролиферации Ki67.

Результаты лабораторных исследований пациентов представлены в Таблице 8. Описательные характеристики представлены в виде описательных величин, количественные данные представлены медианой с разбросом, качественные в виде количества и процентного отношения от всех наблюдений.

Таблица 8 – Лабораторные показатели пациентов исследуемой группы

Показатели	N	Me	Мин	Макс
Гемоглобин, г/л	149	103	52	169
Тромбоциты, $10^9$ /л	149	260	11	495
Лейкоциты, $10^9$ /л	150	5,4	0,63	19,79
Общий белок, г/л	148	92,35	49,1	148,3
Альбумин, г/л	148	36,68	17,78	49,52
В2-микрoglobулин, мг/мл	150	4,3	1,2	16,0
ЛДГ, Ед/л	150	208	69	732
Клиренс креатинина (MDRD), мл/мин (медиана, диапазон)	148	68,1	10,8	188
Мочевина, ммоль/л	145	4,8	2,1	9,7
Кальций общий, ммоль/л	144	2,33	1,4	3,85
Кальций ионизированный, ммоль/л	147	1,27	0,69	2,37
М-компонент, г/л	150	34,22	0	81,17
Белок Бенс-Джонса, г/л	133	0,07	0	3,85
IgA	148	0,85	0,06	45,64
IgM	147	0,33	–	–
IgG	148	19,94	–	–
% ПК, цитология КМ	149	31,8	0,4	92,2
каппа/lambda	170	4,5	0,00	4606

Исследование костной системы выполнялось с помощью различных методов визуализации и лабораторных тестов. При первоначальном обследовании особое внимание уделялось рентгенографии плоских костей, таких как череп, ребра, таз, а также различные сегменты позвоночника, которые исследовались в двух разных проекциях. Отдельно рассматривались трубчатые кости. Для более детальной оценки плазмоцитом использовались такие методы, как МРТ позвоночника и тазовых костей, а также ПЭТ-КТ с применением фтордезоксиглюкозы ( $F^{18}$ ДГ) [147].

Индекс коморбидности Charlson был рассчитан для всей исследуемой популяции. Медиана данного показателя составила шесть баллов при диапазоне значений от 2 до 11 баллов. В исследуемой когорте было выявлено 84 пациента (54,9% от общей численности) с клинически

значимой коморбидностью, определяемой как сумма баллов по индексу Charlson, равная четырем или выше.

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 20 случаев (13,8%) с показателем ECOG, равным или превышающим два балла, включая 8 пациентов с ECOG, соответствующим трем баллам.

Кроме того, в исследуемой популяции пациентов с ММ (n=149) проведен анализ структуры сопутствующих заболеваний. Наиболее распространенными нозологическими формами в структуре коморбидной патологии являлись: артериальная гипертензия (n=50), хронический гастрит (n=27), хроническая сердечная недостаточность (n=25), ишемическая болезнь сердца (n=23), язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки (n=15), варикозная болезнь вен нижних конечностей (n=15). Структура клинически значимых сопутствующих патологий у пациентов, включенных в исследование, представлена на Рисунке 3.

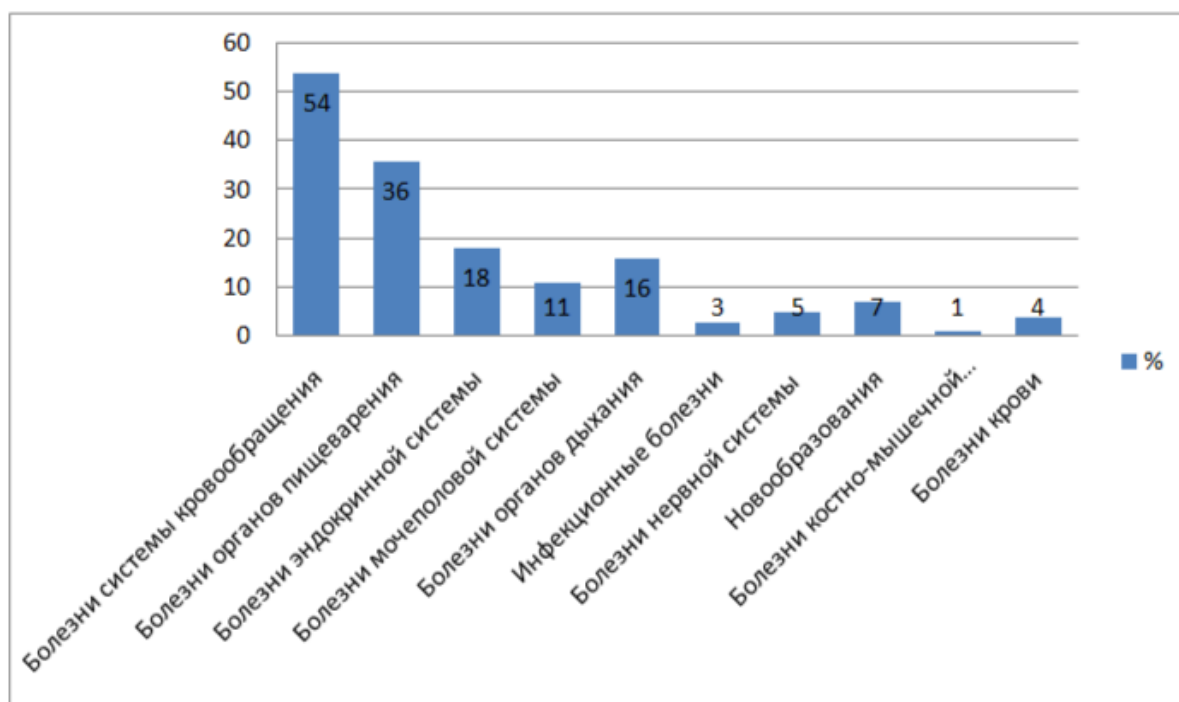


Рисунок 3 – Характеристика сопутствующих заболеваний у больных с ММ (n=153)

Инфекция COVID-19 в процессе проведения терапии и на догоспитальном этапе была верифицирована у 100 (65,3%) пациентов с ММ. Медиана наблюдения составила 22,3 мес. с максимальным периодом до четырех лет. При разделении по степени тяжести течения инфекции установлено, что легкая форма заболевания была верифицирована у 72 (72%) пациентов. Следует

отметить, что до начала специфического лечения вакцинация была проведена у 30% (n=30) больных. Характеристика пациентов, перенесших первичный эпизод коронавирусной инфекции, представлена в Таблице 9.

Таблица 9 – Характеристика пациентов при первичном эпизоде инфекции COVID-19 (n=100)

Характеристика	Все пациенты (n=100)	Легкое течение (n=72)	Тяжелое течение (n=28)
Пол			
Женский	57 (57,0%)	40 (55,6%)	17 (60,7%)
Мужской	43 (43,0%)	32 (44,4%)	11 (39,3%)
Статус болезни, n(%)			
Дебют/Ответ/Стабилизация	76 (76,0%)	61(84,7%)	15 (53,6%)
Прогрессирование/Рецидив	24 (24,0%)	11 (15,3%)	13 (46,4%)
Вакцинация			
Проводилась	30 (30,0%)	27 (37,5%)	3 (10,7%)
Не проводилась	70 (70,0%)	45 (62,5%)	25 (89,3%)
Трансфузионная зависимость			
Есть, n (%):	72 (72,0%)	56 (77,8%)	16 (57,1%)
Нет, n (%):	28 (28,0%)	16(22,2%)	12 (42,9%)
Терапия на момент COVID-19			
Иммуномодуляторы, n (%):	30 (30,0%)	21 (29,2%)	9 (32,1%)
Ингибиторы протеасом, n (%):	44 (44,0%)	34 (47,2%)	10 (35,7%)
Алкилирующие агенты, n (%):	29 (29,0%)	22 (30,6%)	7 (25,0%)
Глюкокортикостероиды, n (%):	68 (68,0%)	49 (68,1%)	19 (67,9%)
Моноклональные антитела, n (%):	32 (32,3%)	23 (31,9%)	9 (33,3%)

Повторные эпизоды инфекции отмечены у 39 пациентов, среди которых также преобладали пациенты с легким течением COVID-19 – 87,2% (n=34). Характеристика пациентов, повторно перенесших COVID-19, представлена в Таблице 10.

Таблица 10 – Характеристика пациентов, перенесших повторные эпизоды COVID-19

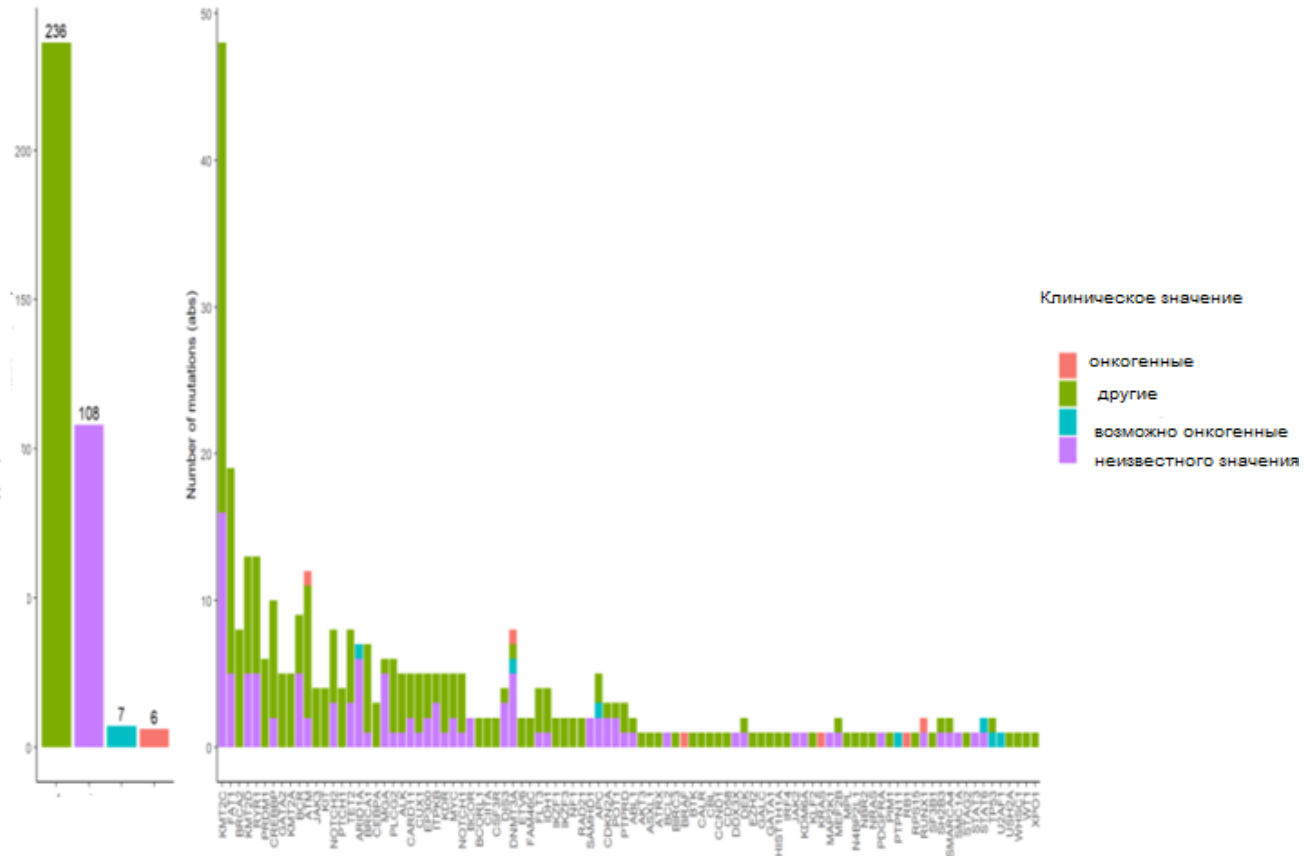
Характеристика	Все пациенты (n=39)	Легкое течение (n=34)	Тяжелое течение (n=5)
Пол			
Женский	22 (56,4%)	19 (55,9%)	3 (60,0%)
Мужской	17 (43,6%)	15 (44,1%)	2 (40,0%)
Возраст, медиана в годах	67,4	67,6	66,4
Индекс коморбидности Charlson, медиана	6,05	5,94	6,8
Стадия ММ по ISS, n (%):			
1	9 (23,07%)	8 (23,52%)	1 (20,0%)
2	11 (28,20%)	9 (26,47%)	2 (40,0%)
3	19 (48,73%)	17 (50,01%)	2 (40,0%)
Статус заболевания, n(%)			
Дебют/Ответ/Стабилизация	29 (74,4%)	25 (73,5%)	4 (80,0%)
Прогрессирование/Рецидив	10 (25,6%)	9 (26,5%)	1(20,0%)
Трансфузионная зависимость			
Есть, n (%):	28 (71,8%)	24 (70,6%)	4 (80,0%)
Нет, n (%):	11 (28,2%)	10 (29,4%)	1 (20,0%)

Исследование хромосомных перестроек методом FISH было выполнено у 147 пациентов, aberrации выявлены у 61/147 (41,9%) человек. Распределение хромосомных перестроек по частоте встречаемости представлено в Таблице 11.

Таблица 11 – Частота выявленных хромосомных aberrаций (n=147)

Хромосомная aberrация	N (n%)
<i>IGH/14q32</i>	26 (17,7%)
<i>Del17p</i>	16 (10,9%)
<i>DLEU/13q14.2</i>	24(16,3%)
<i>LAMP/13q34</i>	18 (12,2%)
<i>CKS1B/1q21</i>	28 (19,0%)
<i>CDKN2C/1p32</i>	8 (5,44%)
t(4;14)	3 (2,04%)
t(14;16)	1 (0,68%)
t(11;14)	7 (4,76%)
Double hit	2 (2%)
Triple hit	4 (2,7%)

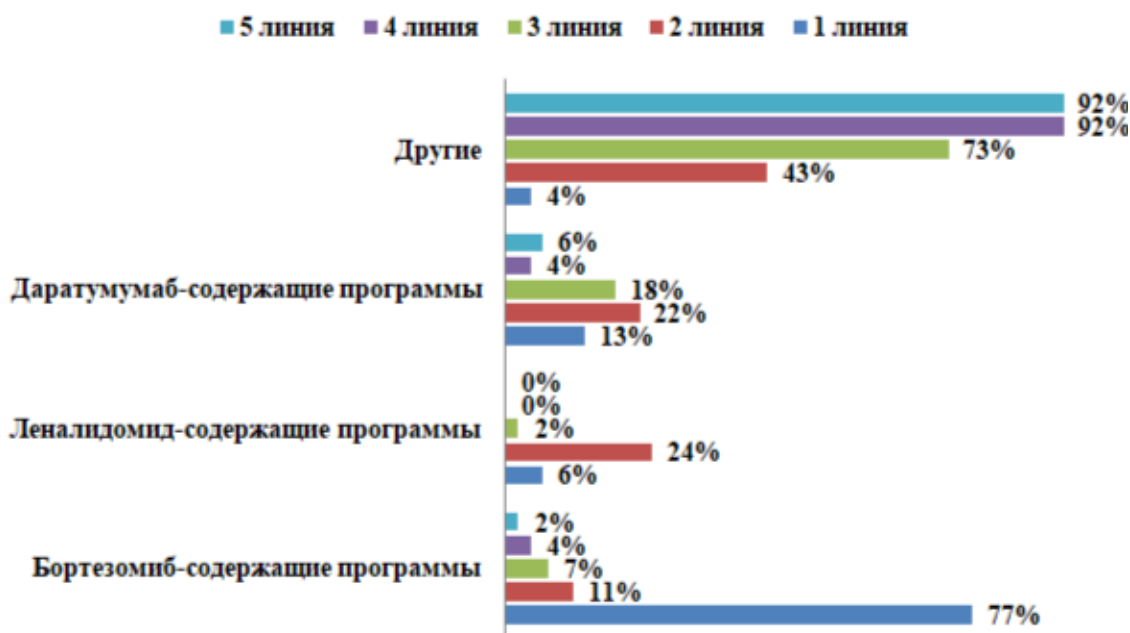
Секвенирование следующего поколения (NGS) было выполнено у 45 пациентов (29,4%). При проведении NGS было выявлено 500 мутаций генов, из них 2,0% (n=10) – вероятно патогенные, 1,2% (n=6) – патогенные и большинство (66,4%, n=332) выявленных мутаций были с неизвестным клиническим значением. Наибольшая частота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



<b>Патогенные мутации</b>	<i>ATM</i>	<i>BRAF</i>	<i>DNMT3A</i>	<i>KRAS</i>	<i>RB1</i>	<i>RUNX1</i>			
<b>Вероятно патогенные</b>	<i>APC</i>	<i>ARID1A</i>	<i>ATM</i>	<i>CDKN2A</i>	<i>DNMY3A</i>	<i>NRAS</i>	<i>PTPN11</i>	<i>STAT6</i>	<i>TP53</i>

Рисунок 4 – Мутационный ландшафт исследованной популяции (n=45)

Лечение пациентов проводилось в соответствии с Российскими клиническими рекомендациями по диагностике и лечению ММ, а также с учетом международных стандартов (NCCN, ESMO), принятых в период лечения больных. 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 5). Отклонения от схем лечения в виде изменения длительности цикла или их количества было обусловлено негативным влиянием пандемии COVID-19, что приводило к снижению интенсивности дозы. Медиана количества линий терапии равнялась двум (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 5 – Характеристика проводимой терапии (n=153)

Оценка статуса клеток микроокружения КМ проведена у 40 пациентов с ММ и медианой возраста 59 (51-68) лет, проходивших лечение в гематологической клинике ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России. Длительность наблюдения составила 33 мес. с максимальным периодом наблюдения 12,5 года. Медиана наблюдения составила 32,8 мес. с максимальным периодом наблюдения 13 лет. У большинства пациентов после проведения 1-й линии терапии был достигнут частичный ответ – 51,6% (n=21), рецидив после проведенного лечения отмечался у 27,3% (n=11) пациентов, прогрессирование – у 21,1% (n=8).

### 3.2 Лабораторные методы оценки клинического анализа крови и основных биохимических и иммунологических параметров

Клинические показатели периферической крови исследовались с использованием автоматизированных гематологических анализаторов, включая систему Sysmex XN-1000

и аналогичные аппаратные платформы. Подсчет лейкоцитарной формулы выполнялся методом световой микроскопии с последующей морфологической дифференцировкой клеточных элементов.

Биохимический состав сыворотки крови анализировался на автоматическом биохимическом анализаторе COBAS Integra 400 plus.

Концентрация иммуноглобулинов классов IgA, IgM и IgG в сыворотке крови измерялась методом нефелометрии с использованием автоматического анализатора специфических белков Image 800 производства Beckman Coulter (США) с применением стандартизированных наборов реагентов Image. Референсные интервалы для иммуноглобулинов были установлены следующим образом: IgA (0,9-4,5 г/л), IgM (0,48-2,0 г/л), IgG (5,4-18,22 г/л).

Количественное определение легких цепей каппа и лямбда типов в периферической крови и суточной моче проводилось нефелометрическим методом с использованием анализатора Image 800 и соответствующих наборов реагентов. Референсные диапазоны концентраций были определены для периферической крови каппа-цепи 629,0-1350,0 мг/дл, лямбда-цепи 313,0-723,0 мг/дл. При исследовании суточной мочи интервалы составили для каппа-цепи: 0,0-1,9 мг/дл, лямбда-цепи: 0,0-5,0 мг/дл.

Получение материала КМ осуществлялось с использованием игл Jamshidi. Полученные образцы подвергались комплексному морфологическому исследованию, включавшему цитологическое, гистологическое исследования с последующим иммуногистохимическим (ИГХ) анализом.

### 3.3 Метод иммунофиксации для выявления моноклонального белка сыворотки крови и мочи

Для анализа белковых фракций в биологических жидкостях был применен метод электрофореза с использованием электрофоретической камеры Cormau. Процедура разделения осуществлялась при следующих стандартизированных условиях: стабильное напряжение (100 В) в течение 30 мин с соблюдением температурного режима +18-22°C.

В качестве матрицы для электрофоретического разделения использовались агарозные гели, импрегнированные буферным раствором с рН 8,6 (BC). Данная среда обеспечивала оптимальные условия для миграции белковых компонентов. Для обеспечения контроля качества проведения электрофореза и последующего построения протеинограммы использовался фиксирующий белок, обозначаемый как Specific Protein of Electrophoresis (SPE). Данный реагент выполнял функцию внутреннего стандарта, обеспечивающего валидацию корректности разделения белковых компонентов. Говоря о референсных значениях, физиологический диапазон

концентрации альбумина в сыворотке крови составляет 53,0-66,0 г/л. Нормативным для альфа-глобулиновых компонентов является уровень альфа-1-антитрипсина в пределах 2,0-5,5 г/л и альфа-2-антитрипсина 6,0-12,0 г/л. Референсные значения концентрации бета-глобулинов варьируют от 8,0 г/л до 15,0 г/л. Нормативные показатели концентрации гамма-глобулинов находятся в диапазоне 11,0-21,0 г/л.

### 3.4 Исследование концентрации свободных легких цепей иммуноглобулинов сыворотки крови

Концентрации свободных каппа- и лямбда-легких цепей иммуноглобулинов определялись турбидиметрическим методом с использованием автоматического анализатора Image 800 производства Beckman Coulter Inc. (США). Для проведения анализа применялись стандартизированные наборы реагентов FREE LITE Binding Site free kappa и free lambda (США), при этом все этапы методики выполнялись в строгом соответствии с рекомендациями производителя оборудования и реагентов. Исследуемым материалом являлась сыворотка крови, полученная путем забора венозной крови в вакуумные пробирки, содержащие активатор свертывания, с последующим центрифугированием для отделения клеточных элементов.

### 3.5 Иммунофенотипирование клеток костного мозга методом проточной цитометрии

Иммунофенотипирование клеток КМ выполнялось методом проточной цитометрии с использованием проточного цитометра Navios производства Beckman Coulter (США) и программного обеспечения CXP Analysis от того же производителя. В ходе анализа было исследовано более 50 000 ядродержащих клеток. Экспрессия маркера классифицировалась как совместная при обнаружении в диапазоне от 20% до 50% клеточной популяции. Положительной экспрессией маркера считалось его выявление более чем в 50% клеток. В образцах, содержащих как нормальные, так и трансформированные клетки, оценка экспрессии и совместной экспрессии проводилась исключительно в трансформированной клеточной субпопуляции с применением тех же критериальных порогов. Для определения минимального уровня обнаруживаемой минимальной остаточной болезни анализировалось не менее одного миллиона ядродержащих клеток, что обеспечивает аналитическую чувствительность порядка 0,001% ( $10^{-5}$ ).

### 3.6 Цитогенетическое исследование клеток костного мозга

Цитогенетическое исследование клеток КМ проводилось с применением стандартной GTG-методики (G-бэндинг с использованием трипсина и красителя Гимза). Для каждого анализируемого образца изучалось 20 метафазных пластинок. При наличии клеток с аномальными кариотипическими характеристиками выполнялся детальный анализ всех митотических фигур, что обеспечивало верификацию клональной природы хромосомных aberrаций и определение количественного соотношения между нормальными и aberrантными клеточными клонами. Патологический клон регистрировался при выполнении одного из следующих критериев: идентичные структурные нарушения кариотипа или наличие дополнительных хромосом выявлялись как минимум в двух клетках, либо хромосомные потери обнаруживались в трех и более клетках. Трактовка аномалий кариотипа проведена в соответствии с Международной системой цитогенетической номенклатуры человека (ISCN) [131].

### 3.7 Флюоресцентная гибридизация in situ (FISH)

Анализ клеток на наличие транскриптов сателлитной ДНК выполнялся с использованием методов ДНК- и РНК-FISH. В качестве гибридизационного зонда применялся олигонуклеотид 5'-tccattccattccattccattccattccattccattccattcc-3', конъюгированный с флуорохромом Cy3 (Евроген, Россия).

Клетки культивировались на пластиковых покровных стеклах диаметром 9 мм, предназначенных для адгезии клеток (SPL Life Sciences, Корея). При достижении 70% плотности монослоя клеточную культуру промывали и фиксировали в 2% растворе параформальдегида в течение 30 мин при комнатной температуре. После фиксации проводились три отмывки по 5 мин в фосфатно-солевом буфере (PBS) с последующим обезвоживанием в охлажденных до +5°C спиртах возрастающей концентрации (70%, 80%, 96%) по 2 мин на каждой стадии.

Следующим этапом была денатурация в 30% формамиде в 2×SSC при температуре +74°C в течение 4 мин. Второе обезвоживание в спиртах проводилось по аналогичной схеме. Затем на препарат наносили гибридизационную смесь, содержащую зонд в концентрации 1 мкг/мл. Гибридизацию осуществляли при +41°C в течение 5 ч.

После гибридизации проводились отмывки: по 10 мин в 2×SSC при температуре +41°C и 1×SSC при комнатной температуре, а также по 5 мин в 0,5×SSC и 0,25×SSC при комнатной

температуре. Препараты ополаскивали дистиллированной водой и помещали в среду SlowFade® (Invitrogen, США), содержащую DAPI для контрастирования ядер и антифейдинговый агент. При выполнении РНК-FISH стадии денатурации и второго обезвоживания исключались. Для каждого зонда анализировалось по 200 интерфазных ядер. В исследовании применялись ДНК-зонды для следующих локусов: CKS1B, CDKN2C, LSI 13(RB1)13q14, IGH/CCND1, IGH/FGFR3, LSI TP53(17p13.1), LSI IGH.

Верификация молекулярно-генетических отклонений основывалась на детекции патологического флуоресцентного сигнала меченых зондов. Распределение сигналов интерпретировалось следующим образом: 2G и 2R соответствовали нормальному кариотипу, отсутствие одного из сигналов указывало на делецию гена, а наличие дополнительного сигнала свидетельствовало о трисомии или дупликации генов.

### 3.8 Оценка пролиферативной активности мезенхимальных стромальных клеток

МСК КМ заседали в каждую лунку 6-луночного планшета ( $1 \times 10^5$  клеток/лунку) и подсчитывали концентрацию клеток на 1, 3 и 5 сут культивирования в стандартной среде, используя счетчик клеток Luna II согласно протоколу производителя прибора.

