

На правах рукописи

КОРОЛЕВА ДАРЬЯ АЛЕКСАНДРОВНА

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА И
ТЕРАПИЯ ПРОГНОСТИЧЕСКИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ
ФОРМ ЛИМФОМЫ ИЗ КЛЕТОК МАНТИИ**

14.01.21 – гематология и переливание крови

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2021

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении
«Национальный медицинский исследовательский центр гематологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, Звонков Евгений Евгеньевич
доктор биологических наук, Судариков Андрей Борисович

Официальные оппоненты:

Семочкин Сергей Вячеславович - доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета федерального государственного бюджетного учреждения высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Мартынкевич Ирина Степановна – доктор биологических наук, руководитель лаборатории молекулярной генетики федерального государственного бюджетного учреждения «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии федерального медико-биологического агентства»

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится « » _____ 2021 года в _____ часов
на заседании диссертационного совета Д 208.135.01 при федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте www.blood.ru

Автореферат разослан « » _____ 2021 года

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук

Сысоева Е.П.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Несмотря на колоссальный прогресс в изучении опухолевой биологии лимфомы из клеток мантии (ЛКМ), в клинической практике до сих пор остается много нерешенных диагностических и терапевтических задач (Tang C., 2019). Существующие прогностические индексы (MIP1, MIP1_b, MIP1_c и т.д.), разработанные на основе клинических и морфологических признаков, не дают возможность построить точный прогноз ЛКМ и индивидуализировать терапию (Hoster E., 2008, Geisler C.H., 2010). Такие факторы как интенсивность терапевтического воздействия, скорость и глубина достижения молекулярной ремиссии, молекулярно-генетические особенности опухоли (мутации в генах *TP53*, *NOTCH2*, *MLL2* и др.) обычно не учитываются в разработке новых протоколов лечения и не подвергаются анализу в отечественных и в большинстве зарубежных работ, посвященных диагностике и лечению ЛКМ.

Множество схем и программ лечения, а также гетерогенный терапевтический ответ ЛКМ также затрудняет анализ. По результатам недавно опубликованных работ была продемонстрирована высокая чувствительность ЛКМ к бендамустину, особенно в сочетании с цитарабином и моноклональными анти-CD20 антителами, однако требуется самостоятельная оценка этой терапии, особенно в сочетании с высокодозной консолидацией (Visco C., 2013, Merryman R.W., 2018).

Перспективным направлением является применение ингибиторов сигнальных путей опухолевых В-лимфоцитов ЛКМ (тирозинкиназы Брутона - ВТК и белка BCL-2), которые уже показали свою эффективность при резистентных и рецидивных (P/P) формах ЛКМ (Rule S., 2018, Wang M.L., 2015, Tam C.S., 2018, Jerkeman M., 2018, Davids M.S., 2017, Eyre T.A., 2019). Данные о применении этих препаратов в первой линии терапии ЛКМ ограничены и также требуют самостоятельной оценки (Tam C.S., 2018, Wang M.L., 2020).

Описанные еще в начале 1990-х годов успешные попытки применения трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) показали высокую эффективность реакции трансплантата против опухоли (РТПО) у больных ЛКМ, и почти в 40-70% случаев приводили к полному излечению, что невозможно при применении любых, существующих сегодня протоколов химиотерапии (ХТ) (Kröger N., 2000, Krüger W.H.,

2014). Однако эта тактика также недостаточно освещена в литературе и требует проведения собственных исследований (Rule S., 2019, Lin R.J., 2019, Lachance S., 2009).

Перспективной альтернативой алло-ТГСК можно считать активно развивающийся в последнее время новый метод клеточной терапии – Т-лимфоциты с химерным антигенным рецептором (CAR-T терапия) (Brudno J.N., 2018).

Актуальным остается также вопрос оценки минимальной остаточной болезни (МОБ) у больных ЛКМ после проведения терапии. Оценить прогностическое значение времени достижения ремиссии и МОБ-негативности доступными сочетанными методами (клинический ответ на терапию, позитронно-эмиссионная томография, совмещенная с компьютерной томографией (ПЭТ/КТ), контрольная биопсия вовлеченных зон, В-клеточная клональность, кариологическое исследование, многоцветная проточная цитофлуориметрия (МПЦ) также кажется интересной задачей.

С учетом накопленного опыта рационально селективировать наиболее прогностически значимые диагностические критерии и максимально эффективные из существующих программ ХТ, таргетной и клеточной терапии. Адаптация этих видов терапии к биологическим особенностям опухоли с акцентом на раннее выявление неблагоприятной группы, должна быть необходимым условием при создании нового протокола обследования и лечения больных ЛКМ. Поэтому концентрация больных ЛКМ в условиях крупного исследовательского центра с расширенными диагностическими возможностями, а также разработка оптимального протокола диагностики и лечения с последующим внедрением в «реальную» клиническую практику, являлась основной стратегической целью данной работы.

Цель исследования

На основании молекулярно-генетических исследований субстрата опухоли и ответа на терапию, в рамках протокола «ЛКМ-2016», выявить группы больных ЛКМ стандартного и высокого риска и оценить возможности проведения у них ХТ, таргетной и клеточной терапии.