### 3.9 Оценка остеогенно-дифференцировочного потенциала мезенхимальных стромальных клеток

КМ высевали в ячейки планшета и по достижении 70-80% конфлюэнтного монослоя культуральную среду заменяли на остеогенную MSC Osteogenic (Sartorius) для индукции дифференцировки. После этого культивировали в течение 21 сут со сменой среды каждые 3-4 суток. Для детекции образованных кальцификатов через 14 сут МСК фиксировали 10% формалином и окрашивали 2% раствором ализаринового красного (Sigma Aldrich, США) (рН=4,2) в течение 30 мин, после чего клетки промывали дистиллированной водой.

### 3.10 Окраска на ассоциированную со старением $\beta$ -галактозидазу (SA- $\beta$ -gal)

При достижении 70% конfluenceности клетки промывали и фиксировали 4% параформальдегидом в течение 5 мин при комнатной температуре. SA- $\beta$ -gal выявляли по стандартному протоколу (Eccles&Li, 2012) или использовали коммерческий набор (CellSignalling, США). В качестве положительного контроля окрашивания клеток на SA- $\beta$ -gal, использовались клетки культуры фибробластов крайней плоти человека, в которых индуцировали старение путём обработки доксорубицином в концентрации 0,1 мкг/мл.

Клетки фиксировали 4% параформальдегидом 5 мин, отмывали от фиксатора и добавляли окрашивающий раствор, в котором клетки инкубировали 12 часов. Далее промывали дистиллированной водой, фотографировали и подсчитывали процентное соотношение окрашенных клеток к общему числу в пяти полях зрения при общем увеличении  $\times 400$ .

### 3.11 Иммунофлуоресцентный анализ

Клетки растили на пластиковых покровных стёклах диаметром 9 мм, предназначенных для адгезии клеток (SPL LifeSciences, Корея или Sartorius), при достижении 70% плотности культуры, клетки промывали, фиксировали в 4%-ном растворе параформальдегида в течение 30 мин при комнатной температуре. Для внутриклеточных антигенов ( $\alpha$ -SMA) в фиксатор добавляли 0,1% Triton X-100 для пермеабилзации клеточных мембран. Далее материал отмывали в буферах и блокировали неспецифическое связывание инкубацией с 5% раствором бычьего сывороточного альбумина (БСА) в фосфатно-солевом буфере. В качестве первичных антител использовали мышинные моноклональные антитела к  $\alpha$ -SMA, конъюгированные с флуорохромом FITC (клон 1A4, Sigma-Aldrich, США), в разведении 1:200. Инкубация проводилась во влажной камере в течение 1 час при температуре +37°C. Затем клетки отмывали и заключали в среду SlowFade® (Invitrogen, США), содержащую DAPI для визуализации ядра.

### 3.12 Оценка уровня экспрессии генов семейства *WNT*

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» [143] (Таблица 12).

Таблица 12 – Последовательности праймеров для генов, исследуемых методом ПЦР

Ген	Прямой праймер	Обратный праймер
<i>WNT3</i>	5'-GGAGAAGCGGAAGGAAAAATG-3'	5'-GCACGTCGTAGATGCGAATACA-3'
<i>WNT3A</i>	5'-CCTGCACTCCATCCAGCTACA-3'	5'-GACCTCTCTTCCCTACCTTTCCCTTA-3'
<i>WNT5A</i>	5'-GAAATGCGTGTTGGGTTGAA-3'	5'-ATGCCCTCTCCACAAAGTGAA-3'
<i>WNT5B</i>	5'-CTGCCTTTCCAGCGAGAATT-3'	5'-AGGTCAAATGGCCCCCTTT-3'
<i>WNT7B</i>	5'-CCCGGCAAGTTCTCTTTCTTC-3'	5'-GGCGTAGCTTTTCTGTGTCCAT-3'
<i>WNT8B</i>	5'-TCCCAGAAAACTGAGGAAACTG-3'	5'-AACCTCTGCCTCTAGGAACCAA-3'
<i>WNT10B</i>	5'-CTTTTCAGCCCTTTGCTCTGAT-3'	5'-CCCCTAAAGCTGTTTCCAGGTA-3'
<i>WNT2B</i> (ранее <i>WNT13</i> )	5'-TGCCAAGGAGAAGAGGCTTAAG-3'	5'-GTGCGACCACAGCGGTTATT-3'
<i>WNT9A</i> (ранее <i>WNT14</i> )	5'- CTTAAGTACAGCAGCAAGTTCGTCAA- 3'	5'-CCACGAGGTTGTTGTGGAAGT-3'
<i>WNT9B</i> (ранее <i>WNT 15</i> )	5'-CAGGTGCTGAAACTGCGCTAT-3'	5'-GCCCAAGGCCTCATTTGGT-3'
<i>CTNNB1</i>	5'-CTGCTGTTTTGTTCCGAATGTC-3'	5'CCATTGGCTCTGTTCTGAAGAGA-3'

Для амплификации референсного гена GAPDH использовали пару праймеров 5'-AGGTCGGAGTCAACGGATTT-3' (прямой) и 5'-TTCCCGTTCTCAGCCTTGAC-3' (обратный).

### 3.13 Полимеразная цепная реакция в реальном времени

Количественная ПЦР в реальном времени выполнялась с использованием системы CFX96 Real-Time System производства Bio-Rad (США). В исследовании применялась реакционная смесь 5× qPCRmix-HS SYBR (Евроген, Россия), содержащая следующие компоненты: Таq-полимеразу, интеркалирующий краситель SYBR Green I, смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов, ионы магния ( $Mg^{2+}$ ) и оптимизированный ПЦР-буфер. В качестве матрицы для амплификации использовалась одноцепочечная комплементарная ДНК (кДНК).

Термоциклирование осуществлялось по следующему протоколу: начальная денатурация: при нагревании до температурного режима +95°C в течение 5 мин; следующий этап – циклическая амплификация (40 циклов), которая состоит из денатурации (при температуре +95°C в течение 10 сек), отжига праймеров (при температуре +56°C в течение 30 сек), элонгации (при температуре +72°C в течение 20 сек).

После завершения основной программы амплификации выполнялся этап построения кривой плавления, который включал постепенное нагревание реакционной смеси от +65°C до +95°C с температурным шагом 0,5°C.

### 3.14 Секвенирование следующего поколения (NGS)

Генетический скрининг на предмет мутаций осуществлялся посредством высокопроизводительного секвенирования с применением таргетной панели, содержащей зонды к 118 генам, релевантных лимфоидным патологиям. Состав генетической панели: *ABL1, 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, 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, RB1, RHOA, RPS15, RUNX1, RYR1, SAMHD1, SETBP1, SF3B1, SH2B3, SMARCA4, SMC1A, SMC3, SOCS1, SRSF2, STAG2, STAT3, STAT6, SUZ12, SYK, TENT5C, TET2, TNF, AIP3, TP53, U2AF1, WT1, XPO1, ZRSR2*. Секвенирование выполнялось на системе Illumina NextSeq (США) с использованием методики парных концевых прочтений. В качестве исходного материала для экстракции геномной ДНК служили мононуклеарные клетки, выделенные из образцов периферической крови методом центрифугирования в градиенте плотности Ficoll-Paque. Последующая биоинформатическая обработка данных NGS базировалась на автоматизированном аналитическом конвейере, последовательные этапы которого включали картирование прочтений на референсный геном человека (сборка hg37), последующую обработку выровненных данных (постпроцессинг), идентификацию геномных вариантов (точечных мутаций и инсерций/делеций) и их последующую фильтрацию по параметрам качества. Клиническая интерпретация обнаруженных генетических вариантов проводилась

дифференцированно: для вариантов, предположительно имеющих соматическое происхождение, использовались критерии Ассоциации молекулярной патологии (AMP), а для вариантов, предположительно унаследованных (герминальных), – руководство Американского колледжа медицинской генетики и геномики (ACMG). Все выявленные изменения нуклеотидной последовательности были классифицированы в соответствии с пятью вариантами мутаций, которые включали: патогенный, вероятно патогенный, вариант неопределенного клинического значения, вероятно доброкачественный и доброкачественный подтип. Анализ выполнялся без этапа сопоставления с герминальной ДНК.

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). Данный показатель рассчитывался как отношение общего количества обнаруженных мутаций к длине проанализированной геномной последовательности, выраженное в количестве мутаций на одну мегабазу (1 Mb) последовательности.

### 3.13 Статистические методы

В рамках диссертационной работы проведён анализ полученных данных с применением методик, рекомендованных в области медико-биологических исследований. Для систематизации информации использовались методы описательной статистики: количественные показатели были представлены через медианы, диапазоны и межквартильные интервалы, тогда как категориальные характеристики выражались в абсолютных и относительных частотах. 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 (<https://software.broadinstitute.org/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 р-значение. Полученные результаты были отсортированы по уровню значимости и на форест-плоте визуализированы 10 наиболее значимых генов. Гены с  $p < 0,1$  были дополнительно включены в многофакторную регрессионную модель Кокса для оценки их независимого вклада в прогностическую модель.

На основе отобранных признаков была сформирована сводная переменная, отражающая наличие у пациента хотя бы одной из неблагоприятных мутаций ( $p < 0,1$  и  $HR > 1$ ). Пациенты, у которых присутствовала такая мутация, были отнесены к группе высокого риска. Сравнительный анализ выживаемости между группами высокого и низкого риска проводился с использованием метода Каплана–Майера и критерия log-rank.

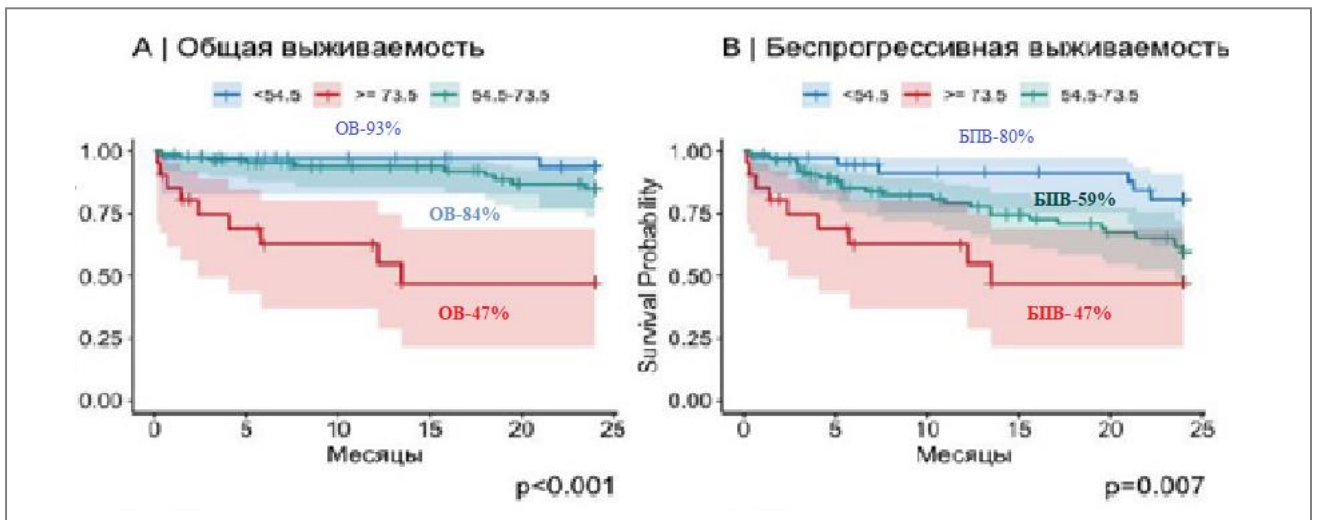
Количественные переменные представлены в виде медианы квартилей (Me (Q3-Q1), частоты – в виде собственных значений с указанием 95% доверительного интервала (ДИ). Уровень значимости считали равным  $p \leq 0,05$ .

Общую выживаемость определяли со дня верификации диагноза (даты забора гистологического материала) до даты смерти от любой причины. Точкой отсчета для БПВ считали дату первого дня первого цикла терапии. В анализе БПВ событием считали ПЗ, рецидив, трансформацию или смерть от любой причины. В качестве первичной контрольной точки исследования считали ОВ и ВБП, в качестве вторичных точек – ВБР и БПВ.

## ГЛАВА 4. ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

### 4.1 Анализ общей и беспрогрессивной выживаемости

Медиана возраста пациентов составила 63 года (от 35 до 90 лет). 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 старшей возрастной группы ( $\geq 73,5$  лет) – 47% (95% ДИ: 74-92%) ( $p < 0,001$ ). При анализе БПВ получены аналогичные данные: наибольшие показатели выживаемости отмечены среди более молодых пациентов: в группе младше 54,5 лет двухлетняя БПВ составила 80% (95% ДИ: 61-90%), в группе 54,5-73,5 лет – 59% (95% ДИ: 45-70%), и для пациентов старше 73,5 лет соответственно 47% (95% ДИ: 21-69%) ( $p = 0,007$ ) (Рисунок 6). Полученные результаты говорят о достоверных различиях в ОВ пациентов ММ в зависимости от возраста.



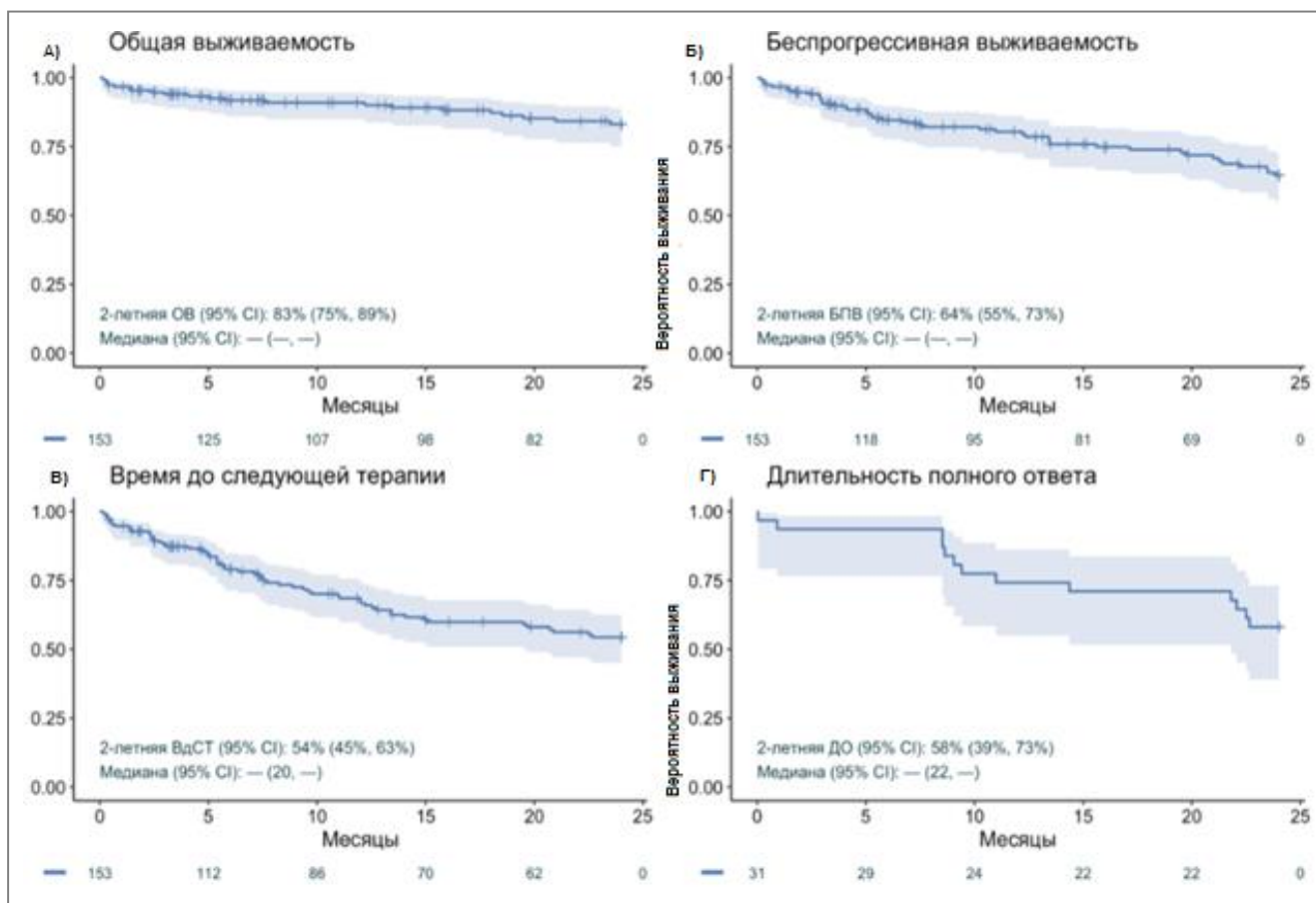
А – ОВ пациентов с ММ различного возраста ( $p < 0,001$ );

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

Рисунок 6 – Выживаемость в зависимости от возрастной группы

Двухлетняя ОВ составляет 83% (95% ДИ: 75-89%). Медиана общей выживаемости не достигнута. Двухлетняя БПВ составляет 64% (95% ДИ: 55-73%). Медиана БПВ не достигнута. Двухлетнее время до следующей линии терапии (ВДСТ) составляет 54% (95% ДИ: 45-63%). Анализ проведён для подгруппы пациентов с достигнутым ПО ( $n = 31$ ). Двухлетняя длительность

полного ответа (ДО) составляет 58% (95% ДИ: 33-73%). Медиана ДО составляет около 20 мес. (Рисунок 7).

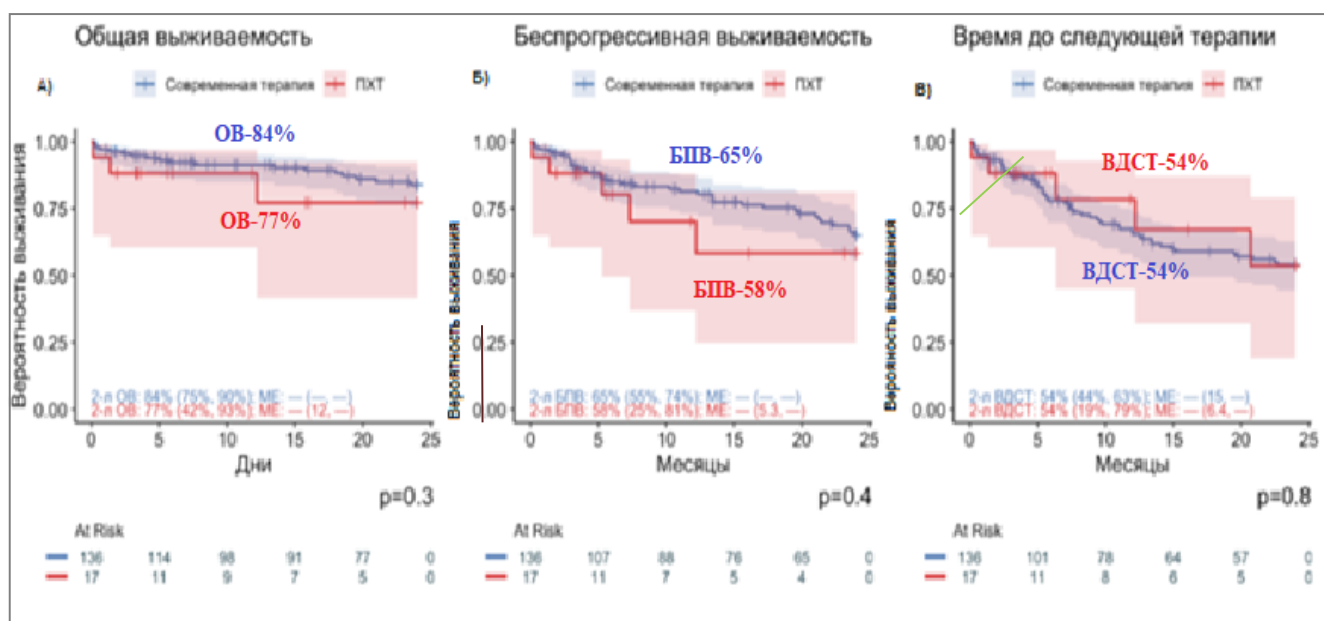


А – двухлетняя общая выживаемость; Б – двухлетняя беспрогрессивная выживаемость;  
В – двухлетнее время до следующей линии терапии; Г – длительность полного ответа на терапию.

Рисунок 7 – Анализ выживаемости пациентов с ММ

Пациенты были стратифицированы на две группы в соответствии с проведенным лечением: пациенты, получавшие современную терапию (квадриплеты с включением МАТ, иммуномодуляторов, ингибиторов протеасом) (n=20) и ПХТ (n=133). Проанализированы показатели ОВ, БПВ и ВДСТ. Двухлетняя ОВ составила 84% (95% ДИ: 75-90%) в группе современной терапии и 77% (95% ДИ: 42-93%) в группе ПХТ; медиана ОВ не достигнута и 12 мес. соответственно (p=0,3). Двухлетняя БПВ – 65% (95% ДИ: 55-74%) и 58% (95% ДИ: 25-81%); медиана БПВ не достигнута и 5,3 мес. (p=0,4).

Двухлетнее ВДСТ – 54% (95% ДИ: 44-63%) и 54% (95% ДИ: 19-79%); медиана – 15 и 6,4 мес. (p=0,8). Анализ выживаемости пациентов с ММ в зависимости от проведенного лечения: в группе пациентов, получавших ПХТ и современные терапевтические программы представлен на Рисунке 8.

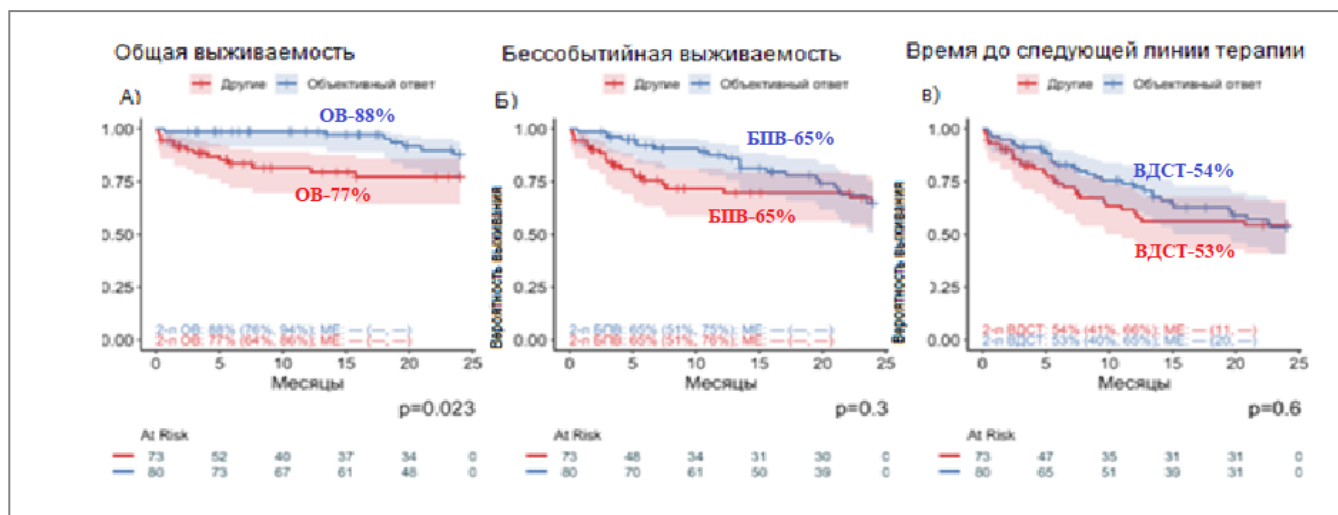


А – двухлетняя общая выживаемость; Б – двухлетняя беспрогрессивная выживаемость в группе современного лечения и ПХТ; В – время до следующей линии терапии.

Рисунок 8 – Показатели выживаемости пациентов с ММ в зависимости от проведенного лечения

У пациентов с ПО (n=31) и остальных пациентов (n=122) проведен анализ общей, беспрогрессивной выживаемости и времени до следующей терапии.

Двухлетняя ОВ составила 100% в группе полного ответа и 78% (95% ДИ: 68-85%) в группе остальных пациентов; медиана ОВ не достигнута в обеих группах ( $p=0,008$ ). Двухлетняя БПВ – 92% (95% ДИ: 72-98%) при полном ответе и 55% (95% ДИ: 44-65%) в группе без полного ответа; медиана БПВ не достигнута и 22 мес. соответственно ( $p<0,001$ ). Двухлетнее ВДСТ составило 70% (95% ДИ: 50-83%) в группе полного ответа и 50% (95% ДИ: 39-59%) в группе остальных пациентов; медиана ВДСТ – 21 и 23 мес. соответственно ( $p=0,078$ ). У пациентов с объективным ответом (n=80) и без объективного ответа (n=73) оценены показатели ОВ, БПВ и ВДСТ. Двухлетняя ОВ составила 88% (95% ДИ: 76-94%) в группе объективного ответа и 77% (95% ДИ: 64-86%) в группе остальных пациентов; медиана ОВ не достигнута в обеих группах ( $p=0,023$ ). Двухлетняя БПВ – 65% (95% ДИ: 51-75%) и 65% (95% ДИ: 51-76%) соответственно; медиана БПВ не достигнута в обеих группах ( $p=0,3$ ). Двухлетнее ВДСТ составило 54% (95% ДИ: 41-66%) при наличии объективного ответа и 53% (95% ДИ: 40-65%) при его отсутствии; медиана ВДСТ – 11 и 20 мес. соответственно ( $p=0,6$ ). Анализ выживаемости пациентов представлен на Рисунке 9.



А – двухлетняя общая выживаемость; Б – беспрогрессивная выживаемость пациентов с ММ;  
 В – двухлетнее время до следующей линии терапии в зависимости от полученного ответа на лечение в группах, достигнувших общего ответа, и других больных.