Задачи исследования

1. Разработать, оценить эффективность и безопасность и внедрить в практику новый протокол обследования и лечения больных ЛКМ («ЛКМ-2016»), основанный на молекулярно-генетических характеристиках опухоли и подборе наиболее рациональных схем и методов ХТ, таргетной и клеточной терапии.
2. Провести исследование опухолевых образцов всех больных, включенных в протокол «ЛКМ-2016», на наличие мутаций в гене *TP53*. «Слепым методом» сравнить корреляционную специфичность и чувствительность детекции *TP53*+ опухолевого клона при иммуногистохимическом исследовании и по данным молекулярно-генетических методов.
3. Дать подробную сравнительную клиническую, морфологическую и молекулярно-генетическую характеристику групп больных ЛКМ с мутациями в гене *TP53* и без них.
4. Оценить эффективность (общий ответ, частота полных ремиссий, МОБ-негативность, бессобытийная и общая выживаемость) и токсичность терапии по протоколу «ЛКМ-2016» в общей группе больных ЛКМ, а также отдельно у больных с мутациями в гене *TP53* и без них.
5. Охарактеризовать возможности проведения и эффективность алло-ТГСК у больных ЛКМ с мутациями в гене *TP53* в первой линии терапии и у Р/Р больных ЛКМ без мутаций в гене *TP53* после проведения ХТ.
6. Проанализировать первичные данные результатов таргетного секвенирования у больных ЛКМ.

Научная новизна

Разработан и внедрен в практику новый протокол диагностики и лечения «ЛКМ-2016», основанный на выделении прогностически неблагоприятной группы больных ЛКМ с учетом молекулярно-генетических характеристик опухоли.

В рамках протокола «ЛКМ-2016» дана полная клиническая, морфологическая и молекулярно-генетическая характеристика 40 больных ЛКМ (в 9 случаях выполнено таргетное секвенирование), с сохранением биоптатов опухоли для дальнейших исследований.

Показано, что сокращение индукционной ХТ до 4-х курсов (ротация циклов RBAC и RHA) с последующей высокодозной консолидацией (в рамках протокола «ЛКМ-2016») позволяет достичь высокой эффективности (с контролем МОБ) и приемлемой токсичности у больных стандартного риска ЛКМ, вне зависимости от уже существующих клинико-морфологических прогностических индексов.

Показана рациональность и эффективность применения алло-ТГСК в прогностически неблагоприятной группе больных ЛКМ в первой линии терапии и на ранних этапах проведения ХТ.

Показаны перспективные возможности секвенирования нового поколения в детекции прогностически неблагоприятной группы больных ЛКМ.

Практическая значимость

Внедрение молекулярно-генетических критериев неблагоприятного прогноза в клиническую практику позволяет уже на ранних этапах лечения выделить группу больных ЛКМ, которым проведение даже высокодозной ХТ не только не рационально, но и в части случаев приводит к «парадоксальной» прогрессии опухоли.

Положения, выносимые на защиту

1. Все диагностические мероприятия у больного ЛКМ должны сводиться сначала к выявлению клинико-лабораторных и инструментальных, затем молекулярно-генетических маркеров неблагоприятного прогноза.
2. Выделенная группа высокого молекулярно-генетического риска ЛКМ, а также Р/Р больные требуют разработки принципиально других терапевтических подходов. Использование ДНК-нетоксичной терапии, а в дальнейшем проведение алло-ТГСК (или других видов клеточной терапии), интегрированных в первые линии лечения – реальная и оправданная перспектива у таких больных.
3. В группе стандартного риска – коротко-импульсная терапия (4 курса ХТ) в рамках протокола «ЛКМ-2016» (первичная интенсификация с включением бендамустина и высоких доз цитарабина, а также высокодозная консолидация и поддерживающая

анти-CD20 терапия) эффективна и приемлемо токсична у больных в возрасте до 70 лет без тяжелой коморбидности по шкале CIRS.

4. Иммуногистохимическое исследование позволяет эффективно провести скрининг больных ЛКМ с предполагаемыми мутациями в гене *TP53*, для дальнейшего молекулярно-генетического подтверждения.
5. Расширение списка неблагоприятных генетических маркеров, с помощью таргетного секвенирования нового поколения - перспективный метод для разработки новых терапевтических программ и протоколов лечения ЛКМ.

Внедрение результатов исследования

Результаты работы Королевой Д.А. внедрены в клиническую практику в работе Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Ярославской области «Областная клиническая больница», в центральной клинической больнице «РЖД-Медицина», в Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Ярославской области «Рыбинская городская больница №1», в Коломенской центральной районной больнице в виде протокола терапии больных лимфомой из клеток мантии «ЛКМ-2016». Протокол «ЛКМ-2016», разработанный в результате проведенного научного исследования использован при написании «Алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови» под редакцией академика РАН В.Г. Савченко, 2018 года.

Апробация

Достоверность и обоснованность выводов, полученных в результате проведенного исследования, подтверждается изучением достаточно большого объема научной отечественной и зарубежной литературы, а также оперированием собственными данными и обработкой их классическими методами описательного, частотного, ковариационного и событийного анализа в процедуре пакета статистических программ SAS 9.4.

Полученные результаты представлены на ведущих отечественных и зарубежных конгрессах в виде устных и стендовых докладов: 1. 4th Annual International Conference on New Concepts in Lymphoid Malignancies: Focus on Aggressive Lymphoma, 2018 г. 2. 5th Annual international conference «New concepts in lymphoid malignancies», 2019 г. 3. ЕНА, 2020 г. 4.

Научно-практическая конференция «Лейкозы и Лимфомы. Терапия и фундаментальные исследования», 2021 г.

Апробация диссертационной работы проведена на заседании проблемной комиссии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» МЗ РФ, «Фундаментальные и клинические исследования в гематологии, проблемы клинической и производственной трансфузиологии», протокол №12 от 23 ноября 2020 года.

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 2 статьи в рецензируемых научных журналах.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 199 страницах медицинского текста и состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, главы собственных результатов, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, приложения и списка литературы, включающего 181 источник. Работа иллюстрирована 23 таблицами и 8 рисунками.

Личный вклад автора. На всех этапах работы автор принимал непосредственное участие в планировании, выполнении молекулярно-генетических и иммуногистохимических исследований, выполнении и проведении анализа и интерпретации результатов, представленных в сформулированных выводах.

Работа осуществлялась в период с 2017 по 2020 гг. на базе отделения интенсивной высокодозной химиотерапии лимфом с круглосуточным и дневным стационарами (заведующий отделением д.м.н. Е.Е. Звонков) и лаборатории молекулярной гематологии (заведующий лабораторией д.б.н. А.Б. Судариков), при сотрудничестве с другими клиническими подразделениями и лабораториями ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ (генеральный директор – академик РАН, профессор, д.м.н. В.Г. Савченко), также при сотрудничестве с лабораторией геномики эукариот Курчатовского геномного центра НИЦ «Курчатовский институт» (руководитель лаборатории к.б.н. С.В. Цыганкова).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

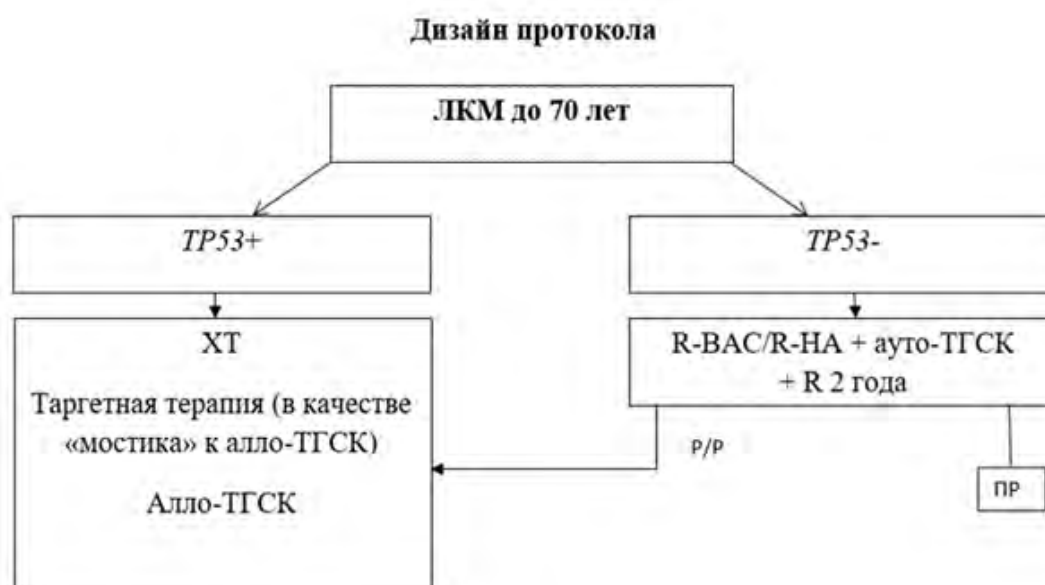
Общая часть

В период с января 2016 по март 2020 гг. в исследование было включено 40 ранее нелеченых больных ЛКМ, в возрасте от 33 до 71 года (средний – 52 года): 24 мужчин (60%) и 16 женщин (40%). Критерии включения учитывали возраст от 18 до 70 лет, подтвержденный диагноз ЛКМ, отсутствие тяжелой сопутствующей коморбидности и второго активного опухолевого процесса.

Протоколы лечения

Индукционный режим включал в себя 4 цикла ХТ по ротирующей программе R-BAC/R-NA и был проведен у 39 из 40 больных. Одной больной, включенной в исследование до внедрения протокола «ЛКМ-2016», проводилось несколько циклов терапии по программам R-EPOCH, R-BAC, платиносодержащие курсы и таргетная терапия (Т/Т) в качестве режима кондиционирования перед трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) применялась программа SEAM. Режимы предтрансплантационного кондиционирования перед алло-ТГСК проводились по схемам: флударабин + бусульфан (5) и флударабин + треосульфан + мелфалан (2). Дизайн протокола представлен на схеме 1.

Схема 1



РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Клинико-лабораторная характеристика и результаты лечения общей группы больных

1.1. Клинические данные

В период с января 2016 по март 2020 гг. в исследование было включено 40 ранее нелеченых больных ЛКМ, в возрасте от 33 до 71 года (средний – 52 года): 60% мужчин и 40% женщин. Согласно критериям MIP1 больные были распределены на группы риска следующим образом: 40% больных были отнесены к группе низкого риска, 37% и 23% к группам промежуточного и высокого риска соответственно.