Рисунок 9 – Показатели выживаемости пациентов с ММ в зависимости от достигнутого ответа на лечение

#### 4.2 Влияние клинических и генетических факторов риска на эффективность первой линии терапии

Для оценки влияния клинико-лабораторных и цитогенетических параметров на ОБ был проведён однофакторный и многофакторный анализ пропорциональных рисков Кокса. В однофакторной модели статистически значимая ассоциация была выявлена для возраста, а также наличия тройных цитогенетических aberrаций/комплексного кариотипа (Triple hit). Наблюдалась ассоциация возраста с повышением риска рецидива с HR=1,08 (95% ДИ: 1,03-1,13, p=0,001). 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 трижды позитивных aberrаций. Возраст оставался устойчивым фактором с HR=1,09 (95% ДИ: 1,03-1,13, p<0,001). Для тройных aberrаций HR составил 7,11 (95% ДИ: 1,58-31,90, p=0,01). Остальные клинические, биохимические и цитогенетические показатели статистически значимо не коррелировали с ОБ (Таблицы 13, 14).

Таблица 13 – Статистическая модель Кокса (однофакторный и многофакторный анализ): влияние клинических и генетических факторов риска на ОВ

Фактор	Характеристика	Всего (N)	HR (ДИ) однофакторный анализ	HR (ДИ) многофакторный анализ
Возраст	Среднее значение	61,5 (11,2)	1,08 (1,03-1,13, p=0,001)	1,09 (1,04-1,14, p<0,001)
Стадия по DSS	1-2	43 (28,1)	–	–
	3	110 (71,9)	1,27 (0,46-3,47, p=0,641)	–
Стадия по ISS	1	43 (32,4)	–	–
	2	50 (32,4)	0,43 (0,16-2,03, p=0,387)	–
	3	59 (38,8)	1,46 (0,54-3,94, p=0,457)	–
Пол	Женский	78 (51,0)	-	–
	Мужской	75(61,1)	0,63 (0,26-1,53, p=0,307)	–
ECOG статус	0	71 (49,3)	–	–
	1	58 (40,3)	1,8(0,72-4,5, p=0,211)	–
	2	12(8,3)	12(8,3)	0,0 (0,0, p=0,997)
	3	3 (2,1)	46,05(10,79-196,5, p<0,001)	–
Индекс коморбидности Charlson	Среднее значение	5,9 (2,5)	1,01 (0,84-1,21, p=0,946)	–
Уровень гемоглобина	Норма	48 (31,3)	–	–
	Анемия	101 (68,7)	2,26 (0,76-6,71, p=0,143)	–
ЛДГ	Норма	100 (65,4)	–	–
	Повышен	53 (34,6)	1,51 (0,64-3,58, p=0,351)	–

Продолжение таблицы 13

Фактор	Характеристика	Всего (N)	HR (ДИ) однофакторный анализ	HR (ДИ) многофакторный Анализ
СКФ по формуле MDRD, мл/мин/1,73м <sup>2</sup>	Норма	107 (72,8)	–	–
	Снижен	40 (27,2)	0,95 (0,35-2,58, p=0,913)	–
Соотношение Каппа/lambda Крови	Норма	90 (61,2)	–	–
	Аномалия	57 (38,8)	1,21 (0,51-2,86, p=0,672)	–
IgG	Норма	86 (58,5)	–	–
	Повышен	61 (41,5)	2,06(0,87-4,9, p=0,101)	–
IgM	Норма	145 (98,6)	–	–
	Повышен	2 (1,4)	0,00 (0,00, p=0,998)	–
IgA	Норма	86 (77,5)	–	–
	Повышен	25 (22,5)	0,64(0,18-2,21, p=0,478)	–
<i>IGH/14q32</i>	Отсутствует	121 (82,3)	–	–
	Выявлена	26 (17,7)	1,03 (0,3-3,52, p=0,964)	–
<i>Del17p</i>	Отсутствует	131 (89,1)	–	–
	Выявлена	16 (10,9)	0,92 (0,21-3,97, p=0,915)	–
<i>DLEU/13q14.2</i>	Отсутствует	123 (83,7)	–	–
	Выявлена	24 (16,3)	1,13 (0,38-3,36, p=0,827)	–
<i>LAMP/13q34</i>	Отсутствует	129 (87,8)	–	–
	Выявлена	18 (12,2)	1,74 (0,58-5,18, p=0,321)	–
<i>CKS1B/1q21</i>	Отсутствует	119 (81)	–	–
	Выявлена	28 (19)	2,42 (0,97-6,01, p=0,057)	–

Продолжение таблицы 13

Фактор	Характеристика	Всего (N)	HR (ДИ) однофакторный анализ	HR (ДИ) многофакторный анализ
<i>CDKN2C/1p32</i>	Отсутствует	139 (94,6)	–	–
	Выявлена	8(5,4)	1,75 (0,41-7,55, p=0,452)	–
t(4;14)	Отсутствует	144 (98,0)	–	–
	Выявлена	(2,0)	2,79 (0,37-20,84, p=0,318)	–
t(14;16)	Отсутствует	146 (99,3)	–	–
	Выявлена	1 (0,7)	0,0 (0,0, p=0,998)	–
t(11;14)	Отсутствует	140 (95,2)	–	–
	Выявлена	7 (4,8)	1,04 (0,14-7,79, p=0,999)	–
Double hit	Отсутствует	144 (98,0)	–	–
	Выявлена	3 (2,0)	5,08 (0,65-39,38, p=0,12)	–
Triple hit	Отсутствует	143(97,3)	–	–
	Выявлена	4 (2,7)	4,23 (0,98-18,24, p=0,053)	7,11 (1,58-31,9, p=0,01)

Таблица 14 – Статистическая модель Кокса (однофакторный и многофакторный анализ): влияние клинических и генетических факторов риска на БПВ

Фактор	Характеристика	Всего (N)	HR (ДИ) однофакторный	HR (ДИ) многофакторный
Возраст	Среднее значение	61,7 (11,2)	1,05 (1,02-1,08, p=0,003)	1,05 (1,02-1,08, p=0,002)
Стадия по DSS	1-2	41 (27,9)	–	–
	3	106 (72,1)	1,36 (0,67-2,77, p=0,4)	–

Продолжение таблицы 14

Фактор	Характеристика	Всего (N)	HR (ДИ) однофакторный	HR (ДИ) многофакторный
Стадия по ISS	1	43 (29,3)	–	–
	2	49 (33,3)	0,69 (0,32-1,53, p=0,365)	–
	3	55 (37,4)	1,05 (0,52-2,12, p=0,902)	–
Пол	Женский	77 (52,4)	–	–
	Мужской	70(47,6)	0,98 (0,54-1,81, p=0,957)	–
ECOG статус	0	71 (49,3)	–	–
	1	58 (40,3)	0,82 (0,42-1,6, p=0,558)	–
	2	12(8,3)	0,23 (0,03-1,68)	–
	3	3 (2,1)	28,55 (6,8-119,95, p<0,001)	–
Индекс коморбидности Charlson	Среднее значение	5,9	1,02(0,89-1,16, p=0,785)	–
Уровень гемоглобина	Норма	46 (31,3)	–	–
	Анемия	101 (68,7)	1,19 (0,62-2,29, p=0,603)	–
ЛДГ	Норма	96 (65,3)	–	–
	Повышен	51 (34,7)	1,04 (0,55-1,96, p=0,603)	–
СКФ по формуле MDRD, мл/мин/1,73м <sup>2</sup>	Норма	107 (72,8)	–	–
	Снижен	40 (27,2)	0,81 (0,39-1,69, 0,573)	–
Соотношение Карра/lambda Крови	Среднее значение	169,9(625,2)	1,00 (1,00-1,00, p=0,364)	–

Продолжение таблицы 14

Фактор	Характеристика	Всего (N)	HR (ДИ) однофакторный	HR (ДИ) многофакторный
IgG	Норма	86 (58,5)	–	–
	Повышен	61 (41,5)	1,46(0,8-2,69, p=0,217)	–
IgM	Норма	145 (98,6)	–	–
	Повышен	2 (1,4)	0,00 (0,00, p=0,997)	–
IgA	Норма	86 (77,5)	–	–
	Повышен	25 (22,5)	1,07(0,48-2,39, p=0,864)	–
<i>IGH/14q32</i>	Отсутствует	121 (82,3)	–	–
	Выявлена	26 (17,7)	1,42 (0,63-3,23, p=0,399)	–
<i>Del17p</i>	Отсутствует	131 (89,1)	–	–
	Выявлена	16 (10,9)	2,04 (0,86-4,86, p=0,108)	–
<i>DLEU/13q14.2</i>	Отсутствует	123 (83,7)	–	–
	Выявлена	24 (16,3)	1,6 (0,79-3,26, p=0,192)	–
<i>LAMP/13q34</i>	Отсутствует	129 (87,8)	–	–
	Выявлена	18 (12,2)	1,95 (0,9-4,21, p=0,091)	–
<i>CKS1B/1q21</i>	Отсутствует	119 (81)	–	–
	Выявлена	28 (19)	1,68 (0,83-3,43, p=0,152)	–
<i>CDKN2C/1p32</i>	Отсутствует	139 (94,6)	–	–
	Выявлена	8(5,4)	1,5 (0,46-4,88, p=0,497)	–
t(4;14)	Отсутствует	144 (98,0)	–	–
	Выявлена	3 (2,0)	3,81 (0,9-16,18, p=0,07)	–

Продолжение таблицы 14

Фактор	Характеристика	Всего (N)	HR (ДИ)	
			однофакторный	многофакторный
t(14;16)	Отсутствует	146 (99,3)	–	–
	Выявлена	1 (0,7)	0,0 (0,0, p=0,997)	–
t(11;14)	Отсутствует	140 (95,2)	–	–
	Выявлена	7 (4,8)	1,04 (0,14-7,79, p=0,996)	–
Double hit	Отсутствует	144 (98,0)	–	–
	Выявлена	3 (2,0)	5,08 (0,65-39,38, p=0,12)	–
Triple hit	Отсутствует	143(97,3)	–	–
	Выявлена	4 (2,7)	4,23 (0,98-18,24, p=0,053)	7,11 (1,58-31,9, p=0,01)

В модели Кокса для БПВ значимым фактором выступал возраст: HR=1,05 (95% ДИ: 1,02-1,08, p=0,003) в однофакторном анализе и HR=1,05 (95% ДИ: 1,02-1,08, p=0,002) в многофакторном.

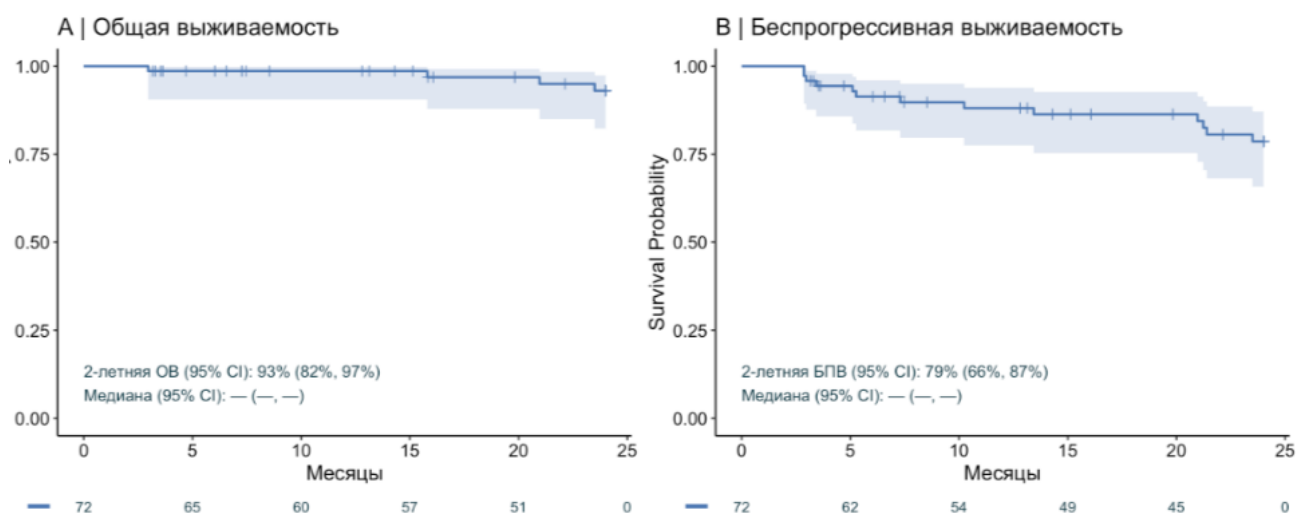
Ни для одного из остальных клинико-лабораторных и цитогенетических показателей не было отмечено статистически значимой связи с риском прогрессирования заболевания. Для тройных aberrаций HR в однофакторном анализе составил 2,35 (95% ДИ: 0,57-9,76, p=0,239), а в многофакторной модели – 3,84 (95% ДИ: 0,89-16,56, p=0,072), однако уровень значимости не был достигнут.

В однофакторной регрессии Кокса значимой ассоциацией с временем до последующей терапии обладал возраст, HR=1,03 (95% ДИ: 1,01-1,06, p=0,010), что сохранялось и в многофакторной модели: HR=1,04 (95% ДИ: 1,01-1,06, p=0,007).

Для остальных клинических и лабораторных показателей статистически значимых различий обнаружено не было. Так, анемия, повышение ЛДГ, снижение скорости клубочковой фильтрации, нарушения соотношения каппа/лямбда, уровень иммуноглобулинов, стадирование по DSS и ISS, а также наличие структурных хромосомных аномалий (включая *del17p*, IGH-транслокации и др.) по результатам однофакторного анализа не оказали значимого эффекта и не включались в итоговую многофакторную модель.

#### 4.3 Оценка эффективности терапии у пациентов после проведения аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

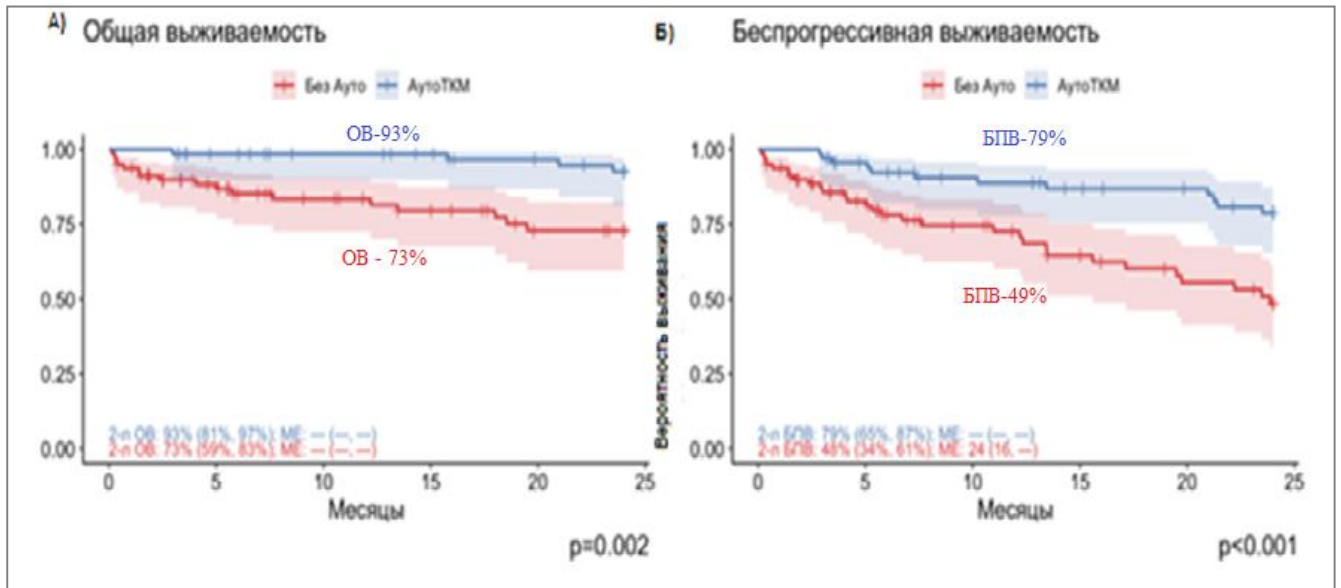
Для оценки ОВ и БПВ у пациентов, которым была выполнена аутоТГСК (n=72), были построены кривые Каплана–Майера. Двухлетняя ОВ составила 93% (95% ДИ: 82-97%), медиана ОВ не достигнута. Двухлетняя БПВ составила 79% (95% ДИ: 66-87%), медиана БПВ также не достигнута. Анализ выживаемости пациентов с проведенной аутоТГСК представлен на Рисунке 10.



А – двухлетняя ОВ; Б – БПВ.

Рисунок 10 – Анализ выживаемости у пациентов с аутоТГСК в анамнезе

Двухлетняя ОВ в группе пациентов без аутоТГСК составила 73% (95% ДИ: 60-83%); медиана ОВ не достигнута в обеих группах ( $p=0,001$ ). Двухлетняя БПВ – 79% (95% ДИ: 66-87%) в группе пациентов, которым была проведена аутоТГСК, и 49% (95% ДИ: 35-62%) в группе пациентов без аутоТГСК; медиана БПВ не достигнута и 24 мес. соответственно ( $p<0,001$ ) (Рисунок 11).



А – двухлетняя ОБ; Б – БПВ.

Рисунок 11 – Анализ выживаемости в группе пациентов после аутоТГСК и пациентов, получавших лечение без аутоТГСК

В связи с тем, что проведение аутоТГСК является зависимым от времени фактором, для оценки влияния на выживаемость был выполнен анализ методом регрессии Кокса с включением аутоТГСК в качестве зависимой от времени ковариаты. Данные модели приведены непосредственно под графиками, дополняя результаты анализа Каплана–Майера.

Для ОБ использование аутоТГСК в модели с зависимой от времени ковариатой не показало статистически значимого влияния: отношение рисков составило  $HR=0,60$  (95% ДИ: 0,17-2,12,  $p=0,4$ ) (Таблица 15). Для БПВ включение аутоТГСК было ассоциировано со значимым снижением риска рецидива/прогрессирования заболевания:  $HR=0,28$  (95% ДИ: 0,11-0,72,  $p=0,008$ ) (Таблица 16).

Таблица 15 – Регрессия Кокса с аутоТГСК, как зависимой от времени ковариатой, для ОБ

Показатель	HR	95% ДИ	P
АутоТГСК в анамнезе	0,6	0,17; 2,12	0,4

Таблица 16 – Регрессия Кокса с аутоТГСК, как зависимой от времени ковариатой, для БПВ

Показатель	HR	95% ДИ	P
АутоТГСК в анамнезе	0,28	0,11; 0,72	0,008

#### 4.4 Влияние COVID-19 на результаты терапии и значение вакцинопрофилактики у пациентов с множественной миеломой

В период с 2020 по 2024 гг. 100 пациентов (65,35%) с ММ перенесли верифицированную инфекцию COVID-19. Тяжелые формы инфекции чаще выявлялись у пациентов с рецидивом или прогрессированием основного заболевания.

Тяжесть течения инфекции не коррелировала с уровнем сывороточных иммуноглобулинов на момент заражения инфекцией COVID-19. Концентрация иммуноглобулинов крови у исследуемых пациентов представлена на Рисунке 12.

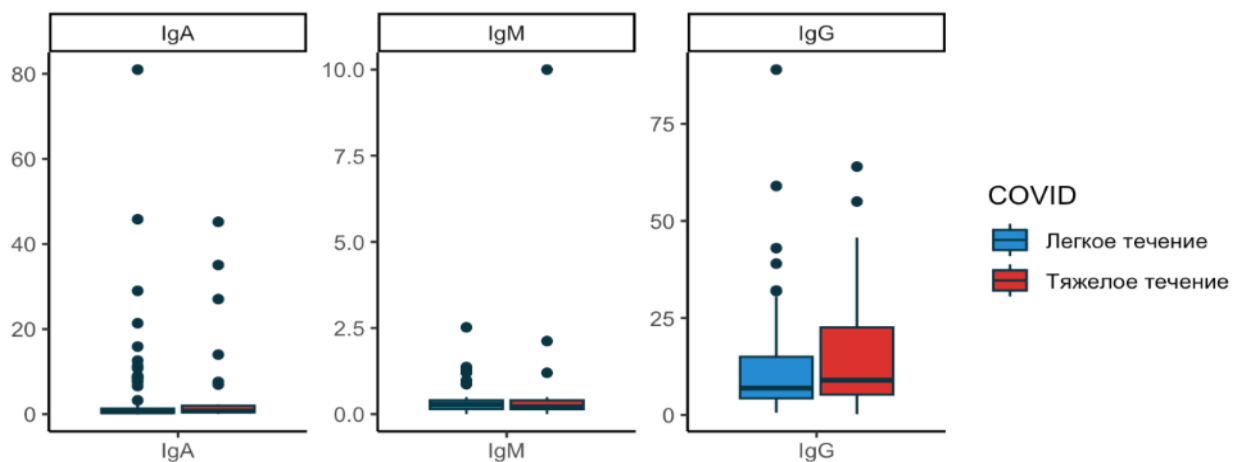


Рисунок 12 – Концентрация иммуноглобулинов у пациентов ММ на момент заболевания COVID19 (n=100)

Анализ данных выявил, что среди пациентов с тяжелым течением инфекции COVID-19 показатель двухлетней ОВ значительно снижен и составлял лишь 59% (95% ДИ: 37,7-74,8), тем временем как у пациентов с легким течением инфекции COVID-19 ОВ достигала 93% (95% доверительный интервал: 83,8-97,6) (Рисунок 13). На кривой выживаемости отчетливо заметен высокий уровень смертности в первые 10 дней после возникновения симптомов – за этот период умерли 7 пациентов. Согласно результатам однофакторного анализа Кокса, тяжелое течение COVID-19 является единственным статистически значимым предиктором летального исхода.

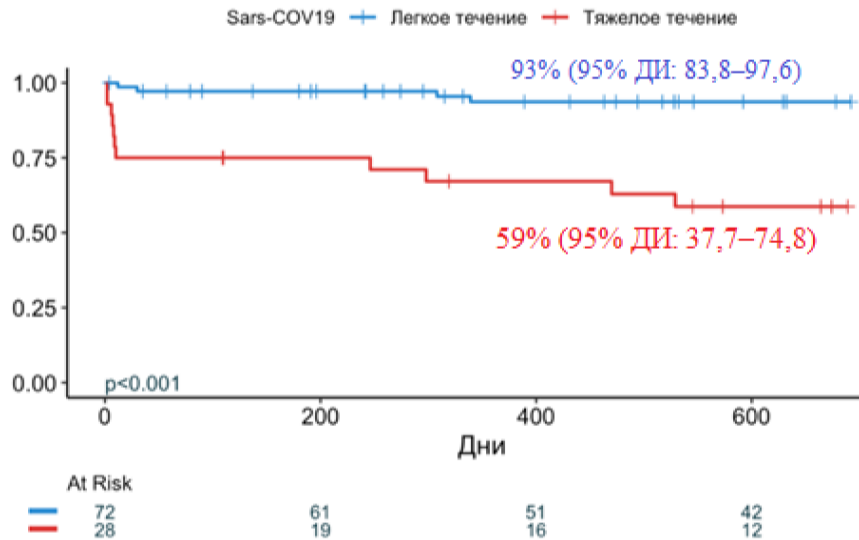


Рисунок 13 – Общая выживаемость пациентов ММ после постановки диагноза COVID-19 в группе с легким и тяжелым течением инфекции (n=100)

Для выявления факторов, влияющих на вероятность тяжелого течения COVID-19, были выполнены как однофакторный, так и многофакторный логистический регрессионный анализ. Ни характер специфической противомиеломной терапии, ни зависимость от гемотрансфузий, ни индекс коморбидности не оказались связанными с повышением риска тяжелого течения COVID-19. Результаты исследования показали, что значимыми предикторами риска развития тяжелых форм инфекции выступают состояние вне ремиссии основного заболевания (отношение шансов 3,94; 95% доверительный интервал от 1,45 до 11,05;  $p=0,008$ ) и отсутствие вакцинации на догоспитальном этапе (отношение шансов 3,94; 95% ДИ: 1,18-18,09) (Рисунок 14).



Рисунок 14 – Форест-плот на основании результатов многофакторной логистической регрессии: факторы риска тяжелого и крайне тяжелого течения COVID-19

У 39% пациентов зафиксировали повторные инфекционные эпизоды, при этом у 5% из них отмечалась тяжелая форма заболевания. Следует подчеркнуть, что тяжесть первоначального инфекционного процесса не оказала влияния на вероятность рецидива. Средний интервал до повторного возникновения инфекции составил 287 дней. Зависимость между частотой повторных инфекций и степенью тяжести болезни представлена на диаграмме Санки (Рисунок 15).

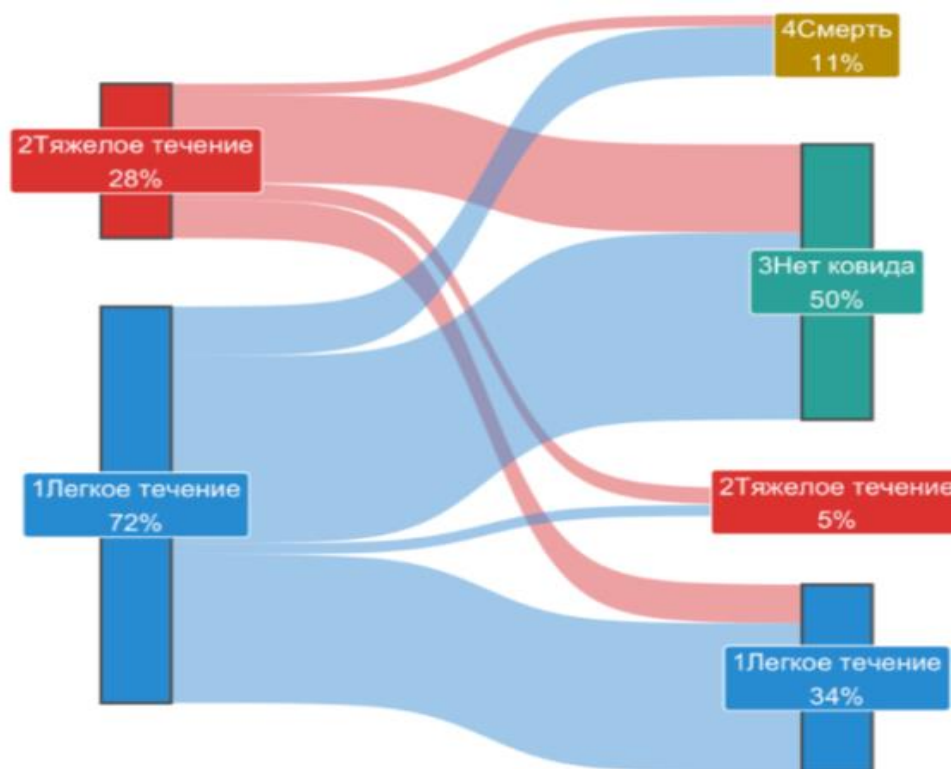


Рисунок 15 – Первичные и повторные эпизоды инфекции COVID-19 на диаграмме Санки

При оценке корреляции тяжести течения первичного COVID-19 и повторного эпизода инфекции анализ конкурирующих рисков показал, что вероятность повторного развития инфекции COVID-19 не зависит от первоначальной тяжести заболевания: при тяжелом течении она составила 16% (95% ДИ: 4,8-33,1), а при легком – 22,4% (95% ДИ: 12,9-33,6,  $p=0,34$ ). В то же время, летальность значительно возрастала у пациентов с тяжелыми формами COVID-19 – риск летального исхода достигал 29,2% (95% ДИ: 13,5-47), тогда как при легком течении инфекции он был существенно ниже – 5% (95% ДИ: 1,3-12,7), при этом различие было статистически значимым ( $p<0,001$ ). Таким образом, тяжесть первоначального инфекционного процесса не влияла на вероятность повторного эпизода, но существенно повышала риск летального исхода (Рисунок 16).