Для оценки распространенности заболевания в дебюте 34 больным ЛКМ было выполнено ПЭТ/КТ исследование. Среднее значение SUV_{max} составило 6 (0 – 23,31). У 7 больных с наличием мутаций в гене *TP53* ПЭТ/КТ исследование удалось выполнить только 4 больным, среднее значение SUV_{max} составило 13,8 (6,8 – 23,31). Напротив, у больных без мутаций в гене *TP53* исследование было выполнено у 30 из 33 больных и среднее значение SUV_{max} составило 5,9 (0-15,42). Полученные различия статистически достоверны ($p=0,013$).

Для установления диагноза ЛКМ всем больным было проведено гистологическое и ИГХ исследования биоптатов опухоли. Классическая и бластоидная морфология в общей группе были выявлены у 65% и 35% больных соответственно. Высокий индекс пролиферативной активности по Ki-67 $\geq 30\%$ был выявлен у 34% больных.

По данным стандартного кариологического исследования комплексный кариотип (КК) был выявлен у 42% больных. Делеция 17p13 и реаранжировки гена *MYC*, определяемые методом FISH, были выявлены у 15% и 15% больных соответственно.

Всем больным, включенным в протокол, независимо в двух лабораториях, было выполнено исследование на наличие мутации в гене *TP53* методом прямого секвенирования ДНК по Сэнгеру. Мутации в гене *TP53* были выявлены у 7 (17%) из 40 больных. Кроме того, всем больным было проведено ИГХ исследование на наличие экспрессии белка p53. «Слепым» методом уровень cut-off был установлен 50%. Экспрессия p53 более 50% была выявлена у 7 (17%) больных, среди которых у всех были выявлены патогенные мутации гена *TP53*. В зависимости от наличия/отсутствия мутаций в гене *TP53* было сформировано 2 группы больных.

1.2. Результаты лечения в общей группе больных

У всех 40 больных на момент обследования были определены показания для начала терапии. Исходно 40 больным была проведена ХТ, из них полностью закончен протокол R-ВАС/R-НА только у 32 больных (31 больной – без мутации в гене *TP53* и 1 больной с мутацией в гене *TP53*).

При медиане наблюдения 19 месяцев из 32 больных у 28 сохраняется полная ПЭТ- и МОБ-негативная ремиссия. У 4 больных были констатированы рецидивы заболевания на сроках 2, 8, 25 и 33 месяца после окончания терапии. Из 4 больных 2 успешно была выполнена алло-ТГСК. При сроках наблюдения 1 и 9 месяцев у этих больных сохраняется полная ПЭТ- и МОБ-негативная ремиссия. Одному больному продолжены курсы противорецидивной ХТ и планируется выполнение алло-ТГСК. Один больной с мутацией в гене *TP53* погиб через месяц после установления рецидива.

У 8 больных было констатировано первично-резистентное течение (2 больных без мутаций в гене *TP53* и 6 больных с мутациями в гене *TP53*), в связи с чем была проведена коррекция терапии. У 5 из 8 больных (1 без мутации в гене *TP53* и 4 с мутациями в гене *TP53*) была проведена алло-ТГСК, из них 4 больным для подготовки к трансплантации проводилась таргетная терапия. При сроках наблюдения 1, 13 и 46 месяцев у 3 больных сохраняется полная ПЭТ- и МОБ-негативная ремиссия. У 1 больной через 15 месяцев после алло-ТГСК был констатирован рецидив заболевания. Один больной погиб через 3 месяца после алло-ТГСК на фоне тяжелых инфекционных осложнений. В одном случае у больного без мутации в гене *TP53* после проведения второй линии терапии была достигнута полная ПЭТ- и МОБ-негативная ремиссия. Один больной с мутацией в гене *TP53* погиб от прогрессирующего течения ЛКМ и 1 больной продолжена таргетная терапия. В общей группе 40 больных 2-летняя БСВ и ОВ составили 78,1% и 91,6% соответственно. Медиана наблюдения составила 14 месяцев.

По результатам однофакторного анализа было показано, что только наличие мутации в гене *TP53* являлось независимым прогностическим фактором ($p=0,004$), в связи с чем, рационально рассмотреть клинические характеристики и результаты терапии в каждой отдельной группе больных (с отсутствием и наличием мутации в гене *TP53*).

2. Клинико-лабораторные характеристики и результаты лечения 1 группы больных (без мутаций в гене TP53)

2.1. Клинические данные

В первую группу больных, без мутаций в гене TP53, было отнесено 33 больных ЛКМ, с медианой возраста 51 (33-68) год: 64% мужчин и 36% женщин. Согласно критериям MIP1 разделение больных произошло следующим образом: к группе низкого риска было отнесено 48% больных, к группе промежуточного риска - 40% и к группе высокого риска - 12% больных.

ПЭТ/КТ в дебюте заболевания было выполнено 90% больным. Среднее значение SUVmax составило 5,9 (0-15,42). Вовлечение экстранодальных локализаций было выявлено у 58% больных. Спленомегалия более 130 мм была выявлена у 52% больных, из них 1 больному была выполнена спленэктомия.

Классическая и бластоидная морфология в первой группе больных были выявлены у 76% и 24% больных соответственно.