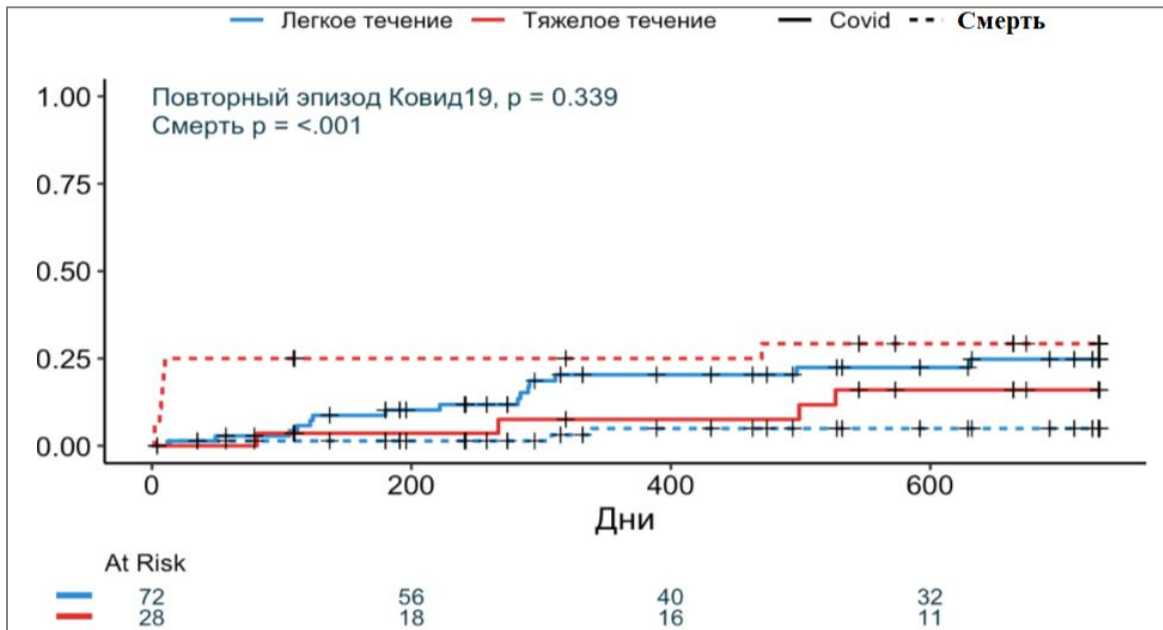


Рисунок 16 – Анализ конкурирующих рисков – вероятность развития повторного эпизода коронавирусной инфекции

## ГЛАВА 5. МУТАЦИОННЫЙ ЛАНДШАФТ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ

### 5.1 Молекулярно-генетические факторы риска эффективности терапии у пациентов с множественной миеломой

Для графического представления спектра генетических аномалий был создан oncoPrint-график, который продемонстрировал частоту и распределение выявленных мутаций среди обследованных пациентов (Рисунок 17).

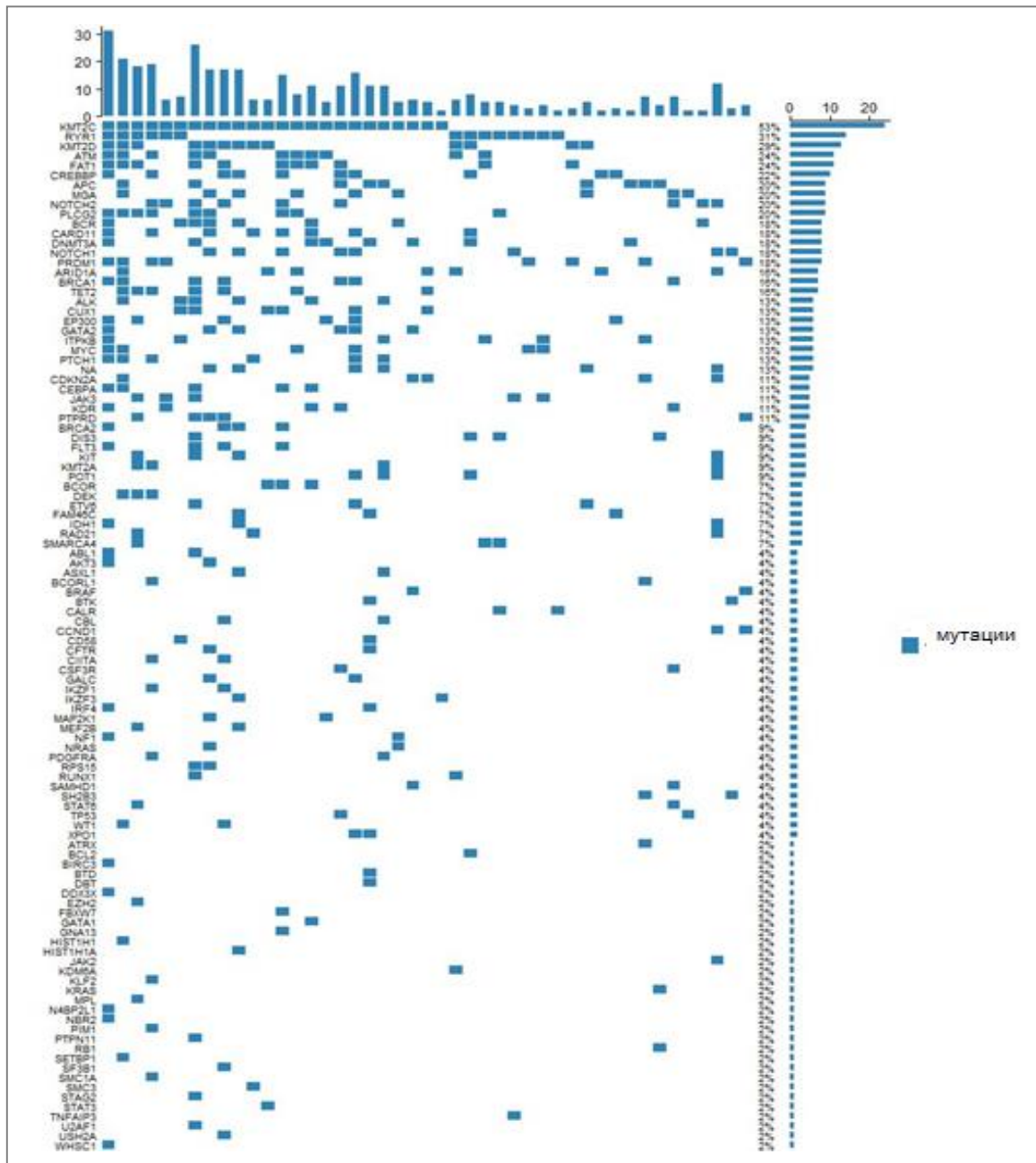
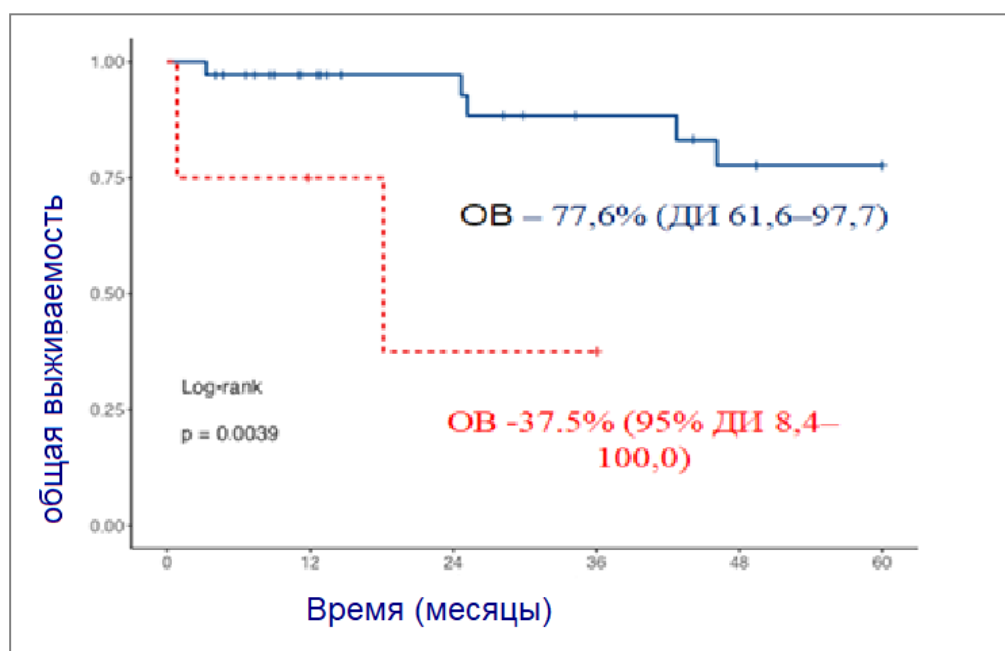


Рисунок 17 – Онкокарта мутаций исследуемой группы

Анализ влияния различных вариантов генетических аномалий на клиническое течение ММ выявил, что мутации в генах *FAT1*, *NRAS* и *ATM* ассоциируются с неблагоприятным прогнозом. В частности, оценка ОВ показала, что 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) (Рисунок 18). Различия между группами были статистически значимыми ( $p=0,0039$ ).

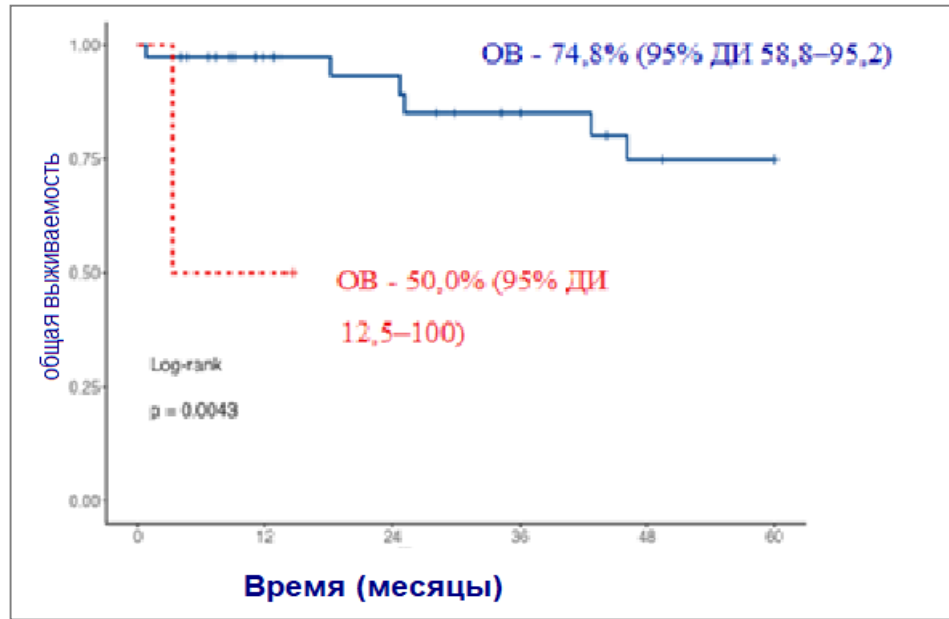


Красная линия – *FAT1* мутирован; синяя линия – *FAT1* не мутирован.

Рисунок 18 – Трёхлетняя ОВ пациентов с ММ в зависимости от мутационного статуса *FAT1*

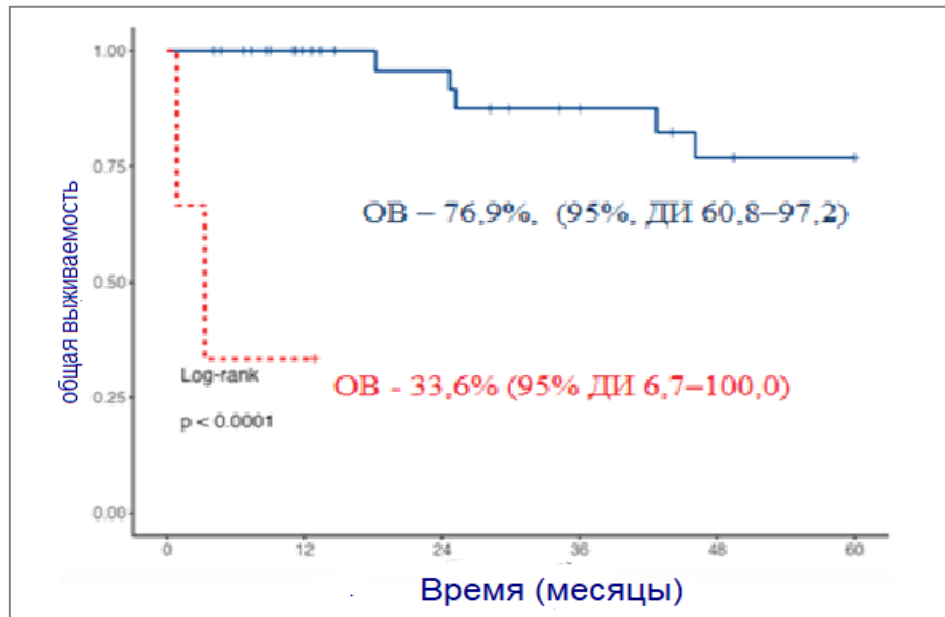
При анализе ОВ было установлено, что у пациентов с мутацией в гене *NRAS* трёхлетняя ОВ достигла 50,0% (95% ДИ: 12,5-100). В контрольной группе пациентов с диким типом данного гена ОВ составила 74,8% ( $p=0,0043$ ). График ОВ у пациентов с наличием данной мутации представлен на Рисунке 19.

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 20).



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

Рисунок 19 – Трехлетняя ОВ пациентов с ММ в зависимости от мутационного статуса *NRAS*



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

Рисунок 20 – Пятилетняя ОВ пациентов с ММ в зависимости от мутационного статуса *ATM*

Для верификации генетических маркеров, связанных с худшим прогнозом течения заболевания, был выполнен регрессионный анализ Кокса. В связи с относительно небольшим объёмом исследуемой когорты из анализа были исключены гены, мутации в которых отмечались менее чем у трёх пациентов. Результаты анализа ранжированы по возрастанию уровня статистической значимости (*p*-value) и визуализированы в виде форест-плота (Рисунок 21). Гены,

для которых значение  $p$  оказалось ниже 0,1, были дополнительно включены в многофакторную регрессионную модель Кокса с целью оценки их независимого прогностического вклада.

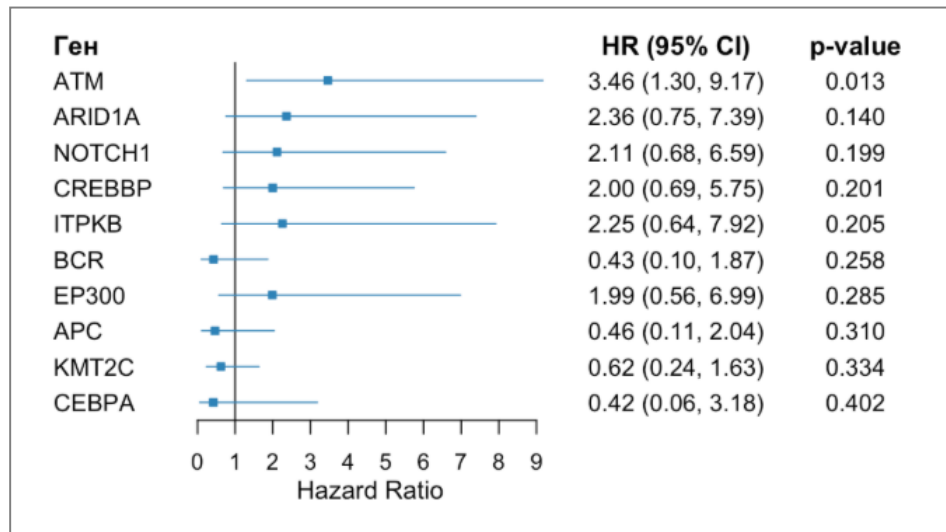


Рисунок 21 – Однофакторный анализ БПВ с помощью метода регрессии Кокса

Результаты однофакторного регрессионного анализа Кокса показали, что наличие мутации в гене *NOTCH1* оказывало наиболее выраженное негативное влияние на однолетнюю ОВ с отношением рисков (HR) 6,59 (95% ДИ: 1,30-33,3;  $p=0,023$ ). Мутация в гене *ATM* была значимо ассоциирована с ухудшением БПВ с HR 3,46 (95% ДИ: 1,30-9,17;  $p=0,013$ ). Данные результаты визуализированы на Рисунке 22.

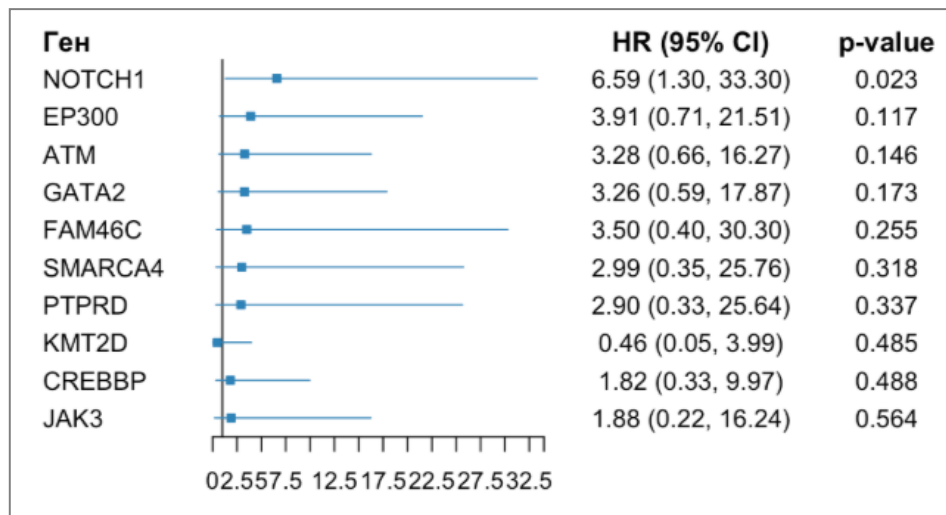
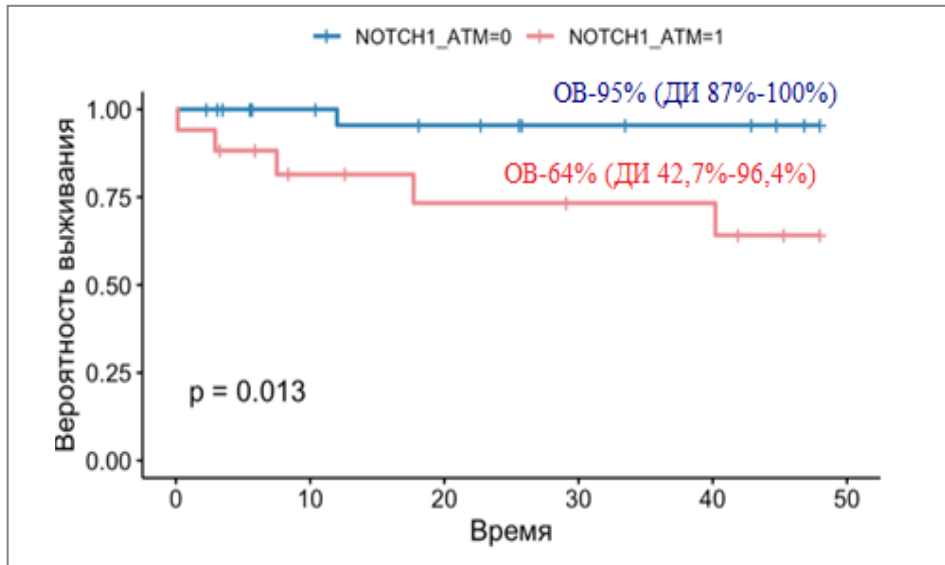


Рисунок 22 – Однофакторный анализ ОВ с помощью метода регрессии Кокса

При последующем анализе выживаемости методом Каплана–Мейера было установлено, что у пациентов с наличием хотя бы одной мутации в указанных генах (*NOTCH1* или *ATM*) однолетняя ОВ составила 64% (95% ДИ: 42,7-96,4%), тогда как в группе пациентов без таких

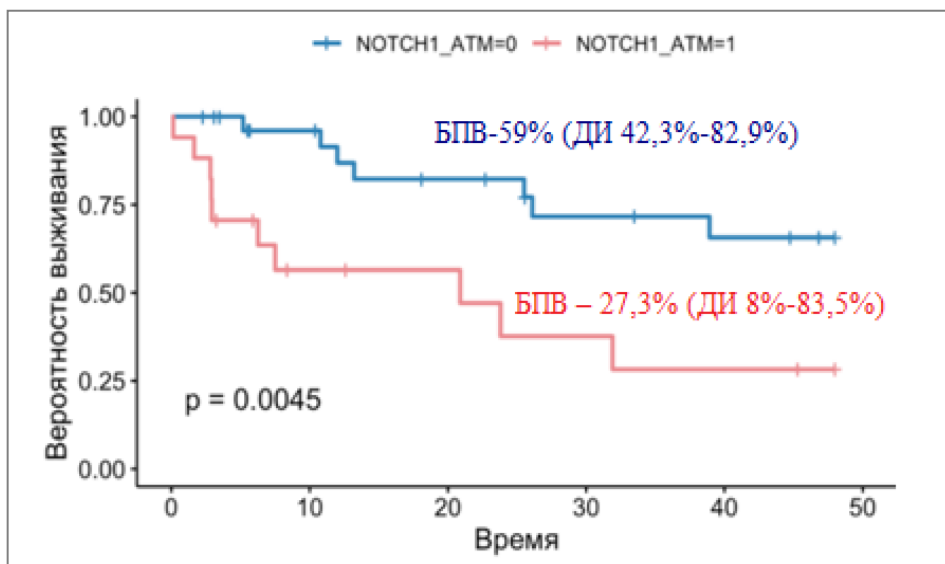
мутаций данный показатель достиг 95% (95% ДИ: 87-100%). Результаты анализа выживаемости представлены на Рисунке 23.



Красная линия – *ATM* и *NOTCH1* мутированы; синяя линия – *ATM* и *NOTCH1* не мутированы.

Рисунок 23 – ОВ пациентов с ММ в зависимости от мутационного статуса *ATM* и *NOTCH1*

Анализ БПВ показал, что у пациентов с соматическими мутациями в генах *NOTCH1* или *ATM* данный показатель составил 27,3% (95% ДИ: 8,0-83,5%). В группе пациентов с немутированным статусом этих генов БПВ была достоверно выше и достигла 59,0% (95% ДИ: 42,3-82,9%). Распределение БПВ в зависимости от мутационного статуса *ATM* и *NOTCH1* представлено на рисунке 24.



Красная линия – *ATM* и *NOTCH1* мутированы; синяя линия – *ATM* и *NOTCH1* не мутированы.

Рисунок 24 – БПВ пациентов с ММ в зависимости от мутационного статуса *ATM* и *NOTCH1*

Для выявления предикторов неблагоприятного прогноза был выполнен комплексный анализ, включающий оценку цитогенетических факторов и мутационного статуса, определённого методом NGS. Однофакторный анализ цитогенетических аберраций, выявленных с помощью FISH-исследования, показал, что амплификация локуса 1q21 (гена *CKS1B*) значимо ассоциировалась с ухудшением ОВ с отношением рисков (HR) 3,57 (95% ДИ: 1,06-11,94;  $p=0,039$ ). На БПВ оказывали влияние транслокация  $t(4;14)(p16.3;q32)$  с HR 20,0 (95% ДИ: 1,8-221) и делеция локуса 13q34 (гена *LAMP1*) с HR 9,0 (95% ДИ: 1,46-55,89). Однако, учитывая, что транслокация  $t(4;14)$  была выявлена всего у двух пациентов, данный вариант не был включён в последующий многофакторный анализ. Результаты анализа представлены на Рисунке 25.

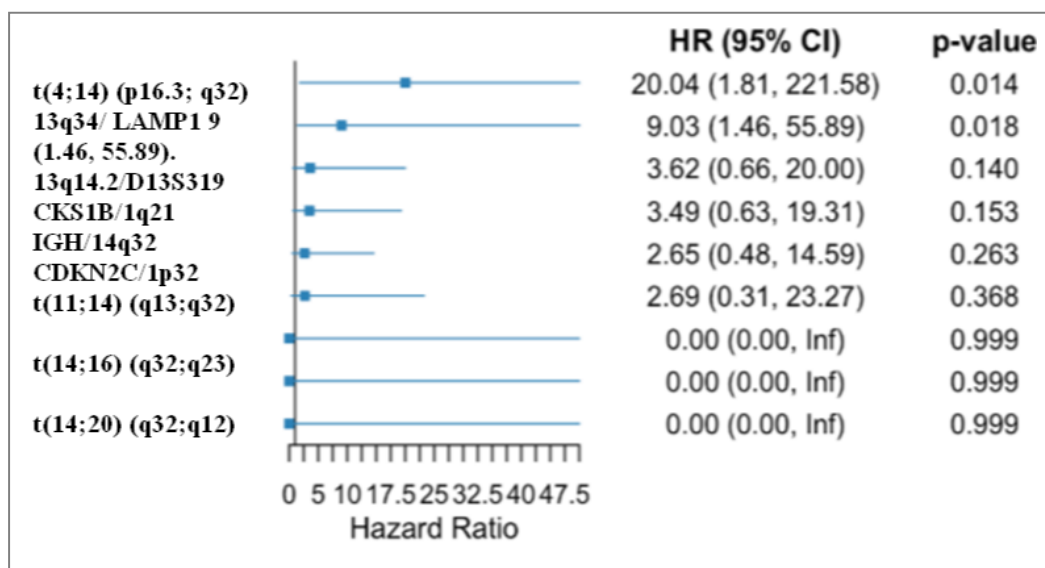


Рисунок 25 – Однофакторная регрессия Кокса: влияние цитогенетических аберраций, выявленных с помощью FISH-исследования, на выживаемость у пациентов с ММ

Результаты многофакторного регрессионного анализа Кокса, учитывающего данные цитогенетических исследований и высокопроизводительного секвенирования (NGS), позволили выявить наиболее значимые независимые прогностические факторы. Мутация в гене *ATM* оказала статистически значимое патогенное влияние на выживаемость без прогрессирования (ВБП) с отношением рисков HR 3,04 (95% ДИ: 1,07-8,63;  $p=0,037$ ). На ОВ наиболее выраженное негативное воздействие оказала мутация в гене *NOTCH1* с HR 11,58 (95% ДИ: 1,45-92,2;  $p=0,021$ ). Данные результаты визуализированы на Рисунке 26.

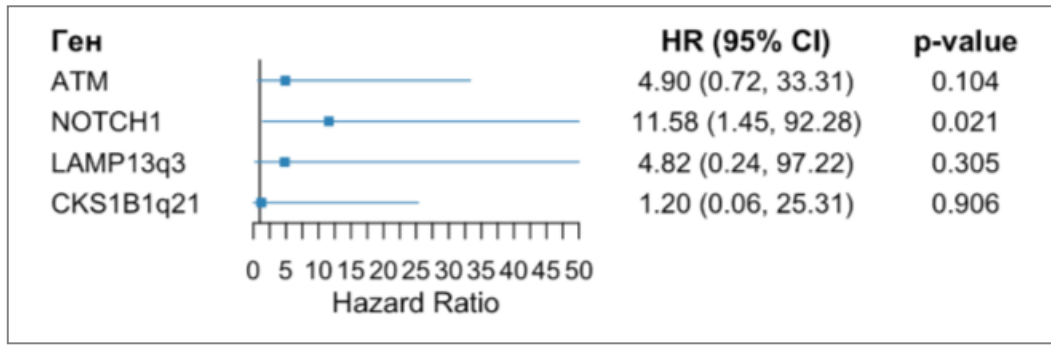
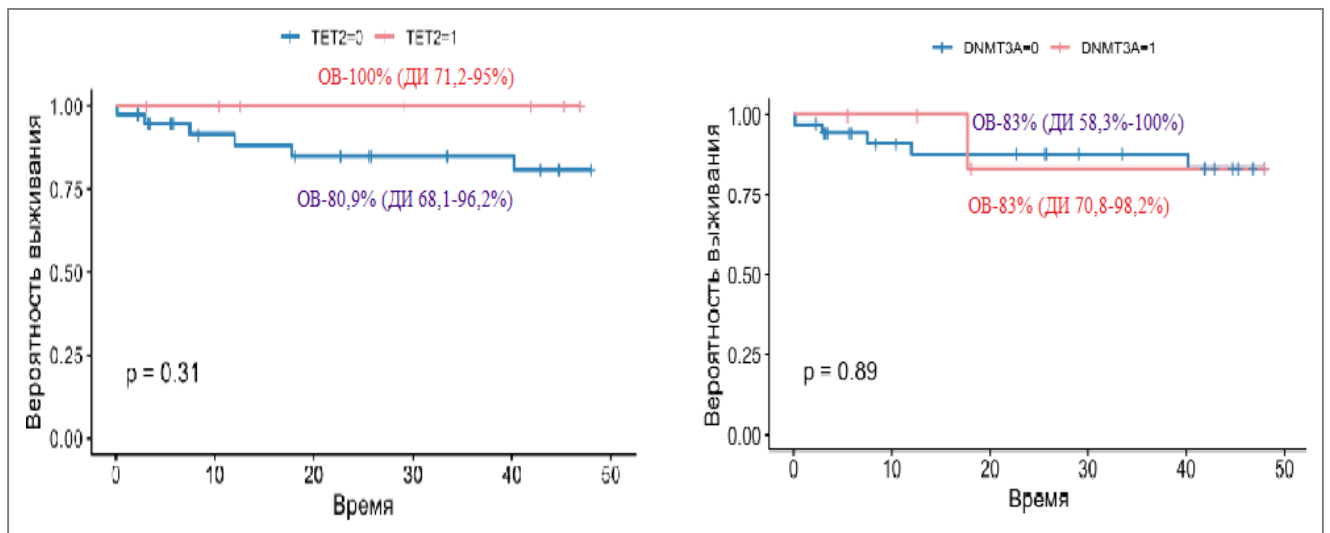


Рисунок 26 – Многофакторная регрессия Кокса БПВ: анализ влияния цитогенетических aberrаций и мутационного профиля пациентов с ММ

## 5.2 Влияние эпигенетических факторов риска на эффективность терапии

При анализе выживаемости, говоря о роли мутаций в генах, регулирующих метилирование ДНК на ОВ и БПВ, не получено достоверных данных, определяющих дальнейший прогноз пациентов. При анализе влияния мутаций в генах *TET2* и *DNMT3A* на ОВ: 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 27).



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

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

Рисунок 27 – ОВ пациентов с ММ в зависимости от мутационного статуса *TET2* и *DNMT3A*

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 28).

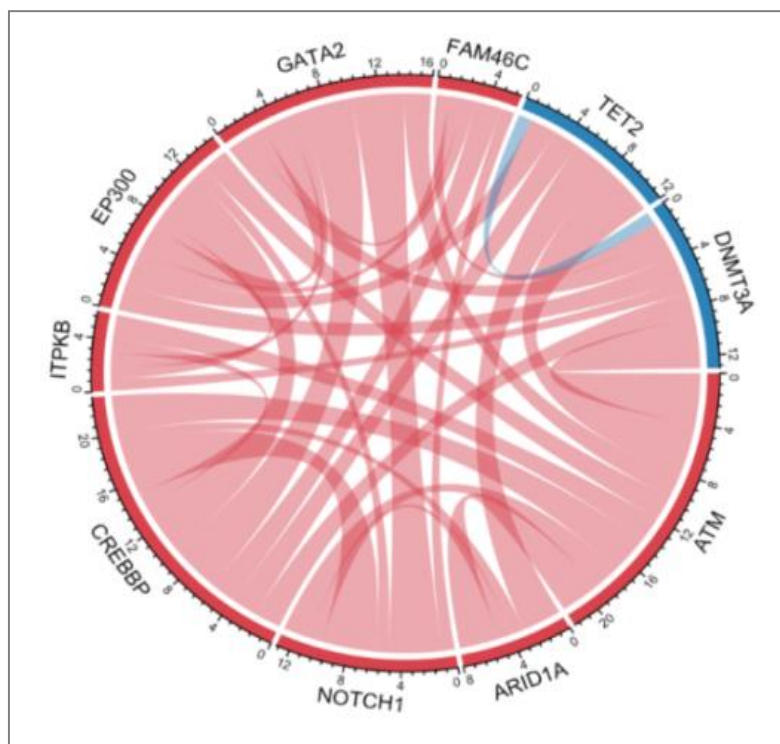
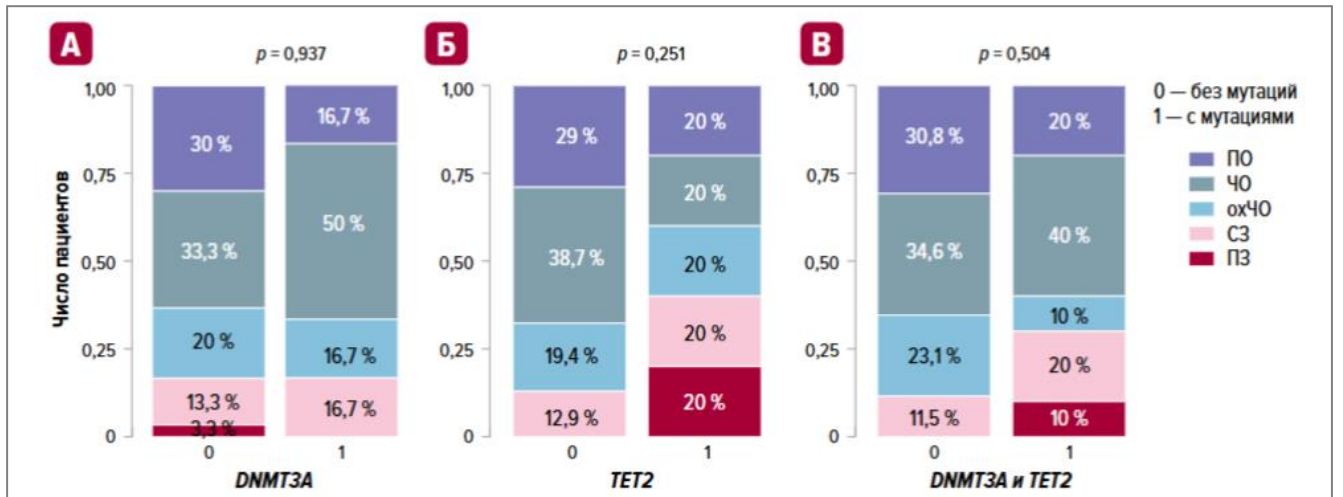


Рисунок 28 – Хордовая диаграмма: взаимосвязь генов, ухудшающих прогноз течения ММ

Оценка влияния мутационного статуса генов, участвующих в метилировании ДНК, на достижение объективного ответа на проводимую терапию не позволила выявить статистически значимых прогностических маркеров. В подгруппе пациентов с мутацией в гене *DNMT3A* частота достижения ПО составила 16,7% ( $p=0,937$ ). Среди пациентов с мутацией в гене *TET2* ПО был зафиксирован у 20% ( $p=0,251$ ). У пациентов, у которых было выявлено сочетание мутаций в генах *DNMT3A* и *TET2*, структура ответа распределилась следующим образом: ЧО – 40%, ПО – 20%, стабилизация заболевания – 20% ( $p=0,504$ ). Влияние мутационного статуса генов метилирования ДНК на структуру терапевтического ответа визуализировано на Рисунке 29.



А – DNMT3A; Б – TET2; В – DNMT3A и TET2.

Рисунок 29 – Влияние мутационного статуса генов метилирования ДНК на структуру и глубину ответа

### 5.3 Опухолевая мутационная нагрузка

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/Mb). Анализ БПВ в зависимости от уровня ТМВ (с разделением на группы  $\leq 5$  мутаций/Mb и  $>5$  мутаций/Mb) выявил статистически значимые различия между группами. У пациентов с низкой ТМВ ( $\leq 5$  мутаций/Mb) двухлетняя БПВ составила 95,0% (95% ДИ: 85,9-100,0), тогда как в группе с высокой ТМВ ( $>5$  мутаций/Mb) данный показатель достиг 69,6% (95% ДИ: 50,3-96,5),  $p=0,046$  (Рисунок 30).

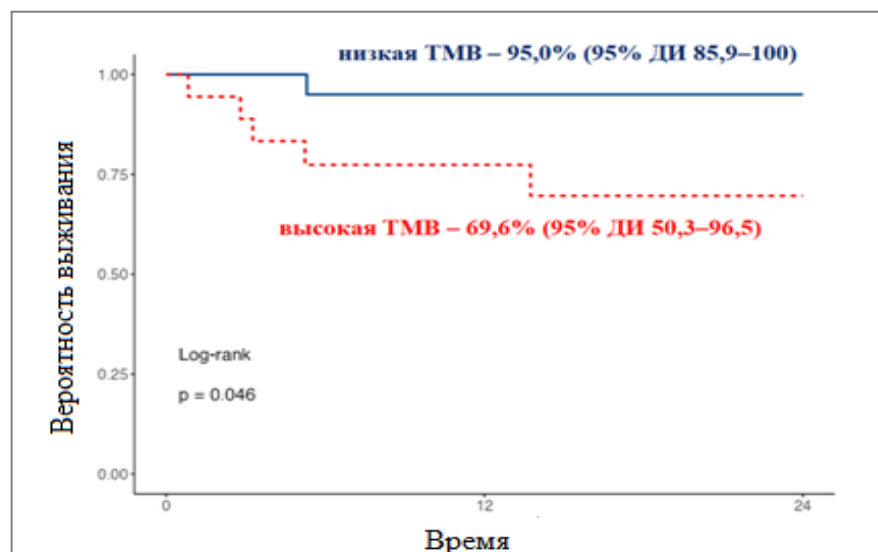


Рисунок 30 – Двухлетняя БПВ пациентов с ММ в зависимости от ТМВ

Дополнительный анализ БПВ с использованием количественной переменной (значение ТМВ для каждого пациента) позволил определить оптимальную точку отсечения, составившую 6,63 мутации/Мб. Таким образом, установлена прогностическая значимость ТМВ у пациентов с ММ: трехлетняя БПВ в группе с высокой ТМВ ( $\geq 6,63$  мутаций/Мб) составила 42,8% (95% ДИ: 22,6-81,0), в то время как в группе с низкой ТМВ ( $< 6,63$  мутаций/Мб) этот показатель был достоверно выше – 76,7% (95% ДИ: 22,6-81,0),  $p=0,041$ .

ГЛАВА 6. ОЦЕНКА СТАТУСА КЛЕТОК МИКРООКРУЖЕНИЯ НА ОСНОВЕ  
МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК  
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА У ПАЦИЕНТОВ С  
МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

Результаты комплексной оценки статуса микроокружения КМ представлены в Таблице 17, в качестве контрольной группы был использован КМ, полученный у здоровых доноров (n=3).

Таблица 17 – Результаты комплексной оценки микроокружения КМ

Группа пациентов	Проллиферативный потенциал, M±SD	Остеогенная дифференцировка, M±SD	Количество α-SMA+ клеток, M±SD	Снижение уровня экспрессии генов семейства WNT, M±SD	Наличие HS2, HS3 транскриптов	Наличие мутаций (метод NGS)
Здоровые доноры (контрольная группа, n=3)	80±7,2	85±4,5	9,4±1,2	Нет	Нет	Нет
Прогрессия (n=8)	41,2±3,1	44,7±5,3	13,1±2,5	Да, в 85% случаев	Частично, в 28% клеток	Более 450, в том числе <i>NRAS</i> , <i>FAT1</i> , <i>ATM</i>
Рецидив (n=11)	55,3±5,3	52,4±2,2	17,4±3,7	Да, в 73% случаев	Да, более чем в 65% клеток	Более 350, в том числе <i>NRAS</i> , <i>FAT1</i> , <i>ATM</i>
Частичный ответ (n=21)	62,5±3,1	63,5±2,3	11,7±3,1	Да, в 17% случаев	Частично, в 12% клеток	Отсутствуют мутации <i>NRAS</i> , <i>FAT1</i> , <i>ATM</i>

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*, свидетельствуют о наличии сформированного опухолевого

микроокружения в гемопоэтической нише КМ. 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 КМ с использованием культуральных и генетических методов можно использовать как прогностический маркер неблагоприятного ответа на терапию и учитывать при корректировке терапии второй и последующих линий, а также при подготовке пациентов к аутоТГСК.

Проведенный анализ собственных результатов и данных литературы позволяет идентифицировать у культур МСК стромы КМ пациентов с ММ характерный дисфункциональный и сенесцентный фенотип. Его патогномичными признаками служат подавление пролиферативного и дифференцировочного потенциала в комбинации с гиперэкспрессией маркеров старения (SA- $\beta$ -gal) и активации ( $\alpha$ -SMA), а также нарушение работы сигнального каскада WNT. Указанный аномальный статус стромальных клеток КМ выполняет не пассивную, а активную патогенетическую роль, заключающуюся в прямом участии в создании протуморогенного микроокружения КМ, которое обеспечивает поддержку жизнеспособности опухолевых клеток и формирует механизмы лекарственной устойчивости.

На основании полученных результатов предложен алгоритм комплексной оценки клеток микроокружения КМ пациентов с ММ (Таблица 18). В алгоритм входят следующие тесты: оценка пролиферативной активности МСК, оценка остеогенно-дифференцировочного потенциала МСК, окраска на ассоциированную со старением  $\beta$ -галактозидазу (SA- $\beta$ -gal), иммунофлуоресцентный анализ  $\alpha$ -SMA+клеток, FISH для визуализации транскрипции классических сателлитов 2 и 3 (HS2, HS3) некодирующей тандемно-повторяющейся ДНК перичентромерных районов (пцтпДНК) хромосом. Методом ПЦР в режиме реального времени также должна проводиться количественная оценка экспрессии выбранных маркеров из семейства WNT.

Таблица 18 – Параметры комплексной оценки культур МСК стромы КМ пациентов с ММ

Параметр оценки	Метод анализа	Биологическая значимость и интерпретация результатов
Пролиферативный и дифференцировочный потенциал МСК	<p>Пролиферация: кривая роста клеток, МТТ-тест.</p> <p>Дифференцировка: остеогенная (ализариновое красное окрашивание) и адипогенная (окрашивание Oil Red O) индукция in vitro</p>	<p>Отражает функциональную состоятельность пула МСК. Снижение пролиферативной активности и дифференцировочного потенциала свидетельствует о функциональном истощении стромы, что характерно для патологических состояний и ассоциировано с нарушением регенеративной способности клеток микроокружения</p>
Количество $\alpha$ -SMA + клеток	Иммунофлуоресцентный анализ	<p>Показатель активации миофибробластоподобной трансформации МСК. Повышение числа <math>\alpha</math>-SMA+ клеток указывает на патологическую активацию стромы, развитие фиброза (десмопластической реакции) и секрецию провоспалительных факторов, способствующих прогрессии опухоли и лекарственной резистентности</p>
Количество SA- $\beta$ -gal + клеток	Гистохимическое окрашивание (pH 6.0)	<p>Маркер клеточного старения (сенесценции). Накопление SA-<math>\beta</math>-gal+ клеток в культуре свидетельствует о необратимой остановке клеточного цикла под действием стресса (окислительного, ДНК-повреждающего). Сенесцентные МСК секретируют SASP (факторы, связанные со старением), создавая провоспалительную среду, поддерживающую опухолевый рост и хеморезистентность</p>

Продолжение таблицы 18

Параметр оценки	Метод анализа	Биологическая значимость и интерпретация результатов
Наличие транскриптов HS2/HS3	FISH	Отражает эпигенетический статус и транскрипционную активность ключевых энхансерных областей. Изменение уровня этих транскриптов может указывать на глобальную перестройку эпигенетического ландшафта МСК при патологии, что влияет на их секреторный фенотип и функциональные свойства
Уровни мРНК WNT2B, WNT9B и β-катенина	ОТ-ПЦР в реальном времени (qPCR)	Характеризует активность канонического пути WNT– ключевого регулятора самообновления стромальных клеток, остеогенеза и гомеостаза ниши. Подавление экспрессии свидетельствует о нарушении регенеративных программ и дисфункции стромы

Обнаруженные изменения позволяют дать комплексную характеристику статуса костномозговых МСК в гемопозитической нише КМ у пациентов с ММ. После выполнения всех тестов и исследований осуществляется индивидуальный анализ каждого критерия, регламентированного протоколом, на основании чего формулируется интегральное заключение по каждому образцу МСК КМ, базирующееся на комплексной интерпретации совокупности полученных данных. Критерии для оцениваемых в протоколе морфофункциональных характеристик МСК КМ представлены в Таблице 19.

Наличие мутаций *NRAS*, *FAT1*, *ATM* в генах клеток костного мозга пациентов; снижение пролиферативной активности культур клеток более, чем в два раза по сравнению с культурами здоровых доноров; появление транскриптов HS2, HS3 более, чем в 5% клеток; повышение более, чем в два раза уровня экспрессии *WNT9B* и снижение более, чем в два раза уровня экспрессии *WNT3*, *WNT3A*, *WNT7B*, *WNT8B*, *WNT10B*, *CTNNB* является прогностическим признаками плохого ответа на терапию, включающую бортезомиб.

Таблица 19 – Референсные значения для оцениваемых в протоколе морфофункциональных характеристик МСК КМ

Критерий	Параметр оценки	Референсное значение	Примечания
Пролиферативная активность	Кривая роста	Не отличается значительно от усредненной кривой роста здоровых доноров (ЗД)	–
Активность б-галактозидазы (SA-β-gal), ассоциированной со старением	Процентное содержание окрашенных клеток	Количество сенесцентных клеток не отличается от усредненного значения для ЗД (до 30%)	>30% – характерно для культур пациентов >70% – у пациентов возможно сохранение клеток опухолевого стромального микроокружения в КМ
Экспрессия белка α-SMA	Процентное содержание окрашенных клеток	Количество окрашенных клеток не отличается от усредненного значения для ЗД (до 30%)	30-70% Свыше 70% – возможен плохой ответ на терапию
Экспрессия ДНК	Процентное содержание окрашенных клеток, форма и локализация сигнала	Количество окрашенных клеток не отличается от усредненного значения для ЗД (до 10%)	Появление транскриптов в клетках, большая площадь сигнала в ядре, появление внеядерного, цитоплазматического сигнала – возможен плохой ответ на терапию.
Остеогенный потенциал	Интенсивность окраски ализариновым красным	Отсутствие различий с контрольными пробами ЗД	Снижение остеогенного потенциала характерно для поврежденной гемопозитической ниши костного мозга

Продолжение таблицы 19

Критерий	Параметр оценки	Референсное значение	Примечания
Экспрессия генов семейства <i>WNT</i>	Кратность изменения экспрессии	Отсутствие различий с контрольными пробами ЗД	Уровни мРНК генов <i>WNT10B</i> , <i>13</i> , <i>14</i> , <i>15</i> повышены у первичных больных, но снижены у не отвечающих на терапию. Уровень <i>CTNNB1</i> ( $\beta$ -катенин) повышен у пациентов с полным или частичным ответом

Совокупность признаков в культурах МСК КМ, включающая низкую пролиферативную активность, высокое содержание  $\alpha$ -SMA+/SA- $\beta$ -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. Данный маркерный профиль может рассматриваться в качестве потенциального предиктора неудовлетворительного ответа на терапию.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Множественная миелома – В-клеточное новообразование, морфологической основой которого являются плазматические клетки. Для клинической картины заболевания характерно разрушение костной ткани с образованием литических очагов, формирование почечной дисфункции, а также анемия и повышение концентрации кальция сыворотки крови. Говоря о распространенности, ММ является второй по частоте встречаемости среди онкогематологических нозологий. Заболеваемость растет с возрастом, достигая максимума в 65 лет [108]. В последние десятилетия наблюдается ощутимый рост числа случаев заболевания во многих странах мира. Хотя ММ по-прежнему остается неизлечимой, значительные успехи в терапии за последние 30 лет способствовали продлению медианы выживаемости пациентов [32]. Благодаря значительным достижениям методов лечения, у многих пациентов после установления диагноза продолжительность жизни достигает 10-20 лет [142]. Улучшение показателей выживаемости стало возможным за счёт внедрения в клиническую практику новых классов лекарственных средств, включая ингибиторы протеасом, иммуномодулирующие препараты и моноклональные антитела, а также благодаря совершенствованию методик трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Развитие методов лечения требует пересмотра и адаптации текущих прогностических критериев и систем, чтобы обеспечить персонализированный подход при назначении терапевтических программ как на начальных этапах, так и при выборе последующих линий терапии. Однако широкое применение инновационных терапевтических программ ограничено. Данный факт определяет тщательное изучение результатов их применения в условиях реальной практики.

Для подбора персонализированной терапии ММ необходима комплексная оценка соматического статуса пациента. За последние два десятилетия исследования показали, что тяжесть течения заболевания и вероятность развития осложнений во многом зависят от функционального статуса организма. В нашем исследовании возраст демонстрировал повышение риска с HR=1,08 (95% ДИ: 1,03-1,13, p=0,001). В однофакторной модели оценки эффективности терапии первой линии прогностическую значимость на ОВ демонстрировал статус по ECOG (ECOG 3) с HR=46,05 (10,79-196,5), p<0,001.

Говоря о вопросе выбора терапии, в настоящее время терапевтическая тактика определяется возрастом и сопутствующей патологией. Пациентам младше 65 лет с ВДММ и отсутствием значимых соматических заболеваний показана высокодозная химиотерапия с последующей аутоТГСК. В то же время, для пациентов старше 65 лет либо молодых пациентов с тяжелыми сопутствующими патологиями предпочтительнее назначать терапевтические схемы, включающие современные препараты, но без применения высокодозной химиотерапии и

аутоТГСК. АутоТГСК не является излечивающим методом, но существенно продлевает ОВ. Летальность, ассоциированная с аутоТГСК, составляет порядка 2% [4; 39]. В нашей работе проведен сравнительный анализ современной терапии (четырёхкомпонентные режимы) и стандартных химиотерапевтических программ. Двухлетняя ОВ составила 84% (95% ДИ: 75-90%) в группе современной терапии и 77% (95% ДИ: 42-93%) в группе ПХТ; медиана ОВ не достигнута и 12 мес. соответственно ( $p=0,3$ ). Двухлетняя БПВ – 65% (95% ДИ: 55-74%) и 58% (95% ДИ: 25-81%); медиана БПВ не достигнута и 5,3 мес. ( $p=0,4$ ). Кроме того, включение аутоТГСК показало значимое снижение риска рецидива основного заболевания:  $HR=0,28$  (95% ДИ: 0,11-0,72,  $p=0,008$ ).