Индекс пролиферативной активности по Ki-67 $\geq 30\%$ наблюдался только у 26% больных. Экспрессия белка p53 в этой группе больных во всех случаях не превышала 50%.

По результатам кариологических исследований комплексный кариотип был выявлен у 33% больных. Методом FISH делеция 17p13 и реаранжировки гена MYC были обнаружены у 6% и 12% больных соответственно.

У 6 больных было выполнено таргетное секвенирование с захватом 406 генов и 31 реаранжировок методом секвенирования нового поколения (next generation sequencing – NGS), подробные данные представлены в *таблице 1*.

Таблица 1

Результаты NGS в 1 группе больных

	Вариант морфологии	Ki-67	Кариотип	Делеция 17p13	Результаты NGS
М., 40	Бластоидный	40%	Комплексный	+	IGH-CCND1, ATM, MALT1, CDKN2A/B, CDKN2C, MKI67, AXL, PCLO, MLL, PDCD1LG2, MED12, SMAD4
В., 42	Бластоидный	40%	Комплексный	-	IGH-CCND1, BCOR, ATM, CDKN2A/B, CDKN2C, BRCA2, CAD, AXL, CUX1, FLT1, BRSK1

Е., 43	Бластоидный	н/д	Комплексный	-	<i>IGH-BCL2, IGH-BCL6, BCL2, BCOR, MEF2B, ASXL1, EZH2, RICTOR, CREBBP, FOXO1, STAT6, DNMT2, IRF1, TET2, DTX1, MPL</i>
П., 49	Классический	15%	Комплексный	-	<i>IGH-CCND1, CHEK2, BRCA2, CCND1, MAP3K1, U2AF2, BRIP1, NCOR2, XBP1, PCLO, FBXO11, STAT4</i>
Ш., 49	Классический	15%	Комплексный	+	<i>IGH-CCND1, CHEK2, ATM, ATR, FANCF, GATA2, BTG2, PRKDC, CD58</i>
Б., 65	Бластоидный	60%	Комплексный	-	<i>IGH-CCND1, ATM, CDKN2A/B, NOTCH2, WHSC1, ATR, SMARCA4, KRAS, TRAF3, FLT1, PRKDC, GTSE1, RET, MLL3</i>

2.2. Результаты лечения 1 группы больных

К сентябрю 2020 года фазы индукции и консолидации по протоколу «ЛКМ-2016» были полностью завершены у всех 33 больных первой группы. Полностью завершили двухлетнюю поддерживающую терапию ритуксимабом 10 больных. Из 33 больных у 2 в дебюте не было выявлено поражения костного мозга. Из 31 больных, санация костного мозга (по данным МПЦ, FISH и В-клеточной клональности) была достигнута у 61% больных - после 1 курса ХТ, у 19% больных - после 2 курса ХТ, у 10% - после 3 курсов ХТ, у 7% больных - после 4 курсов ХТ и только у 3% - после 5 курсов ХТ.

Мобилизация и сбор ауто-ГСК были осуществлены у всех больных при достижении санации костного мозга. Среднее количество заготовленных CD34+ клеток составило 9,8 (2,6 – 37,7) x 10⁶/кг. После 1 курса ХТ сбор аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ГСК) был выполнен у 3% больных, после 2 курсов – у 55% больных, после 3 курсов – у 15% больных, после 4 курсов - у 24% больных, после 5 курсов – у 3% больных. Таким образом, у 31 из 33 больных после 4 курсов ХТ была достигнута ПЭТ- и МОБ-негативная ремиссия заболевания. Средний срок наблюдения составил 16 месяцев (от 1 до 36 месяцев).

У 1 больного, несмотря на достижение полного клинического ответа по данным инструментальных методов обследований, МОБ-негативной ремиссии после 4 курсов ХТ достигнуто не было. Больному был проведен курс по программе ритуксимаб, цисплатин и

гемцитабин, что позволило достичь молекулярной ремиссии и успешно выполнить сбор ауто-ГСК и ауто-ТГСК.

У 1 больного, несмотря на достижение МОБ-негативности, ПЭТ-негативной ремиссии достичь не удалось, даже после смены режима ХТ и добавления таргетной терапии. Пациенту была выполнена алло-ТГСК и достигнута полная ремиссия (ПР) заболевания, однако, он погиб через 3 месяца вследствие тяжелых инфекционных осложнений.

У 3 больных через 8, 25 и 33 месяцев после ауто-ТГСК было констатировано развитие рецидива заболевания (в 2-х случаях успешно была выполнена алло-ТГСК; в 1 случае после противорецидивной терапии получена 2 ремиссия, планируется алло-ТГСК).

При анализе всех 5 неудач терапии в *TP53*-негативной группе больных при проведении однофакторного анализа было показано, что только комплексный кариотип является независимым прогностическим фактором ($p=0,0012$) для БСВ при сопоставлении с другими признаками (возраст, пол, ECOG, MIPI, В-симптомы, значение $SUV_{max} \geq 10,3$, лейкоцитоз, высокая активность сывороточной ЛДГ, морфология, пролиферативный индекс, мутационный статус генов *IGH* опухолевых клеток, моноклональная секреция). У больных с наличием/отсутствием комплексного кариотипа 2-летняя БСВ составила 77,1% и 100% соответственно ($p=0,045$). Двухлетняя ОВ у больных с наличием/отсутствием комплексного кариотипа составила 90% и 100% соответственно. Различия в ОВ статистически не достоверны ($p=0,17$).

3. Клинико-лабораторные данные и результаты лечения во 2 группе больных (с мутациями в гене *TP53*)

3.1. Клинические данные

Во вторую группу больных, с наличием мутаций в гене *TP53*, было отнесено 7 больных ЛКМ, с медианой возраста 58 (44-71) лет: 43% мужчин и 57% женщин. Согласно критериям MIPI разделение больных произошло следующим образом: к группе промежуточного риска было отнесено 43% больных и к группе высокого риска - 57% больных.

ПЭТ/КТ в дебюте заболевания было выполнено 57% больным. Среднее значение SUV_{max} составило 13,7 (6,8-23,31). Вовлечение экстранодальных локализаций было выявлено у всех 7 больных. Спленомегалия более 130 мм была выявлена у 71% больных, из них 2 больным была выполнена спленэктомия.

Классическая и бластоидная морфология были выявлены у 14% и 86% больных соответственно. Индекс пролиферативной активности по Ki-67 $\geq 30\%$ наблюдался только у 67% больных. Экспрессия белка p53 в этой группе больных в 100% случаях составила более 50%.

По результатам кариологических исследований комплексный кариотип был выявлен у 86% больных. Методом FISH делеция 17p13 и реаранжировки гена *MYC* были обнаружены у 57% и 28% больных соответственно.

Исследование на наличие мутаций в гене *TP53* проводилось методом прямого секвенирования ДНК по Сэнгеру. Распределение выявленных мутаций по экзонам: 5 экзон – 1 больной (p.Y126C), сайт сплайсинга 6 экзона – 1 больной (c560>2A> G), 7 экзон – 3 больных (p.R248G, p.R248W, p.R248W), 8 экзон – 2 больных (p.C277X, p. R290H).

У 3 больных было выполнено таргетное секвенирование с захватом 406 генов и 31 реаранжировок методом NGS. Подробные данные представлены в *таблице 2*.

Таблица 2

Результаты NGS 2 группы больных

	Вариант морфологии	Ki-67	Кариотип	Мутации в гене <i>TP53</i> (метод по Сэнгеру)	Делеция 17p13	Результаты NGS
К., 44	Классический	25%	Комплексный	5 экзон p.Y126C	+	<i>IGH-CCND1, CDKN2C, NOTCH2, TP53, AR, FAF1, NUP93, CSF3R, PCLO, IDH2, PIK3CA, NCOR2</i>
Б., 65	Бластоидный	90%	Комплексный	7 экзон p.R248G	+	<i>IGH CCND1, CDKN2A/B, NOTCH1, TP53, MLL2, PTEN, BLM, CCT6B, KZF3, ARHGAP26, DR90, AURKA, PCLO, IK3CG, EPHB1, TCF3</i>
А., 44	Бластоидный	40%	Комплексный	7 экзон p.R248W	+	<i>IGH-CCND1, TP53, HSC1, MLL2, ATM, CHEK1, IKZF3, CCND3, RET, FANCL, SPEN</i>

3.2. Результаты лечения 2 группы больных

Всем 7 больным исходно была проведена ХТ, из них 6 больным по программе R-ВАС/R-НА и 1 больной – R-ЕРОСН, R-ВАС, платиносодержащие курсы. Общий ответ (ОО) на проведенную терапию составил 100%.

Из 7 больных только у 1 была достигнута кратковременная полная ПЭТ- и МОБ-негативная ремиссия. Однако, через 2 месяца после завершения терапии у больного был констатирован рецидив заболевания и он погиб.

Первично-резистентное течение было констатировано у 6 больных. Один больной погиб от резистентного течения ЛКМ и одной больной проводится терапия ибрутинибом. В 4 случаях была выполнена алло-ТГСК (у 3 больных после применения таргетной терапии и у 1 больного сразу после завершения курсов R-ВАС/R-НА на фоне стабилизации заболевания).

После выполнения алло-ТГСК у всех 4 больных была достигнута полная ПЭТ- и МОБ-негативная ремиссия. При сроках наблюдения 1, 13 и 46 месяцев у 3 больных сохраняется ПР, у 1 больной через 15 месяцев после алло-ТГСК развился рецидив заболевания на фоне длительной иммуносупрессивной терапии хронической РТПХ.

При медиане наблюдения 18 месяцев у всех 7 больных 2-летняя БСВ и ОВ составили 0% и 64,3% соответственно.

4. Сравнительные характеристики двух групп больных

В исследовании было проведено сравнение двух групп больных: с отсутствием (группа 1) или наличием мутаций в гене *TP53* (группа 2).

В исследовании был проведен множественный сравнительный анализ клинико-лабораторных характеристик между больными с наличием мутаций в гене *TP53* и больными с диким типом гена *TP53*.