Обсуждая вопрос эффективности терапии, следует сделать акцент на наличии инфекционных осложнений. Из-за воздействия COVID-19 происходили корректировки в лечении, выразившиеся в изменении числа курсов и их продолжительности. Исследование Европейской ассоциации гематологов (EPICOVIDENA) выявляет эпидемиологические и клинические характеристики, факторы риска и течение инфекции у данной категории больных. Общий уровень смертности по данным исследования смертности – 10,6%. Неблагоприятные исходы были в значительной степени связаны с тяжелой лимфопенией, вторичными бактериальными инфекциями и госпитализацией в отделение интенсивной терапии. Высокий уровень летальности указывает на необходимость проведения профилактики COVID-19, ранней диагностики и более эффективной терапии [17; 62].

В ходе нашего исследования установлено, что пациенты, не достигшие ответа на терапию ( $ОШ=3,94$ ; 95% ДИ: 1,45-11,05;  $p=0,008$ ), а также больные без проведённой ранее вакцинации ( $ОШ=3,94$ ; 95% ДИ: 1,18-18,09), могут быть определены в группу повышенного риска развития тяжёлых форм COVID-19. В большинстве случаев у обследованных пациентов выявлялось снижение концентрации сывороточных иммуноглобулинов по сравнению с нормой. Показано, что вероятность развития повторного эпизода COVID-19 не зависела от тяжести первичного инфекционного эпизода и составила 22,4% (95% ДИ: 12,9-33,6) при легком течении COVID-19 ( $p=0,34$ ) и 16% (95% ДИ: 4,8-33,1) при тяжелом течении инфекции. Тем не менее, конкурирующий риск смерти был значимо выше у пациентов с тяжелой формой болезни – 29,2% (95% ДИ: 13,5-47) по сравнению с 5% (95% ДИ: 1,3-12,7) при легком течении инфекции ( $p<0,001$ ). При этом не удалось выявить существенные факторы, которые ассоциированы с развитием повторных эпизодов заболевания. Следует отметить, что последующие случаи COVID-19 в тяжелой или крайне тяжелой форме встречаются редко – менее чем в 5% случаев, а вакцинация не показала эффективности в снижении риска повторного заражения.

Одним из ключевых факторов, определяющих ответ на терапию, являются генетические аномалии. Однако важно подчеркнуть, что на прогрессирование заболевания влияют не только

отдельные неблагоприятные генетические aberrации, но и их взаимозависимость. Сочетание двух или трёх цитогенетических перестроек в значительной степени ассоциированы с прогрессированием заболевания. Так, у 20% пациентов с ВДММ наблюдаются такие множественные генетические aberrации. Например, в группе больных с одной неблагоприятной генетической аномалией прогнозируемая ОВ составляет около 32 мес., в то время как у пациентов с двойными неблагоприятными перестройками ОВ резко снижается и составляет всего 6 мес. [186].

Результаты проведённого исследования показали, что клиническое течение ММ формируется под влиянием комплекса различных генетических нарушений. Согласно данным однофакторного анализа, среди цитогенетических аномалий наиболее выраженное негативное влияние на ОВ оказывает амплификация локуса 1q21 (гена *CKS1B*) с отношением рисков (HR) 3,57 (95% ДИ: 1,06-11,94;  $p=0,039$ ). Сокращение БПВ ассоциировано с делецией локуса 13q34/*LAMP1* с HR 9,0 (95% ДИ: 1,46-55,89) и транслокацией  $t(4;14)(p16.3;q32)$  с HR 20,0 (95% ДИ: 1,8-221).

Комплексный кариотип был выявлен у 2,7% пациентов. В нашем исследовании онкогенные триплеты состояли из сочетаний следующих aberrаций:  $gain(1q)$ ,  $t(4;14)$ , *CDKN2C*,  $del17p$ ,  $t(14;20)$ . При определении эффективности терапии первой линии в однофакторной модели для ОВ в данной группе значение HR для пациентов с тройными aberrациями составляло 4,23 (95% ДИ: 0,98-18,24,  $p=0,046$ ), при многофакторном анализе HR 7,11 (95% ДИ: 1,58-31,90,  $p=0,01$ ) соответственно. При оценке влияния на БПВ тройных aberrаций HR в однофакторном анализе составил 2,35 (95% ДИ: 0,57-9,76,  $p=0,239$ ), а в многофакторной модели – 3,84 (95% ДИ: 0,89-16,56,  $p=0,072$ ), однако уровень значимости не был достигнут. Таким образом, полученные нами результаты показали, что наличие тройных неблагоприятных перестроек является значимым неблагоприятным фактором прогноза в отношении выживаемости пациентов, что согласуется с данными литературы.

Стандартные методы исследования помогают стратифицировать группу риска ММ и подобрать эффективную терапию. Однако применение NGS-исследования в клинической практике позволяет верифицировать генетические нарушения, не определяемые классическими методами (цитогенетическое и FISH исследования), получить дополнительную информацию о прогностических маркерах и формировании механизмов молекулярной резистентности, что делает возможным подбор таргетной терапии [47]. В нашем исследовании выявлено, что мутации в генах *NRAS*, *ATM*, *FAT1*, *NOTCH1* оказали неблагоприятное влияние на выживаемость пациентов с ММ.

Анализ выживаемости показал, что у пациентов с мутацией в гене *NRAS* трёхлетняя ОВ составила 50,0% (95%, ДИ: 12,5-100), тогда как в группе с диким типом этого гена данный

показатель достиг 74,8% ( $p=0,0043$ ). Тем не менее, согласно данным литературы, прогностическая роль данной мутации при ММ продолжает оставаться предметом дискуссии. В то время как более ранние исследования, изучавшие влияние мутаций семейства *RAS* (*NRAS* и *KRAS*) на БПВ и ОВ при ММ, указывали на их неблагоприятное прогностическое значение, результаты исследования, проведенного на небольшой выборке пациентов, позволяют предположить, что мутации в гене *NRAS* могут рассматриваться скорее, как благоприятный прогностический биомаркер.

Таким образом, мутации, приводящие к потере функции гена *ATM* могут быть верифицированы у 2-4% пациентов с впервые диагностированной ММ. *ATM*-киназа в норме играет ключевую роль в развитии ответа на повреждения ДНК, являясь геном-супрессором опухоли. Мутации в этом гене могут нарушать ответ на повреждение ДНК, что может способствовать прогрессированию заболевания [28]. В нашем исследовании для пациентов в группе дикого типа 5-летняя ОВ составила 76,9%, а среди пациентов с мутированным геном *ATM* она была значительно ниже 33,6% (95% ДИ: 6,7-100,0),  $p<0,0001$ .

В большинстве случаев ММ наблюдается повышенная экспрессия генов *NOTCH1*. Нарушение регуляции передачи сигналов белками Notch способствует развитию ММ посредством нескольких механизмов: усиление пролиферации за счет усиления регуляции *IL-6* и циклина *D*, увеличение потенциала инициации опухоли за счет ингибирования *p21* и *p27*, активация путей, способствующих выживанию, таких как *CXCR4/SD-1* [104]. Передача сигналов Notch усиливает остеокластогенез и подавляет дифференцировку остеобластов, способствуя деградаци костной ткани, а также усиливает ангиогенез [124; 201]. В нашем исследовании при проведении анализа методом однофакторной регрессии Кокса фактор мутированного гена *NOTCH1* наиболее значимо влиял на однолетнюю ОВ (*NOTCH1* HR 6,59 (1,30; 33,3),  $p=0,023$ ). При оценке влияния мутации *NOTCH1* на БПВ HR составил 11,58 (95% ДИ: 1,45, 92,2),  $p=0,021$ .

Ген атипичного кадгерина 1 (*FAT1*) относится к числу наиболее часто мутирующих генов при различных онкологических заболеваниях. Однако его роль в патогенезе ММ в настоящее время остаётся недостаточно изученной [138]. Результаты проведённого нами исследования выявили негативное влияние мутации в гене *FAT1* на прогноз течения заболевания. Анализ выживаемости показал, что трёхлетняя ОВ у пациентов с данной мутацией составила 37,5% (95% ДИ: 8,4-100,0), в то время как в группе пациентов с диким типом гена *FAT1* этот показатель был достоверно выше – 77,6% (95% ДИ: 61,6-97,7),  $p=0,0039$ .

Повышенный уровень экспрессии генов *DNMT1*, *DNMT3A* и *DNMT3B* является частым феноменом при различных солидных опухолях и гематологических злокачественных новообразованиях, в том числе при множественной миеломе. Существенным аспектом патогенеза данного заболевания выступают мутации в генах, кодирующих ферменты,

ответственные за модификацию метилирования ДНК. Наличие таких мутаций ассоциируется с неблагоприятным прогнозом и сокращением продолжительности жизни пациентов [176]. На момент первичной диагностики подобные генетические изменения эпигенетических регуляторов выявляют всего у 4% больных. При развитии рецидива заболевания количество эпигенетических аномалий значительно увеличивается, особенно ассоциированных с мутациями в генах *DNMT3A* и *TET2*. В то же время, мутации в генах *DNMT1*, *DNMT3B* и *TET1/3* при ММ регистрируются значительно реже [78]. В рамках проведённого нами исследования не было выявлено статистически значимого влияния мутаций в генах, участвующих в метилировании ДНК (*DNMT3A*, *TET2*), на эффективность проводимой терапии и показатели выживаемости у пациентов с ММ, однако прогностическая значимость данных генетических вариантов требует дальнейшего углублённого изучения.

С появлением технологий NGS в клинической практике возникла необходимость создания единого показателя, который бы отражал совокупное влияние всех мутаций, выявляемых в данной нозологии. Одним из таких важных индикаторов стал показатель ТМВ. Важная задача сегодняшнего дня – это введение NGS в рутинную клиническую практику [41]. Не менее важная задача состоит в создании единой межлабораторной стандартизации. Медиана VAF составила 45,91% (10,0-50,38), медиана ТМВ – 5,0 мутаций/Мб. Проведенный анализ в отношении двухлетней БПВ в зависимости от величины ТМВ ( $\leq 5$  мутаций/Мб и  $> 5$  мутаций/Мб) продемонстрировал достоверные различия в группах: у пациентов с высокой ТМВ ( $> 5$ ) двухлетняя БПВ составила 69,6% (95% ДИ: 50,3-96,5), у больных с низкой ТМВ ( $\leq 5$ ) – 95,0% (95% ДИ: 85,9-100),  $p=0,046$ . С другой стороны, при проведении анализа БПВ для количественных переменных (в нашем исследовании значение ТМВ для каждого пациента) точка отсечения составила 6,63 мутаций/Мб. Трехлетняя БПВ в группе с высокой ТМВ ( $\geq 6,63$ ) составила 42,8% (95% ДИ: 22,6-81,0), у пациентов с низкой ТМВ ( $< 6,63$ ) – 76,7% (95% ДИ: 22,6-81,0),  $p=0,041$ .

Несмотря на появление новых методов лечения и диагностики, у большинства пациентов наблюдаются частые рецидивы, продолжительность каждой последующей ремиссии неуклонно сокращается, что обусловлено высокой лекарственной резистентностью и непрерывной субклональной эволюцией клеток ММ [162]. В этом контексте комплексная оценка статуса клеток микроокружения КМ приобретает решающее значение для выбора лечебной стратегии. Костномозговое опухолевое микроокружение оказывает существенное влияние не только на выживаемость и пролиферацию клеток ММ, но и играет ключевую роль в формировании резистентности к основным классам современных противоопухолевых препаратов. Прямые адгезивные взаимодействия между клетками ММ и МСК, а также секреция последними ряда цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, TNF- $\alpha$  и других) приводят к активации сигнального пути NF- $\kappa$ B.

Эта активация лежит в основе развития устойчивости клеток ММ как к ингибиторам протеасом, так и к иммуномодулирующим препаратам. Данный механизм обосновывает терапевтическую перспективу комбинирования указанных классов препаратов с ингибиторами NF- $\kappa$ B и/или с моноклональными антителами, нейтрализующими соответствующие растворимые факторы [25; 211].

В нашем исследовании был разработан алгоритм комплексной оценки клеток микроокружения КМ больных ММ с использованием культуральных методов. Выявленные комбинации исследуемых параметров, такие как низкая пролиферативная активность, высокое содержание a-SMA+/b-gal+ клеток, снижение остеогенного потенциала при наличии транскриптов классических сателлитов 2 и 3 (HS2, HS3) и при отсутствующем или небольшом повышении экспрессии WNT10B, 13, 14, 15 – свидетельствуют о наличии сформированного опухолевого микроокружения в гемопозитической нише КМ и могут рассматриваться как предикторы плохого ответа на терапию.

По результатам исследования с учетом выявленных в ходе работы факторов риска нами разработан алгоритм диагностики и лечения пациентов с ММ (Рисунок 31). Предложено первичное распределение пациентов согласно возрасту и группе ECOG. Учитывая ограниченность рутинного применения в клинической практике культуральных методик и секвенирования следующего поколения, данный вариант углубленного обследования предложен в группе наиболее коморбидных пациентов, которым необходимо назначение таргетной терапии. Оценка клеточного состава КМ проводится согласно выявленным маркерам дисфункционального микроокружения. При стратификации генетического риска в качестве прогностического фактора, определяющего необходимость интенсификации терапии, рассматривается показатель мутационной нагрузки опухоли (ТМВ).

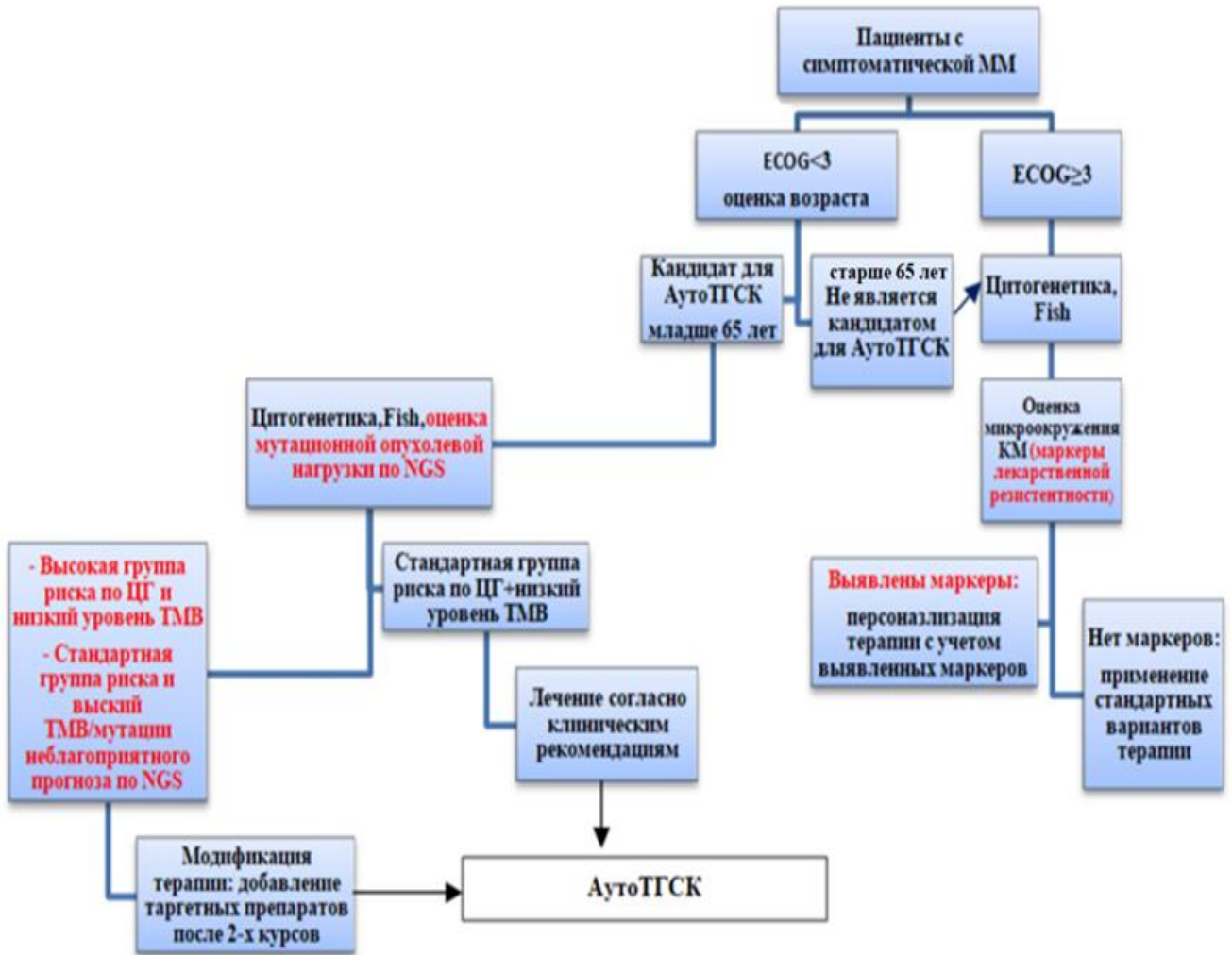


Рисунок 31 – Алгоритм выбора персонифицированной терапии для пациентов с множественной миеломой

Таким образом, разработка высокоэффективных персонализированных терапевтических стратегий, направленных на преодоление лекарственной резистентности у пациентов с ММ, возможна лишь при условии получения комплексных данных о состоянии генома и транскриптома опухоли, а также о характеристиках её многокомпонентного микроокружения. Такой всесторонний анализ является фундаментом для идентификации достоверных биомаркеров, которые могут служить мишенями для таргетного воздействия.

## ВЫВОДЫ

1. Клиническими факторами, определяющими эффективность лечения и выживаемость пациентов с множественной миеломой, являются возраст ( $\geq 73,5$  лет), 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  $\alpha$ -SMA+/SA- $\beta$ -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. 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 персонифицированную терапию. При стратификации генетического риска в качестве прогностического фактора, определяющего необходимость интенсификации терапии, рассматривается показатель мутационной нагрузки опухоли (TMB).

## 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 подчёркивают значимость углублённого изучения молекулярных механизмов патогенеза ММ для совершенствования прогностических моделей и 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 нового поколения.

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

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АутоТГСК	– аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток
БПВ	– беспрогрессивная выживаемость
БСВ	– бычий сывороточный альбумин
ВДММ	– впервые диагностированная множественная миелома
ВДСТ	– время до следующей линии терапии
ВДХТ	– высокодозная химиотерапия
ГА	– генетические aberrации
ГСК	– гемопоэтические стволовые клетки
ДИ	– доверительный интервал
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДО	– длительность полного ответа
ЗД	– здоровые доноры /контрольная группа
ИГХ	– иммуногистохимическое исследование
ИЛ-1 $\beta$	– интерлейкин -1 $\beta$
ИЛ-6	– интерлейкин-6
ИЛ-8	– интерлейкин-8
ИФМ	– иммунофиксация (С – сыворотки, М – мочи)
ИФТ	– иммунофенотипирование
КМ	– костный мозг
КТ	– компьютерная томография
ЛДГ	– лактатдегидрогеназа
ЛЦ	– легкие цепи
МАТ	– моноклональные антитела
МГНЗ	– моноклональная гаммапатия неопределенного значения
Me	– медиана
мес.	– месяц
мин	– минута
мкм	– микрометр
мл	– миллилитр
мм	– миллиметр

ммоль	–	миллимоль
ММ	–	множественная миелома
МО	–	минимальный ответ
МОБ	–	минимальная остаточная болезнь
МСК	–	мезенхимальные стромальные клетки
НД	–	не достигнут
нм	–	нанометр
НО	–	без ответа на терапию
ОБ	–	общий белок
ОВ	–	общая выживаемость
ОХЧО	–	очень хороший частичный ответ на терапию
ПБ	–	первичные больные
ПК	–	плазматические клетки
ПО	–	полный ответ на терапию
ПЦР	–	полимеразная цепная реакция
ПЧО	–	группа с ПО, ОХЧО и ЧО
ПЭТ/КТ	–	позитронно-эмиссионная компьютерная томография
РЗ	–	ремиссия заболевания
РНК	–	рибонуклеиновая кислота
РРММ	–	рецидив/резистентная множественная миелома
сек.	–	секунда
СК	–	стволовая клетка
СКФ	–	скорость клубочковой фильтрации
СЛЦ	–	свободные легкие цепи иммуноглобулинов
сПО	–	строгий полный ответ
СРБ	–	С-реактивный белок
СЦГИ	–	стандартное цитогенетическое исследование
ТММ	–	тлеющая множественная миелома
ув.	–	увеличение
ХТ	–	химиотерапия
ЧО	–	частичный ответ на терапию
ЧР	–	частичная ремиссия

ЯСК	–	ядросодержащие клетки костного мозга
CAR-T	–	Chimeric antigen receptor of T-cells (химерный антигенный рецептор Т-клеток)
CI	–	confidence interval (доверительный интервал)
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)
Ig	–	иммуноглобулин
IL	–	интерлейкин
IMWG	–	международная группа по изучению множественной миеломы
IPSS	–	международная система стадирования
MASS	–	система стратификации риска при множественной миеломе (The Mayo Additive Staging System)
MHC	–	главный комплекс гистосовместимости
NGS	–	секвенирование следующего поколения (Next Generation Sequencing)
R- IPSS	–	пересмотренная международная система стадирования
SA- $\beta$ -gal	–	активированная $\beta$ -галактозидаза
VD	–	схема терапии: бортезомиб и дексаметазон
VRD	–	схема терапии: бортезомиб, леналидомид и дексаметазон

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аметова, Л.О. Прогностические биомаркеры при множественной миеломе / Л.О. Аметова, А.О. Кузьмичева, К.М. Шатрова [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. – 2025. – Т. 152, № 2. – С. 8.
2. Артюхина, З.Е. Кроветворная ткань и стромальное микроокружение больных множественной миеломой / З.Е. Артюхина, Н.Ю. Семенова, В.А. Балашова [и др.] // Вестник гематологии. – 2017. – Т. 13, № 1. – С. 15-18.
3. Белик, Л.А. Сигнальный путь WNT при множественной миеломе / Л.А. Белик, Н.И. Енукашвили, Н.Ю. Семенова, И.С. Мартынкевич // Вестник гематологии. – 2023. – Т. 19, № 1. – С. 37-48.
4. Бессмельцев, С.С. Аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у больных с впервые диагностированной множественной миеломой / С.С. Бессмельцев // Вестник гематологии. – 2023. – Т. 19, № 1. – С. 4-22.
5. Бутолина, М.А. Изучение цитокин-продуцирующей способности мезенхимальных клеток стромы костного мозга при множественной миеломе / М.А. Бутолина, К.А. Ветошкин, Н.В. Минаева [и др.] // Вестник гематологии. – 2019. – Т. 15, № 4. – С. 31.
6. Вотякова, О.М. Множественная миелома / О.М. Вотякова, Е.А. Демина // Клиническая онкогематология: руководство для врачей / под ред. М.А. Волковой. – Москва : Медицина, 2001. – С. 423-448.
7. Войцеховский, В.В. Терапия пациентов с множественной миеломой, осложненной хронической болезнью почек / В.В. Войцеховский, Т.В. Есенина, Д.В. Путинцев [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2023. – Т. 90. – С. 113-121.
8. Глазанова, Т.В. Нарушения в системе иммунитета после перенесенной новой коронавирусной инфекции COVID-19 / Т.В. Глазанова, Е.Р. Шилова // Журнал инфектологии. – 2022. – Т. 14, № 4. – С. 26-37.
9. Злокачественные новообразования в России в 2024 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. – Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена – 250 с.
10. Менделеева, Л.П. Множественная миелома / Л.П. Менделеева, О.М. Вотякова, И.Г. Рехтина [и др.] // Современная онкология. – 2020. – Т. 22, № 4. – С. 6-28.
11. Михайлов, Е.С. Влияние бронхолегочной патологии на общую выживаемость пациентов с множественной миеломой / Е.С. Михайлов, Ю.С. Осипов, Г.Н. Салогуб [и др.] // Вестник гематологии. – 2019. – Т. 15, № 1. – С. 16-21.

12. Пыко, И.В. Мезенхимальные стволовые клетки костного мозга: свойства, функции, возможность использования в регенеративной и восстановительной терапии / И.В. Пыко, С.В. Корень, З.Б. Квачева, А.С. Федулов // Медицинский журнал. – 2007. – № 4. – С. 18-22.
13. Рамасвами, Р. Роль мезенхимальных стволовых клеток в кроветворении / Р. Рамасвами, С. Гленни, С.П. Джонс, И. Робертс // BloodRev. – 2006. – № 20. – С. 161-171.
14. Романенко, Н.А. Особенности течения новой коронавирусной инфекции COVID-19 у пациентов с онкогематологическими заболеваниями / Н.А. Романенко, Е.Р. Шилова, Л.В. Стельмашенко // Клиническая онкогематология. – 2023. – Т. 16, № 1. – С. 101-108.
15. Ругаль, В.И. Характеристика микроокружения костного мозга при множественной миеломе до и после терапии / В.И. Ругаль, С.С. Бессмельцев, Н.Ю. Семенова [и др.] // Сибирский научный медицинский журнал. – 2019. – Т. 39, № 1. – С. 112-118.
16. Семенова, Н.Ю. Перестройка ключевых элементов стромального микроокружения костного мозга при множественной миеломе / Н.Ю. Семенова, А.В. Чубарь, Н.И. Енукашвили [и др.] // Вестник гематологии. – 2020. – Т. 16, № 1. – С. 15-21.
17. Семочкин, С.В. CART-клеточная терапия множественной миеломы по материалам конгрессов ASH-2021 и ASCO-2022 / С.В. Семочкин // Клиническая онкогематология. – 2023. – Т. 16, № 1. – С. 1-13.
18. Фильченков, А.А. Адипоциты костного мозга при множественной миеломе / А.А. Фильченков // Онкогематология. – 2019. – Т. 14, № 1. – С. 60-75.
19. Чубарь, А.В. Мезенхимные стромальные клетки: роль в формировании гематоонкологической ниши / А.В. Чубарь, Н.И. Енукашвили // Цитология. – 2020. – Т. 62, № 11. – С. 763-772.
20. Abdallah, N.H. A simple additive staging system for newly diagnosed multiple myeloma / N.H. Abdallah, M. Binder, S.V. Rajkumar [et al.] // Blood Cancer J. – 2022. – Vol. 12, № 1. – P. 21.
21. Akira, S. Interleukin-6 in biology and medicine / S. Akira, T. Taga, T. Kishimoto // Adv. Immunol. – 1993. – Vol. 54. – P. 1-78.
22. Aksenova, A.Y. Genome instability in multiple myeloma: facts and factors / A.Y. Aksenova, A.S. Zhuk, A.G. Lada [et al.] // Cancers. – 2021. – Vol. 13, № 23. – P. 5949.
23. Alexandrakis, M.G. Interleukin-10 induces both plasma cell proliferation and angiogenesis in multiple myeloma / M.G. Alexandrakis, N. Goulidaki, C.A. Pappa [et al.] // Pathol. Oncol. Res. – 2015. – Vol. 21, № 4. – P. 929-934.
24. Allegra, A. Secondary Immunodeficiency in hematological malignancies: focus on multiple myeloma and chronic lymphocytic leukemia / A. Allegra, A. Tonacci, C. Musolino [et al.] // Front. Immunol. – 2021. – Vol. 12. – P. 738915.