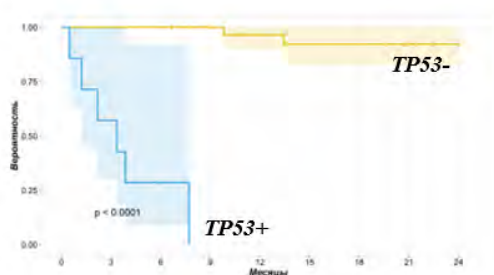
Было показано, что у больных с наличием мутаций в гене *TP53* более высокая вероятность: наличия комплексного кариотипа (в 7 раз), бластоидной морфологии (в 18 раз), делеции 17p13 (в 20 раз), тяжелого соматического статуса - ECOG \geq 2 баллов (в 60 раз) по сравнению с больными из группы без мутаций в гене *TP53*. Кроме того, высокая экспрессия белка p53 \geq 50% наблюдалась только у больных при наличии мутаций в гене *TP53*.

При анализе взаимосвязи 4 основных прогностически неблагоприятных признаков чаще всего наблюдается сочетание: комплексного кариотипа и делеции 17p13 (100%), мутации в гене *TP53* и бластоидной морфологии (86%), мутации в гене *TP53* и комплексного кариотипа (86%), мутации в гене *TP53* и делеции 17p13 (67%), бластоидной морфологии и делеции 17p13 (67%).

4.1. Сравнительные результаты терапии

Было проведено сравнение результатов терапии в двух группах больных: 1 группа – без мутаций в гене *TP53*, 2 группа – с наличием мутаций в гене *TP53*. Двухлетняя БСВ в группах больных с наличием/отсутствием мутаций в гене *TP53* составила 0% и 92,2%, соответственно ($p < 0,0001$) (график 1). Двухлетняя ОВ в группах больных с наличием/отсутствием мутаций в гене *TP53* составила 64,3% и 96,5% соответственно ($p = 0,005$) (график 1).

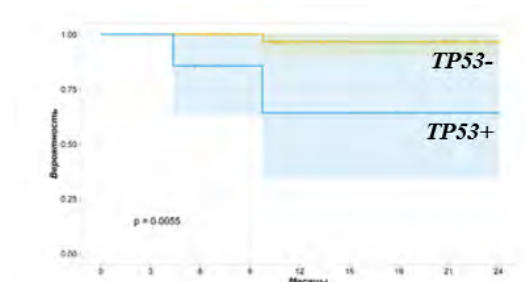
График 1. Выживаемость больных в зависимости от наличия или отсутствия мутации в гене *TP53*



А)

А: Бессобытийная выживаемость

Б: Общая выживаемость



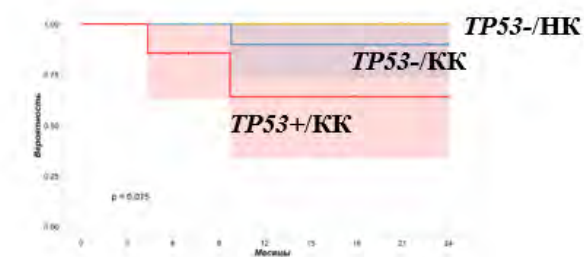
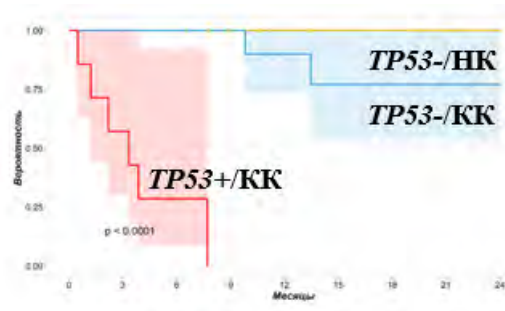
Б)

Достичь показателей ОВ 64,3% во 2 группе больных удалось только после выполнения алло-ТГСК 4 из 7 больным. Таким образом, наглядно продемонстрировано, что алло-ТГСК является единственным методом, позволяющим добиться стойкой ремиссии. Более того, учитывая длительный срок наблюдения у одной больной (46 месяцев) возможно и полного излечения больных с мутациями в гене *TP53*.

Таким образом, при оценке эффективности терапии и подробном изучении всех неблагоприятных событий в однофакторном анализе было показано, что у больных ЛКМ только наличие мутации в гене *TP53* и комплексный кариотип являются независимыми факторами неблагоприятного прогноза ($p = 0,004$; $p = 0,0012$). Были сформированы 3 группы больных: 1 группа - без мутаций в гене *TP53* и с нормальным кариотипом (*TP53*-/НК), 2 группа - без мутации в гене *TP53* и с наличием комплексного кариотипа (*TP53*-/КК), 3 группа - с мутацией в гене *TP53* и наличием комплексного кариотипа (*TP53*+/КК).

Двухлетняя БСВ составила 100%, 77,1% и 0% в группах 1,2 и 3 соответственно (график 2). Двухлетняя ОВ составила 100%, 90% и 64,3% в группах 1,2 и 3 соответственно (график 2).

График 2. Выживаемость больных в зависимости от наличия или отсутствия мутации в гене *TP53* и комплексного кариотипа



А)

Б)

А: Бессобытийная выживаемость

Б: Общая выживаемость

5. Результаты алло-ТГСК

Алло-ТГСК была выполнена 7 больным из прогностически неблагоприятной группы: 4 больным с наличием мутаций в гене *TP53* и 3 больным Р/Р формами ЛКМ без мутаций в гене *TP53* (ранний рецидив после ауто-ТГСК – 2, первично-резистентное течение – 1).