25. Anderson, D.M. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function / D.M. Anderson, E. Maraskovsky, W.L. Billingsley [et al.] // *Nature*. – 1997. – Vol. 390, № 6656. – P. 175-179.
26. Andreozzi, F. Precision medicine approach based on molecular alterations for patients with relapsed or refractory multiple myeloma: results from the MM-EP1 Study / F. Andreozzi, M. Dragani, C. Quivoron [et al.] // *Cancers (Basel)*. – 2023. – Vol. 15, № 5. – P. 1508.
27. Andrulis, M. Targeting the BRAF V600E mutation in multiple myeloma / M. Andrulis, N. Lehnert, D. Capper [et al.] // *Cancer Discov.* – 2013. – Vol. 3, № 8. – P. 862-869.
28. Austen, B. Pathogenic ATM mutations occur rarely in a subset of multiple myeloma patients / B. Austen, G. Barone, A. Reiman // *Br. J. Haematol.* – 2008. – Vol. 142, № 6. – P. 925-933.
29. Avet-Loiseau, H. Oncogenesis of multiple myeloma: 14q32 and 13q chromosomal abnormalities are not randomly distributed, but correlate with natural history, immunological features, and clinical presentation / H. Avet-Loiseau, T. Facon, B. Grosbois [et al.] // *Blood*. – 2002. – Vol. 99, № 6. – P. 2185-2191.
30. Avet-Loiseau, H. Translocation t(11;14)(q13;q32) is the hallmark of IgM, IgE, and nonsecretory multiple myeloma variants / H. Avet-Loiseau, R. Garand, L. Lode [et al.] // *Blood*. – 2003. – Vol. 101, № 4. – P. 1570-1571.
31. Barwick, B.G. Cell of origin and genetic alterations in the pathogenesis of multiple myeloma / B.G. Barwick, V.A. Gupta, P.M. Vertino [et al.] // *Front. Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 1121.
32. Benjamin, M. Myeloma and race: a review of the literature / M. Benjamin, S. Reddy, O.W. Brawley // *Cancer Metastasis Rev.* – 2003. – Vol. 22, № 1. – P. 87-93.
33. Bianchi, G, Munshi Pathogenesis beyond the cancer clone(s) in multiple myeloma / G. Bianchi, N.C. Munshi // *Blood*. – 2015. – Vol. 125, № 20. – P. 3049-3058.
34. Binder, M. Mortality trends in multiple myeloma after the introduction of novel therapies in the United States / M. Binder, B. Nandakumar, S.V. Rajkumar [et al.] // *Leukemia*. – 2021. – Vol. 36, № 3. – P. 801-808.
35. Binder, M. Prognostic implications of abnormalities of chromosome 13 and the presence of multiple cytogenetic high-risk abnormalities in newly diagnosed multiple myeloma / M. Binder, S.V. Rajkumar, R.P. Ketterling [et al.] // *Blood Cancer J.* – 2017. – Vol. 7, № 9. – P. 600.
36. Biran, N. Risk Stratification in multiple myeloma, Part 1: characterization of high-risk disease / N. Biran, S. Jagannath, A. Chari // *Clin. Adv. Hematol. Oncol.* – 2013. – Vol. 11, № 8. – P. 488-503.
37. Blimark, C.H. Outcome and survival of myeloma patients diagnosed 2008-2015. Real world data on 4904 patients from the Swedish Myeloma Registry (SMR) / C.H. Blimark, I. Turesson, A. Genell [et al.] // *Haematologica*. – 2018. – Vol. 103, № 3. – P. 506-513.

38. Blocka, J. Salvage therapy versus upfront autologous stem cell transplantation in multiple myeloma patients with progressive disease after first-line induction therapy / J. Blocka, T. Hielscher, C. Mueller-Tidow [et al.] // *Leuk. Lymphoma*. – 2020. – Vol. 61, № 1. – P. 27-36.
39. Blommestein, H.M. Efficacy of first-line treatments for multiple myeloma patients not eligible for stem cell transplantation: a network meta-analysis / H.M. Blommestein, C.H.Y. van Beurden-Tan, M.G. Franken [et al.] // *Haematologica*. – 2019. – Vol. 104, № 5. – P. 1026-1035.
40. Bolli, N. Heterogeneity of genomic evolution and mutational profiles in multiple myeloma / N. Bolli, H. Avet-Loiseau, D.C. Wedge [et al.] // *Nat. Commun*. – 2014. – Vol. 5. – P. 2997.
41. Bolli, N. Next-generation sequencing for clinical management of multiple myeloma: ready for prime time? / N. Bolli, E. Genuardi, B. Ziccheddu [et al.] // *Front Oncol*. – 2020. – Vol. 25, № 10. – P. 189.
42. Brioli, A. The risk of infections in multiple myeloma before and after the advent of novel agents: a 12-year survey / A. Brioli, M. Klaus, H. Sayer [et al.] // *Ann. Hematol*. – 2019. – Vol. 98, № 3. – P. 713-722.
43. Brito-Babapulle, V. Translocation t(11;14) (q13;q32) in chronic lymphoid disorders. *Genes Chromos* / V. Brito-Babapulle, J. Ellis, E. Matutes [et al.] // *Cancer*. – 1992. – Vol. 5, № 2. – P. 158-165.
44. Brooks, T.A. Targeting MYC expression through G-Quadruplexes / T.A. Brooks, L.H. Hurley // *Genes Cancer*. – 2010. – Vol. 1, № 6. – P. 641-649.
45. Capp, J.P. Multiple myeloma as a bone disease? The tissue disruption-induced cell stochasticity (TiDiS) theory / J.P. Capp, R. Bataille // *Cancers (Basel)*. – 2020. – Vol. 12, № 8. – P. 2158.
46. Capp, J.P. Multiple myeloma exemplifies a model of cancer based on tissue disruption as the initiator event / J.P. Capp, R. Bataille // *Front Oncol*. – 2018. – Vol. 8. – P. 355.
47. Castaneda, O. Multiple myeloma genomics – a concise review / O. Castaneda, R. Baz // *Acta Med. Acad*. – 2019. – Vol. 48, № 1. – P. 57-67.
48. Cavo, M. Prospective, randomized study of single compared with double autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma: Bologna 96 clinical study / M. Cavo, P. Tosi, E. Zamagni [et al.] // *J. Clin. Oncol*. – 2007. – Vol. 25, № 17. – P. 2434-2441.
49. Chalopin, T. No survival improvement in patients with high-risk multiple myeloma harbouring del(17p) and/or t(4;14) over the two past decades / T. Chalopin, N. Vallet, O. Theisen [et al.] // *Br. J. Haematol*. – 2021. – Vol. 194, № 3. – P. 635-638.
50. Chang, H. The t(4;14) is associated with poor prognosis in myeloma patients undergoing autologous stem cell transplantation / H. Chang, S. Sloan, D. Li [et al.] // *Br. J. Haematol*. – 2004. – Vol. 125, № 1. – P. 64-68.

51. Chavan, S.S. Bi-allelic inactivation is more prevalent at relapse in multiple myeloma, identifying RB1 as an independent prognostic marker / S.S. Chavan, J. He, R. Tytarenko [et al.] // *Blood Cancer J.* – 2017. – Vol. 7, № 2. – P. e535.
52. Chen, X. A Five-gene risk score model for predicting the prognosis of multiple myeloma patients based on gene expression profiles / X. Chen, L. Liu, M. Chen [et al.] // *Front Genet.* – 2021. – Vol. 12. – P. 785330.
53. Chen, Z. Osteoblastic niche supports the growth of quiescent multiple myeloma cells / Z. Chen, R.Z. Orlowski, M. Wang [et al.] // *Blood.* – 2014. – Vol. 123, № 14. – P. 2204-2208.
54. Chesi, M. Molecular pathogenesis of multiple myeloma: basic and clinical updates / M. Chesi, P.L. Bergsagel // *Int. J. Hematol.* – 2013. – Vol. 97, № 3. – P. 313-323.
55. Chim, C.S. Management of relapsed and refractory multiple myeloma: novel agents, antibodies, immunotherapies and beyond / C.S. Chim, S.K. Kumar, R.Z. Orlowski [et al.] // *Leukemia.* – 2018. – Vol. 32, № 2. – P. 252-262.
56. Chang, W.J. Clinical and biological significance of RAS mutations in multiple myeloma / W.J. Chang, N. Gonzalez-Paz, T. Price-Troska [et al.] // *Leukemia.* – 2008. – Vol. 22, № 12. – P. 2280-2284.
57. Chang, W.J. Genetic events in the pathogenesis of multiple myeloma / W.J. Chang, O. Glebov, P.L. Bergsagel, W.M. Kuehl // *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* – 2007. – Vol. 20, № 4. – P. 571-596.
58. Chang, W.J. IMWG consensus on risk stratification in multiple myeloma / W.J. Chang, A. Dispenzieri, C.-S. Chim [et al.] // *Leukemia.* – 2014. – Vol. 28, № 2. – P. 269-277.
59. Cho, H.J. Development of a new risk stratification system for patients with newly diagnosed multiple myeloma using R-ISS and <sup>18</sup>F FDG PET/CT / H.J. Cho, S.H. Jung, J.C. Jo [et al.] // *Blood Cancer J.* – 2021. – Vol. 11, № 12. – P. 190.
60. Chretien, M.L. Understanding the role of hyperdiploidy in myeloma prognosis: which trisomies really matter? / M.L. Chretien, J. Corre, V. Lauwers-Cances [et al.] // *Blood.* – 2015. – Vol. 126, № 25. – P. 2713-2719.
61. Chuleerarux, N. Immunogenicity of SARS-CoV-2 vaccines in patients with multiple myeloma: a systematic review and meta-analysis / N. Chuleerarux, K. Manothummetha, C. Moonla [et al.] // *Blood Adv.* – 2022. – Vol. 6, № 24. – P. 6198-6207.
62. Colombo, M. Multiple myeloma-derived Jagged ligands increases autocrine and paracrine interleukin-6 expression in bone marrow niche / M. Colombo, S. Galletti, G. Bulfamante [et al.] // *Oncotarget.* – 2016. – Vol. 7, № 35. – P. 56013-56029.

63. Colombo, M. Notch-directed microenvironment reprogramming in myeloma: a single path to multiple outcomes / M. Colombo, L. Mirandola, N. Platonova [et al.] // *Leukemia*. – 2013. – Vol. 27, № 5. – P. 1009-1018.
64. Colter, D.C. Identification of a subpopulation of rapidly self-renewing and multipotential adult stem cells in colonies of human marrow stromal cells / D.C. Colter, I. Sekiya, D.J. Prockop // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2001. – Vol. 98, № 14. – P. 7841-7845.
65. Cook, G. The effect of salvage autologous stem-cell transplantation on overall survival in patients with relapsed multiple myeloma (final results from BSBMT/UKMF myeloma X relapse [Intensive]): a randomised, open-label, phase 3 trial / G. Cook, A.J. Ashcroft, D.A. Cairns [et al.] // *Lancet Haematol*. – 2016. – Vol. 3, № 7. – P. 340–351.
66. Corradini, P. Molecular and clinical remissions in multiple myeloma: role of autologous and allogeneic transplantation of hematopoietic cells / P. Corradini, C. Voena, C. Tarella [et al.] // *J. Clin. Oncol*. – 1999. – Vol. 17, № 1. – P. 208-215.
67. Cowan, A.J. Global burden of multiple myeloma: a systematic analysis for the global burden of disease study 2016 / A.J. Cowan, C. Allen, A. Barac // *JAMA Oncol*. – 2018. – Vol. 4, № 9. – P. 1221-1227.
68. Dang, C.V. MYC on the path to cancer / C.V. Dang // *Cell*. – 2012. – Vol. 149, № 1. – P. 22-35.
69. Davies, F.E. Minimal residual disease monitoring in multiple myeloma / F.E. Davies, A.C. Rawstron, R.G. Owen, G.J. Morgan // *Best Pract. Res. Clin. Haematol*. – 2002. – Vol. 15, № 1. – P. 197-222.
70. Dazzi, F. The role of mesenchymal stem cells in haemopoiesis / F. Dazzi, R. Ramasamy, S. Glennie [et al.] // *Blood Rev*. – 2006. – Vol. 20, № 3. – P. 161-171.
71. Dejoie, T. Comparison of serum free light chain and urine electrophoresis for the detection of the light chain component of monoclonal immunoglobulins in light chain and intact immunoglobulin multiple myeloma / T. Dejoie, M. Attal, P. Moreau [et al.] // *Haematologica*. – 2016. – Vol. 101, № 3. – P. 356–362.
72. Dimopoulos, M.A. High serum lactate dehydrogenase level as a marker for drug resistance and short survival in multiple myeloma / M.A. Dimopoulos, B. Barlogie, T.L. Smith, R. Alexanian // *Ann. Intern. Med*. – 1991. – Vol. 115, № 12. – P. 931-935.
73. Dimopoulos, M.A. International Myeloma Working Group recommendations for the diagnosis and management of myeloma-related renal impairment / M.A. Dimopoulos, P. Sonneveld, N. Leung [et al.] // *J. Clin. Oncol*. – 2016. – Vol. 34, № 13. – P. 1544-1557.
74. Drach, J. Presence of a p53 gene deletion in patients with multiple myeloma predicts for short survival after conventional-dose chemotherapy / J. Drach, J. Ackermann, E. Fritz [et al.] // *Blood*. – 1998. – Vol. 92, № 3. – P. 802-809.

75. Durie, B.G. A clinical staging system for multiple myeloma: correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival / B.G. Durie, S.E. Salmon // *Cancer*. – 1975. – Vol. 36, № 3. – P. 842-854.
76. Durie, B.G. International uniform response criteria for multiple myeloma / B.G. Durie, J.L. Harousseau, J.S. Miguel [et al.] // *Leukemia*. – 2006. – Vol. 20, № 9. – P. 1467-1473.
77. Durie, B.G.M. Longer term follow-up of the randomized phase III trial SWOG S0777: bortezomib, lenalidomide and dexamethasone vs. lenalidomide and dexamethasone in patients (Pts) with previously untreated disease / B.G.M. Durie, A. Hoering, R. Sexton [et al.] // *Blood Cancer J.* – 2020. – Vol. 10, № 5. – P. 53.
78. Egan, P. The spectrum and clinical impact of epigenetic modifier mutations in myeloma / C. Pawlyn, M.F. Kaiser, C. Heuck [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2016. – Vol. 22, № 23. – P. 5783-5794.
79. Egan, P. Towards stratified medicine in plasma cell myeloma / P. Egan, S. Drain, C. Conway [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2016. – Vol. 17, № 10. – P. 1760.
80. Engelhardt, M. A concise revised Myeloma Comorbidity Index as a valid prognostic instrument in a large cohort of 801 multiple myeloma patients / M. Engelhardt, A.S. Domm, S.M. Dold [et al.] // *Haematologica*. – 2017. – Vol. 102, № 5. – P. 910-921.
81. Facon, T. Daratumumab, lenalidomide, and dexamethasone versus lenalidomide and dexamethasone alone in newly diagnosed multiple myeloma (MAIA): overall survival results from a randomised, open-label, phase 3 trial / T. Facon, S.K. Kumar, T. Plesner [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2021. – Vol. 22, № 11. – P. 1582-1596.
82. Facon, T. Final survival analysis of daratumumab plus lenalidomide and dexamethasone versus lenalidomide and dexamethasone in transplant-ineligible patients with newly diagnosed multiple myeloma: MAIA study / T. Facon, S.K. Kumar, R.Z. Orlowski [et al.] // *EHA 2024 Hybrid Congress. HemaSphere*. – 2024. – Vol. 8, № S1. – P. P968.
83. Flynt, E. Biology, and targeting of TP53 dysregulation in multiple myeloma / E. Flynt, K. Bisht, V. Sridharan [et al.] // *Cells*. – 2020. – Vol. 9, № 2. – P. 287.
84. Fraz, M.A. Special considerations for the treatment of multiple myeloma according to advanced age, comorbidities, frailty and organ dysfunction / M.A. Fraz, F.H. Warraich, S.U. Warraich [et al.] // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* – 2019. – Vol. 137. – P. 18-26.
85. Galieni, P. The detection of circulating plasma cells may improve the Revised International Staging System (R-ISS) risk stratification of patients with newly diagnosed multiple myeloma / P. Galieni, F. Travaglini, D. Vagnoni [et al.] // *Br. J. Haematol.* – 2021. – Vol. 193, № 3. – P. 542-550.

86. Gambella, M. Minimal residual disease by flow cytometry and allelic-specific oligonucleotide real-time quantitative polymerase chain reaction in patients with myeloma receiving lenalidomide maintenance: A pooled analysis / M. Gambella, P. Omede, S. Spada [et al.] // *Cancer*. – 2019. – Vol. 125, № 5. – P. 750-760.
87. Garcia-Gomez, A. Targeting aberrant DNA methylation in mesenchymal stromal cells as a treatment for myeloma bone disease / A. Garcia-Gomez, T. Li, C. de la Calle Fabregat [et al.] // *Nat. Commun.* – 2021. – Vol. 12, № 1. – P. 1-15.
88. Gay, F. Complete response correlates with long-term progression-free and overall survival in elderly myeloma treated with novel agents: analysis of 1175 patients / F. Gay, A. Larocca, P. Wijermans [et al.] // *Blood*. – 2011. – Vol. 117, № 11. – P. 3025-3031.
89. Gay, F. From transplant to novel cellular therapies in multiple myeloma: European Myeloma Network guidelines and future perspectives / F. Gay, M. Engelhardt, E. Terpos [et al.] // *Haematologica*. – 2018. – Vol. 103, № 2. – P. 197-211.
90. Gong, L. Novel insights into the initiation, evolution, and progression of multiple myeloma by multi-omics investigation / L. Gong, L. Qiu, M. Hao // *Cancers (Basel)*. – 2024. – Vol. 16, № 3. – P. 498.
91. Granell M., Prognostic impact of circulating plasma cells in patients with multiple myeloma: implications for plasma cell leukaemia definition / M. Granell, X. Calvo, A. Garcia-Guiñón [et al.] // *Haematologica*. – 2017. – Vol. 102, № 6. – P. 1099-1104.
92. Greenberger, L.M. Antibody response to SARS-CoV-2 vaccines in patients with hematologic malignancies / L.M. Greenberger, L.A. Saltzman, J.W. Senefeld [et al.] // *Cancer Cell*. – 2021. – Vol. 39, № 8. – P. 1031-1033.
93. Gregersen, H. The impact of comorbidity on mortality in multiple myeloma: a Danish nationwide population-based study / H. Gregersen, A. J. Vangsted, N. Abildgaard [et al.] // *Cancer Medicine*. – 2017. – Vol. 6, № 7. – P. 1807-1816.
94. Greipp, P.R. International Staging System for multiple myeloma / P.R. Greipp, J.F. San Miguel, B.G. Durie [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2005. – Vol. 23, № 15. – P. 3412-3420.
95. Gronthos, S. Surface protein characterization of human adipose tissue-derived stromal cells / S. Gronthos, D.M. Franklin, H.A. Leddy [et al.] // *Cell. Physiol.* – 2001. – Vol. 189. – P. 54-63.
96. Guzdar, A. Supportive care in multiple myeloma / A. Guzdar, C. Costello // *Curr. Hematol. Malig. Rep.* – 2020. – Vol. 15, № 2. – P. 56-61.
97. Hanamura, I. Gain/amplification of chromosome arm 1q21 in multiple myeloma / I. Hanamura // *Cancers*. – 2021. – Vol. 13, № 2. – P. 1-16.
98. Hanbali, A. The evolution of prognostic factors in multiple myeloma / A. Hanbali, M. Hassanein, W. Rasheed [et al.] // *Adv. Hematol.* – 2017. – Vol. 2017. – P. e4812637.

99. Hao, S. Clinical implications of cytogenetic heterogeneity in multiple myeloma patients with TP53 deletion / S. Hao, P. Lin, L.J. Medeiros [et al.] // *Mod. Pathol.* – 2017. – Vol. 30, № 10. – P. 1378-1386.
100. Harousseau, J.L. Bortezomib plus dexamethasone as induction treatment prior to autologous stem cell transplantation in patients with newly diagnosed multiple myeloma: results of an IFM phase II study / J.L. Harousseau, M. Attal, X. Leleu [et al.] // *Haematologica.* – 2006. – Vol. 91, № 11. – P. 1498-1505.
101. Hebraud, B. Role of additional chromosomal changes in the prognostic value of t(4;14) and del(17p) in multiple myeloma: the IFM experience / B. Hebraud, F. Magrangeas, A. Cleynen [et al.] // *Blood.* – 2015. – Vol. 125, № 13. – P. 2095–2100.
102. Howard, M. Biological properties of interleukin 10 / M. Howard, A. O’Garra, H. Ishida [et al.] // *J. Clin. Immunol.* – 1992. – Vol. 12, № 4. – P. 239-247.
103. Hu, Y. Progress in the identification of gene mutations involved in multiple myeloma / Y. Hu, E. Chen, J. Wang // *Onco Targets Ther.* – 2019. – Vol. 12. – P. 4075-4080.
104. Ito, S. Role and therapeutic targeting of SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 axis in multiple myeloma / S. Ito, T. Sato, T. Maeta // *Cancers (Basel).* – 2021. – Vol. 13, № 8. – P. 1793.
105. Jian, Y. Prognostic impact of cytogenetic abnormalities in multiple myeloma / Y. Jian, K. Chen, H. Zhou [et al.] // *Medicine (Baltimore).* – 2016. – Vol. 95, № 19. – P. e3521.
106. Karlsson, A. Genomically complex lymphomas undergo sustained tumor regression upon MYC inactivation unless they acquire novel chromosomal translocations / A. Karlsson, S. Giuriato, F. Tang [et al.] // *Blood.* – 2003. – Vol. 101, № 7. – P. 2797-803.
107. Kaufman, G.P. Impact of cytogenetic classification on outcomes following early high dose therapy in multiple myeloma / G.P. Kaufman, M.A. Gertz, A. Dispenzieri [et al.] // *Leukemia.* – 2016. – Vol. 30, № 3. – P. 633-639.
108. Kazandjian, D. Multiple myeloma epidemiology and survival: A unique malignancy / D. Kazandjian // *Semin. Oncol.* – 2016. – Vol. 43, № 6. – P. 676-681.
109. Keats, J.J. Clonal competition with alternating dominance in multiple myeloma / J.J. Keats, M. Chesi, J.B. Egan [et al.] // *Blood.* – 2012. – Vol. 120, № 5. – P. 1067-1076.
110. Keats, J.J. In multiple myeloma, t(4;14)(p16;q32) is an adverse prognostic factor irrespective of FGFR3 expression / J.J. Keats, T. Reiman, C.A. Maxwell [et al.] // *Blood.* – 2003. – Vol. 101, № 4. – P. 1520-1529.
111. Keats, J.J. Ten years and counting: so what do we know about t(4;14)(p16;q32) multiple myeloma / J.J. Keats, T. Reiman, A.R. Belch, L.M. Pilarski // *Leuk. Lymphoma.* – 2006. – Vol. 47, № 11. – P. 2289-2300.

112. Klein, B. Cytokine, cytokine receptors, transduction signals, and oncogenes in human multiple myeloma / B. Klein // *Semin. Hematol.* – 1995. – Vol. 32, № 1. – P. 4-19.
113. Kumar, S. Impact of lenalidomide therapy on stem cell mobilization and engraftment post-peripheral blood stem cell transplantation in patients with newly diagnosed myeloma / S. Kumar, A. Dispenzieri, M.Q. Lacy [et al.] // *Leukemia.* – 2007. – Vol. 21, № 9. – P. 2035-2042.
114. Kumar, S. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma / S. Kumar, B. Paiva, K.C. Anderson [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2016. – Vol. 17, № 8. – P. e328-e346.
115. Kumar, S.K. Management of newly diagnosed symptomatic multiple myeloma: Updated Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) consensus guidelines / S.K. Kumar, J.R. Mikhael, F.K. Buadi [et al.] // *Mayo Clinic Proc.* – 2009. – Vol. 84, № 12. – P. 1095-1110.
116. Kumar, S.K. The multiple myelomas – current concepts in cytogenetic classification and therapy / S.K. Kumar, S.V. Rajkumar // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* – 2018. – Vol. 15, № 7. – P. 409-421.
117. Kumar, S. Trisomies in multiple myeloma: impact on survival in patients with high-risk cytogenetics / S. Kumar, R. Fonseca, R.P. Ketterling [et al.] // *Blood.* – 2012. – Vol. 119 № 9. – P. 2100-2105.
118. Kuzyk, A. c-MYC-induced genomic instability / A. Kuzyk, S. Mai // *Cold Spring Harb. Per. Spect. Med.* – 2014. – Vol. 4, № 4. – P. a014373.
119. Langerak, A.W. EuroClonality/BIOMED-2 guidelines for interpretation and reporting of Ig/TCR clonality testing in suspected lymphoproliferations / A.W. Langerak, P.J. Groenen, M. Bruggemann [et al.] // *Leukemia.* – 2012. – Vol. 26, № 10. – P. 2159-71.
120. Lauta, V.M. Interleukin-6 and the network of several cytokines in multiple myeloma: An overview of clinical and experimental data / V.M. Lauta // *Cytokine.* – 2001. – Vol. 16, № 3. – P. 79-86.
121. Li, X. Role of decorin in the antimyeloma effects of osteoblasts / X. Li, A. Pennisi, S. Yaccoby // *Blood.* – 2008. – Vol. 112, № 1. –P. 159-168.
122. Liang, W. Cancer patients in SARS-CoV-2 infection: a nationwide analysis in China / W. Liang, W. Guan, R. Chen [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2020. – Vol. 21, № 3. – P. 335-337.
123. Lifetime Risk (Percent) of Being Diagnosed with Cancer by Site and Race/Ethnicity: Both Sexes, 18 SEER Areas, 2012-2014 (Table 1.15) // SEER Cancer Statistics Review 1975-2014. National Cancer Institute. – URL: [https://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2014/results\\_merged/topic\\_lifetime\\_risk.pdf](https://seer.cancer.gov/csr/1975_2014/results_merged/topic_lifetime_risk.pdf) (accessed 20.12.2025).
124. Lobry, C. Notch signaling: switching an oncogene to a tumor suppressor / C. Lobry, P. Oh, M.R. Mansour [et al.] // *Blood.* – 2014. – Vol. 123, № 16. – P. 2451-2459.

125. Lode, L. Mutations in TP53 are exclusively associated with del(17p) in multiple myeloma / L. Lode, M. Eveillard, V. Trichet [et al.]. *Haematologica*. – 2010. – Vol. 95, № 11. – P. 1973-1976.
126. Mahtouk, K. Growth factors in multiple myeloma: A comprehensive analysis of their expression in tumor cells and bone marrow environment using Affymetrix microarrays / K. Mahtouk, J. Moreaux, D. Hose [et al.] // *BMC Cancer*. – 2010. – Vol. 10. – P. 198.
127. Martin, S.K. Tumor angiogenesis is associated with plasma levels of stromal-derived factor-1alpha in patients with multiple myeloma / S.K. Martin, A.L. Dewar, A.N. Farrugia [et al.] // *Clin. Cancer Res*. – 2006. – Vol. 12, № 23. – P. 6973-6977.
128. Mateos, M.V. Bortezomib plus melphalan and prednisone compared with melphalan and prednisone in previously untreated multiple myeloma: updated follow-up and impact of subsequent therapy in the phase III VISTA trial / M.V. Mateos, P.G. Richardson, R. Schlag [et al.] // *J. Clin. Oncol*. – 2010. – Vol. 28, № 13. – P. 2259-2266.
129. Mateos, M.V. Daratumumab plus bortezomib, melphalan, and prednisone (D-VMP) versus bortezomib, melphalan, and prednisone (VMP) alone in transplant-ineligible patients with newly diagnosed multiple myeloma (NDMM): updated analysis of the phase 3 Alcyone study / M.V. Mateos, J. San-Miguel, M. Cavo [et al.] // *Blood*. – 2022. – Vol. 140, Suppl. 1. – P. 10157-10159.
130. Maura, F. Genomic landscape and chronological reconstruction of driver events in multiple myeloma / F. Maura, N. Bolli, N. Angelopoulos [et al.] // *Nat. Commun*. – 2019. – Vol. 10, № 1. – P. 1-12.
131. McGowan-Jordan, J. *ISCN 2020 – An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2020)* / J. McGowan-Jordan, R.J. Hastings, S. Moore. – Basel: Karger, 2020. – 170 p.
132. Medinger, M. Role of tumour angiogenesis in haematological malignancies / M. Medinger, J. Passweg // *Swiss Med Wkly*. – 2014. – Vol. 144. – P. w14050.
133. Mian, H. Caring for older adults with multiple myeloma during the COVID-19 pandemic: Perspective from the International forum for optimizing care of older adults with myeloma / H. Mian, Sh.J. Grant, M. Engelhardt [et al.] // *J. Geriatr. Oncol*. – 2020. – Vol. 11, № 5. – P. 764-768.
134. Mikhael, J.R. Management of newly diagnosed symptomatic multiple myeloma: Updated Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) consensus guidelines 2013 / J.R. Mikhael, D. Dingli, V. Roy [et al.] // *Mayo Clin. Proc*. – 2013. – Vol. 88, № 4. – P. 360-376.

135. Minguela, A. Predictive value of 1q21 gain in multiple myeloma is strongly dependent on concurrent cytogenetic abnormalities and first-line treatment / A. Minguela, M.A. Vasco-Mogorron, J.A. Campillo [et al.] // *Am. J. Cancer Res.* – 2021. – Vol. 11, № 9. – P. 4438.
136. Mollee, P. Daratumumab, cyclophosphamide, bortezomib, and dexamethasone for transplant-ineligible myeloma: AMaRC 03-16 / P. Mollee, J. Reynolds, W. Janowski [et al.] // *Blood Adv.* – 2024. – Vol. 8, № 14. – P. 3721-3730.
137. Møller, H.E. Clinicopathological features of plasmablastic multiple myeloma: a population based cohort / H.E. Møller, B.S. Preiss, P. Pedersen [et al.] // *APMN.* – 2015. – Vol. 123, № 8. – P. 652-658.
138. Morawska, M. Mutations of ARID1B, PIK3C2B, KMT2B, and FAT1 genes influence clinical outcome in newly diagnosed myeloma / M. Morawska, M. Kielbus, M. Paziewska [et al.] // *Cancer Genet.* – 2024. – Vol. 118, № 125. – P. 288-289.
139. Morris, E.V. Myeloma cells down-regulate adiponectin in bone marrow adipocytes via TNF-alpha / E.V. Morris, K.J. Suchacki, J. Hocking [et al.] // *J. Bone Miner Res.* – 2020. – Vol. 35, № 5. – P. 942-955.
140. Mulligan, G. Mutation of NRAS but not KRAS significantly reduces myeloma sensitivity to single-agent bortezomib therapy / G. Mulligan, D.I. Lichter, A. Di Bacco [et al.] // *Blood.* – 2014. – Vol. 123. – P. 632-639.
141. Multiple Myeloma. NCCN Guidelines Version 1.2025. – URL: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/myeloma.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/myeloma.pdf) (accessed 13.02.2025).
142. Munshi, N.C. Association of minimal residual disease with superior survival outcomes in patients with multiple myeloma: a meta-analysis / N.C. Munshi, H. Avet-Loiseau, A.C. Rawstron [et al.] // *JAMA Oncol.* – 2017. – Vol. 3, № 1. – P. 28-35.
143. Nakamura, Y. Expression profiles and functional analyses of Wnt-related genes in human joint disorders / Y. Nakamura, M. Nawata, S. Wakitani // *Am. J. Pathol.* – 2005. – Vol. 167, № 1. – P. 97-105.
144. Ojo, A.S. Early intervention with a curative intent through an intensive therapy versus immunologic disease control using a minimal intensity approach in the management of high-risk smoldering multiple myeloma: a systematic review of evidence from clinical trials / A.S. Ojo, O. Akinyemi, M.O. Araoye, A. Ali // *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* – 2023. – Vol. 23, № 1. – P. e27-e40.
145. Olechnowicz, S.W.Z. Multiple myeloma increases nerve growth factor and other pain-related markers through interactions with the bone microenvironment / S.W.Z. Olechnowicz, M.M. Weivoda, S.T. Lwin [et al.] // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 14189.

146. Oliva, S. A longitudinal analysis of chromosomal abnormalities in disease progression from MGUS/SMM to newly diagnosed and relapsed multiple myeloma / S. Oliva, L. De Paoli, M. Ruggeri [et al.] // *Ann. Hematol.* – 2021. – Vol. 100, № 2. – P. 437-443.
147. O’Neill, A.C. Hallmarks of cancer in the reading room: a guide for radiologists / A.C. O’Neill, F. Alessandrino, S.H. Tirumani, N.H. Ramaiya // *Am. J. Roentgenology.* – 2018. – Vol. 211, № 3. – P. 470-484.
148. Paiva, B. High-risk cytogenetics and persistent minimal residual disease by multiparameter flow cytometry predict unsustained complete response after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma / B. Paiva, N.C. Gutierrez, L. Rosinol [et al.] // *Blood.* – 2012. – Vol. 119, № 3. – P. 687-691.
149. Paiva, B. PD-L1/PD-1 presence in the tumor microenvironment and activity of PD-1 blockade in multiple myeloma / B. Paiva, A. Azpilikueta, N. Puig [et al.] // *Leukemia.* – 2015. – Vol. 29, № 10. – P. 2110-2113.
150. Palumbo, A. International Myeloma Working Group consensus statement for the management, treatment, and supportive care of patients with myeloma not eligible for standard autologous stem-cell transplantation / A. Palumbo, S.V. Rajkumar, J.F. San Miguel [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2014. – Vol. 32, № 6. – P. 587-600.
151. Palumbo, A. Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group / A. Palumbo, H. Avet-Loiseau, S. Oliva [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2015. – Vol. 33, № 26. – P. 2863-2869.
152. Papadaki, H. Serum levels of soluble IL-6 receptor in multiple myeloma as indicator of disease activity / H. Papadaki, D. Kyriakou, A. Foudoulakis [et al.] // *Acta Haematol.* – 1997. – Vol. 97, № 4. – P. 191-195.
153. Pasquini, M.C. Minimal residual disease status in multiple myeloma 1 year after autologous hematopoietic cell transplantation and lenalidomide maintenance are associated with long-term overall survival / M.C. Pasquini, P.K. Wallace, B. Logan [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2024. – Vol. 42, № 23. – P. 2757-2768.
154. Pawlyn, C. Evolutionary biology of high-risk multiple myeloma / C. Pawlyn, G.J. Morgan // *Nat. Rev. Cancer.* – 2017. – Vol. 17, № 9. – P. 543-556.
155. Pawlyn, C. The relative importance of factors predicting outcome for myeloma patients at different ages: results from 3894 patients in the Myeloma XI trial / C. Pawlyn, D. Cairns, M. Kaiser [et al.] // *Leukemia.* – 2020. – Vol. 34, № 2. – P. 604-612.
156. Plummer, C. Management of cardiovascular risk in patients with multiple myeloma / C. Plummer, C. Driessen, Z. Szabo, M.V. Mateos // *Blood Cancer Journal.* – 2019. – Vol. 9, № 3. – P. 9-26.

157. Popat, R. Long-term follow-up from the phase 1/2 MajesTEC-1 trial of teclistamab in patients with relapsed/refractory multiple myeloma / R. Popat, A. Nooka, N. van de Donk [et al.] // *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* – 2024. – Vol. 24, Suppl. 2. – P. S80.
158. Pratt, G. Immunodeficiency and immunotherapy in multiple myeloma / G. Pratt, O. Goodyear, P. Moss // *Br. J. Haematol.* – 2007. – Vol. 138, № 5. – P. 563-579.
159. Raab, M.S. Spatially divergent clonal evolution in multiple myeloma: overcoming resistance to BRAF inhibition / M.S. Raab, N. Lehners, J. Xu [et al.] // *Blood.* – 2016. – Vol. 127, № 17. – P. 2155-2157.
160. Ragbourne, S.C. The association between metabolic syndrome and multiple myeloma / S.C. Ragbourne, N. Maghsoodi, M. Streetly [et al.] // *Acta Haematol.* – 2021. – Vol. 144, № 1. – P. 24-33.
161. Raimondo, S. Multiple myeloma-derived exosomes are enriched of amphiregulin (AREG) and activate the epidermal growth factor pathway in the bone microenvironment leading to osteoclastogenesis / S. Raimondo, L. Saieva, E. Vicario [et al.] // *J. Hematol. Oncol.* – 2019. – Vol. 12, № 1. – P. 2.
162. Rajkumar, S.V. Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1 / S.V. Rajkumar, J. L. Harousseau, B. Durie [et al.] // *Blood.* – 2011. – Vol. 117, № 18. – P. 4691-4695.
163. Rajkumar, S.V. Diagnosis of smoldering multiple myeloma / S.V. Rajkumar, D. Larson, R.A. Kyle // *N. Engl. J. Med.* – 2011. – Vol. 365, № 5. – P. 474-475.
164. Rajkumar, S.V. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma / S.V. Rajkumar, M.A. Dimopoulos, A. Palumbo [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2014. – Vol. 15, № 12. – P. 538-548.
165. Rajkumar, S.V. Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk stratification and management / S.V. Rajkumar // *Am. J. Hematol.* – 2020. – Vol. 95, № 5. – P. 548-567.
166. Rajkumar, S.V. Multiple myeloma: 2024 update on diagnosis, risk-stratification and management / S.V. Rajkumar // *Am. J. Hematol.* – 2024. – Vol. 99, № 9. – P. 1802-1824.
167. Rangel-Pozzo, A. Telomere architecture correlates with aggressiveness in multiple myeloma / A. Rangel-Pozzo, P.L.I. Yu, S. Lal [et al.] // *Cancers.* – 2021. – Vol. 13, № 8. – P. 1969.
168. Rapanotti, M.C. Molecular expression of bone marrow angiogenic factors, cell-cell adhesion molecules and matrix metalloproteinases in plasmacellular disorders: a molecular panel to investigate disease progression / M.C. Rapanotti, L. Franceschini, T.M.S. Viguria [et al.] // *Mediterr J. Hematol Infect. Dis.* – 2018. – Vol. 10, № 1. – P. e2018059.

169. Rasillo, A. Fluorescence in situ hybridization analysis of aneuploidization patterns in monoclonal gammopathy of undetermined significance versus multiple myeloma and plasma cell leukemia / A. Rasillo, M.D. Taberero, M.L. Sanchez [et al.] // *Cancer*. – 2003. – Vol. 97, № 3. – P. 601-609.
170. Ratta, M. Dendritic cells are functionally defective in multiple myeloma: The role of interleukin-6 / M. Ratta, F. Fagnoni, A. Curti [et al.] // *Blood*. – 2002. – Vol. 100, № 1. – P. 230-237.
171. Rauch, N. MAPK kinase signalling dynamics regulate cell fate decisions and drug resistance / N. Rauch, O. S. Rukhlenko, W. Kolch, B.N. Kholodenko // *Curr. Opin. Struct. Biol.* – 2016. – Vol. 41. – P. 151-158.
172. Ravi, G. Current diagnosis, risk stratification and treatment paradigms in newly diagnosed multiple myeloma / G. Ravi, W.I. Gonsalves // *Cancer Treat. Res. Commun.* – 2021. – Vol. 29. – P. 100444.
173. Reeder, C.B. Cyclophosphamide, bortezomib and dexamethasone induction for newly diagnosed multiple myeloma: High response rates in a phase II clinical trial / C.B. Reeder, D.E. Reece, V. Kukreti [et al.] // *Leukemia*. – 2009. – Vol. 23, № 7. – P. 1337-1341.
174. Roodman, G.D. Osteoblast function in myeloma / G.D. Roodman // *Bone*. – 2011. – Vol. 48, № 1. – P. 135-140.
175. Roosma, J. A comprehensive review of oncogenic Notch signaling in multiple myeloma / J. Roosma // *PeerJ*. – 2024. – Vol. 12. – P. e18485.
176. Saitoh, T. DNA damage response in multiple myeloma: the role of the tumor microenvironment / T. Saitoh, T. Oda // *Cancers (Basel)*. – 2021. – Vol. 13, № 3. – P. 504.
177. Salmanton-García, J. Respiratory viruses in patients with hematological malignancy in boreal autumn/winter 2023-2024 / J. Salmanton-García, F. Marchesi, M. Navrátil [et al.] // *Am. J. Hematol.* – 2025 – Vol. 100, № 3. – P. 358-374.
178. San-Miguel, J. Ciltacel or standard care in lenalidomide-refractory multiple myeloma / J. San-Miguel, B. Dhakal, K. Yong [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2023. – Vol. 389, № 4. – P. 335-347.
179. Sarasquete, M.E. Minimal residual disease monitoring in multiple myeloma: a comparison between allelic-specific oligonucleotide real-time quantitative polymerase chain reaction and flow cytometry / M.E. Sarasquete, R. Garcia-Sanz, D. Gonzalez [et al.] // *Haematologica*. – 2005. – Vol. 90, № 10. – P. 1365-1372.
180. Saxe, D. Recent advances in cytogenetic characterization of multiple myeloma / D. Saxe, E.-J. Seo, M.B. Bergeron [et al.] // *Int. J. Lab. Hematol.* – 2019. – Vol. 41, № 1. – P. 5-14.
181. Schmidt, T.M. Gain of chromosome 1q is associated with early progression in multiple myeloma patients treated with lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone / T.M. Schmidt, B.G. Barwick, N. Joseph [et al.] // *Blood Cancer J.* – 2019. – Vol. 9, № 12. – P. 94.

182. Schürch, C.M. A review on tumor heterogeneity and evolution in multiple myeloma: pathological, radiological, molecular genetics, and clinical integration / C.M. Schürch, L. Rasche, L. Frauenfeld [et al.] // *Virchows Arch.* – 2019. – Vol. 476, № 3. – P. 337-351.
183. Scott, E.C. Post-transplant outcomes in high-risk compared with non-high-risk multiple myeloma: a CIBMTR analysis / E.C. Scott, P. Hari, M. Sharma [et al.] // *Biol. Blood Marrow Transplant.* – 2016. – Vol. 22, № 10. – P. 1893-1899.
184. Seifert, M. Origin and pathogenesis of B cell lymphomas / M. Seifert, R. Scholtysik, R. Küppers // *Methods Mol. Biol.* – 2013. – Vol. 971. – P. 1-25.
185. Sezer, O. RANK ligand and osteoprotegerin in myeloma bone disease / O. Sezer, U. Heider, I. Zavrski [et al.] // *Blood.* – 2003. – Vol. 101, № 6. – P. 2094-2098.
186. Singh, C. Presentation and impact of double and triple hit cytogenetics in patients with multiple myeloma in the real world / C. Singh, V. Panakkal, S. Sreedharanunni // *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* – 2022. – Vol. 22, № 8. – P. e685-e690.
187. Slomp, A. Role and regulation of pro-survival BCL-2 proteins in multiple myeloma / A. Slomp, V. Peperzak // *Front. Oncol.* – 2018. – Vol. 8. – P. 533.
188. Sood, R. Retreatment with bortezomib alone or in combination for patients with multiple myeloma following an initial response to bortezomib / R. Sood, H. Carloss, R. Kerr [et al.] // *Am. J. Hematol.* – 2009. – Vol. 84, № 10. – P. 657-660.
189. Sonneveld, P. Daratumumab, bortezomib, lenalidomide, and dexamethasone for multiple myeloma / P. Sonneveld, M.A. Dimopoulos, M. Boccadoro [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2024. – Vol. 390, № 4. – P. 301-313.
190. Sonneveld, P. Treatment of multiple myeloma with high-risk cytogenetics: a consensus of the International Myeloma Working Group / P. Sonneveld, H. Avet-Loiseau, S. Lonial [et al.] // *Blood.* – 2016. – Vol. 127, № 24. – P. 2955-2962.
191. Souza, L.M. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: Effects on normal and leukemic myeloid cells / L.M. Souza, T.C. Boone, J. Gabilove [et al.] // *Science.* – 1986. – Vol. 232, № 4746. – P. 61-65.
192. Stasi, R. The prognostic value of soluble interleukin-6 receptor in patients with multiple myeloma / R. Stasi, M. Brunetti, A. Parma [et al.] // *Cancer.* – 1998. – Vol. 82, № 10. – P. 1860-1866.
193. Terpos, E. Controversies in the use of new bone-modifying therapies in multiple myeloma / E. Terpos, I. Ntanasis-Stathopoulos // *Br. J. Haematol.* – 2021. – Vol. 193, № 6. – P. 1034-1043.
194. Terpos, E. Effect of induction therapy with lenalidomide, doxorubicin and dexamethasone on bone remodeling and angiogenesis in newly diagnosed multiple myeloma / E. Terpos, E. Katodritou, A. Symeonidis [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2019. – Vol. 145, № 2. – P. 559-568.

195. Terpos, E. High serum lactate dehydrogenase adds prognostic value to the international myeloma staging system even in the era of novel agents / E. Terpos, E. Katodritou, M. Roussou [et al.] // *Eur. J. Haematol.* – 2010. – Vol. 85, № 2. – P. 114-119.
196. Terpos, E. Myeloma bone disease: From biology findings to treatment approaches / E. Terpos, I. Ntanasis-Stathopoulos, M.A. Dimopoulos // *Blood.* – 2019. – Vol. 133, № 14. – P. 1534-1539.
197. Terpos, E. Pathogenesis of bone disease in multiple myeloma: From bench to bedside / E. Terpos, I. Ntanasis-Stathopoulos, M. Gavriatopoulou, M.A. Dimopoulos // *Blood Cancer J.* – 2018. – Vol. 8, № 1. – P. 7.
198. Thordardottir, M. Obesity and risk of monoclonal gammopathy of undetermined significance and progression to multiple myeloma: a population-based study / M. Thordardottir, E.K. Lindqvist, S.H. Lund [et al.] // *Blood Adv.* – 2017. – Vol. 1, № 24. – P. 2186-2192.
199. Treon, S.P. MYD88 L265P somatic mutation in Waldenstrom's macroglobulinemia / S.P. Treon, L. Xu, G. Yang [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2012. – Vol. 367, № 9. – P. 826-833.
200. Usmani, S.Z. Daratumumab plus bortezomib, lenalidomide and dexamethasone for transplant-ineligible or transplant-deferred newly diagnosed multiple myeloma: the randomized phase 3 CEPHEUS trial / S.Z. Usmani, T. Facon, V. Hungria [et al.] // *Nat. Med.* – 2025. – Vol. 31, № 4. – P. 1195-1202. Erratum in: *Nat. Med.* – 2025. – Vol. 31, № 4. – P. 1366.
201. Vacca, A. Bone marrow neovascularization, plasma cell angiogenic potential, and matrix metalloproteinase-2 secretion parallel progression of human multiple myeloma / A. Vacca, D. Ribatti, M. Presta [et al.] // *Blood.* – 1999. – Vol. 93, № 9. – P. 3064-3073.
202. Vaxman, I. The efficacy and safety of chemotherapy-based stem cell mobilization in multiple myeloma patients who are poor responders to induction: the Mayo clinic experience / I. Vaxman, E. Muchtar, E. Jacob [et al.] // *Transplant. Cell. Ther.* 2021. – Vol. 27, № 9. – P. 770.e1-770.e7.
203. Walker, B.A. A compendium of myeloma-associated chromosomal copy number abnormalities and their prognostic value / B.A. Walker, P.E. Leone, L. Chiecchio [et al.] // *Blood.* – 2010. – Vol. 116, № 15. – P. e56-65.
204. Walker, B.A. A high-risk, double-hit, group of newly diagnosed myeloma identified by genomic analysis / B.A. Walker, K. Mavrommatis, C.P. Wardell [et al.] // *Leukemia.* – 2019. – Vol. 33, № 1. – P. 159-170.
205. Walker, B.A. Identification of novel mutational drivers reveals oncogene dependencies in multiple myeloma / B.A. Walker, K. Mavrommatis, C.P. Wardell [et al.] // *Blood.* – 2018. – Vol. 132, № 6. – P. 587-597.
206. Walker, B.A. Mutational spectrum, copy number changes, and outcome: results of a sequencing study of patients with newly diagnosed myeloma / B.A. Walker, E.M. Boyle, C.P. Wardell [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2015. – Vol. 33, № 33. – P. 3911-3920.

207. Wallington-Beddoe, C.T. Prognostic and predictive biomarker developments in multiple myeloma / C.T. Wallington-Beddoe, R.L. Mynott // *J HematolOncol.* – 2021. – Vol. 14, № 1. – P. 1-15.
208. Wang, H. High level of interleukin-10 in serum predicts poor prognosis in multiple myeloma / H. Wang, L. Wang, P.D. Chi [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2016. – Vol. 114, № 4. – P. 463-468.
209. Weinhold, N. Chromosome 1q21 abnormalities refine outcome prediction in patients with multiple myeloma – a meta-analysis of 2,596 trial patients / N. Weinhold, H.J. Salwender, D.A. Cairns [et al.] // *Haematologica.* – 2021. – Vol. 106, № 10. – P. 2754-2758.
210. Willenbacher, W. Towards molecular profiling in multiple myeloma: a literature review and early indications of its efficacy for informing treatment strategies / W. Willenbacher, A. Seeber, N. Steiner [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol. 19, № 7. – P. 2087.
211. Wong, A.H.-H. Targeting NF-KB signaling for multiple myeloma / A.H. - H. Wong, E.M. Shin, V. Tergaonkar [et al.] // *Cancers.* – 2020. – Vol. 12. – P. 2203.
212. Yan, B. IL-6 cooperates with G-CSF to induce protumor function of neutrophils in bone marrow by enhancing STAT3 activation / B. Yan, J.J. Wei, Y. Yuan [et al.] // *J. Immunol.* – 2013. – Vol. 190, № 11. – P. 5882-5893.
213. Ying, L. Lenalidomide and the risk of serious infection in patients with multiple myeloma: a systematic №4 (28) 2022 125 review and meta-analysis / L. Ying, T. YinHui, Z. Yunliang, H. Sun // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, № 28. – P. 46593-46600.
214. Zhang, J. The role of cystatin C in multiple myeloma / J. Zhang, Y. Jiang, D. Guo [et al.] // *Int. J. Lab. Hematol.* – 2022. – Vol. 44, № 1. – P. 135-141.
215. Zhang, L. Population-based meta-analysis of bortezomib exposure-response relationships in multiple myeloma patients / L. Zhang, D.E. Mager // *J. Pharmacokinet. Pharmacodyn.* – 2020. – Vol. 47, № 1. – P. 77-90.
216. Zavidij, O. Single-cell RNA sequencing reveals compromised immune microenvironment in precursor stages of multiple myeloma / O. Zavidij, N.J. Haradhvala, T.H. Mouhieddine [et al.] // *Nat. Cancer.* – 2020. – Vol. 1, № 5. – P. 493-506.
217. Ziganshin, A.M. Mechanisms of immunopathology of sepsis of viral etiology in COVID-19 / A.M. Ziganshin, A.R. Mulyukov // *Siberian Medical Review.* – 2021. – № 6. – P. 35-43.