В качестве «мостика» к алло-ТГСК, у 6 больных была применена таргетная терапия (в 2 случаях в комбинации с ХТ) и у одного больного алло-ТГСК была выполнена сразу после завершения курсов R-ВАС/R-НА на фоне стабилизации заболевания.

Источником трансплантата в 6 случаях были ГСК из периферической крови и в 1 случае костномозговая взвесь. У 3 больных алло-ТГСК была выполнена от HLA-идентичных неродственных доноров, у 2 - от гаплоидентичных, у 1 – от частично-совместимого (9/10) родственного донора и у 1 больного от частично-совместимого (9/10) неродственного донора. Развитие клинически значимой острой РТПХ II-IV степени по MAGIC было зарегистрировано у 3 больных, преобладающим было поражение кожи 2 и 3 стадии и

желудочно-кишечного тракта 2 и 3 стадии. Хроническая РТПХ умеренной степени с поражением слизистых оболочек наблюдалась только у 1 больной.

При среднем сроке наблюдения 11 (1-46) месяцев у 5 больных сохраняется ПЭТ- и МОБ-негативная ремиссия, без признаков РТПХ. Двухлетняя ОВ составляет 80% .

6. Результаты NGS

В работе был проведен анализ уникальных данных таргетного секвенирования с захватом 406 онкогенов и 31 реаранжировок методом NGS у 9 больных, включенных в протокол «ЛКМ-2016». Среди 99 выявленных мутаций у 9 больных наиболее часто были выявлены следующие: мутации *ATM* (55%), *TP53* (33%), *WHSC1* (33%), *NOTCH2* (22%), *MLL2* (22%), *CHEK 2* (22%), *BCOR* (22%), *CHEK 1* (11%), *NOTCH 1* (11%), *CCND 1* (11%) и делеции *CDKN2A/B* (44%), *CDKN2C* (33%). Спектр выявленных мутаций у 8 больных совпадал с литературными данными при ЛКМ (Klener P., 2019). У одного больного был выявлен спектр мутаций, который значительно отличался от других больных ЛКМ. Впоследствии его диагноз был пересмотрен и была предположена приобретенная вторичная транслокация t(11;14)(q13;q32), скорее всего в ходе опухолевой эволюции неуточненной агрессивной В-клеточной лимфомы (Koduru P.R.,2015). Спектр обнаруженных мутаций у этого больного наиболее соответствовал диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме или фолликулярной лимфоме 3В градации. Таким образом, применение метода NGS позволяет улучшить дифференциальную диагностику ЛКМ, особенно в трудных для клинической и морфологической интерпретации случаях. У одного больного из *TP53*-негативной группы с первично-резистентным течением ЛКМ методом NGS были выявлены мутации в генах *CHEK2*, *ATM*, *ATR*, *BTG2*, *CD58*, *FANCF*, *GATA2* и *PRKDC*. Можно предположить, что был нарушен сигнал передачи от мутированных генов, кодирующих белки *CHEK2*, *ATM*, *ATR* и *PRKDC* к немутированному p53, что может соответствовать его «функциональному выключению» и в последующем к отсутствию эффекта от цитостатической терапии.

В результате исследования, было показано, что методом NGS наличие/отсутствие мутаций в гене *TP53* в 100% случаев совпадало с данными прямого секвенирования ДНК по Сэнгеру (9 из 9). Кроме того, было отмечено, что у больных с наличием мутаций в гене *TP53*, при выполнении NGS был выявлен спектр мутаций, обладающих неблагоприятным

влиянием на прогноз и выживаемость больных (*NOTCH2*, *NOTCH1*, *MLL2*, *WHSC1*, *ATM*), что позволяет предположить взаимное усиление негативных последствий таких сочетаний для больных ЛКМ.

Таким образом, для дальнейшей оценки и выявления новых молекулярных маркеров неблагоприятного прогноза (мутации генов *NOTCH 1/2*, *MLL2*, *CHEK1/2*, делеции *CDKN2A/B* и т.д.) а также расширения показаний для таргетной и иммунотерапии при ЛКМ рационально внедрение в практику таргетного секвенирования нового поколения. Кроме того, высокая чувствительность метода NGS позволит в перспективе решить проблемы, связанные с оценкой МОБ-негативности у больных ЛКМ. Все существующие в клинической практике методы оценки МОБ ограничены чувствительностью 10^{-4} - 10^{-5} и привязаны к топике поражения (костный мозг, лимфатический узел и т.д.). Применение NGS с чувствительностью 10^{-6} , где субстратом является не ограниченный опухолевый биоптат, а свободная опухолевая ДНК плазмы, универсально отражающая весь клональный и субклональный опухолевый спектр, независимо от топике поражения, в будущем разрешит проблемы качественной и количественной оценки МОБ (Kumar A.,2021).

7. Обсуждение

Таким образом, проведенное исследование дало нам возможность самостоятельно получить ответы на целый ряд неизученных вопросов. За 4 года нам удалось собрать группу из 40 больных без тяжелой соматической патологии в возрасте до 70 лет (от 33 до 71, средний 52 года), способных перенести интенсивную ХТ и высокодозную консолидацию в рамках протокола «ЛКМ-2016». Всем больным было выполнено секвенирование 2-11 экзонов гена *TP53*. У 9 больных выполнено таргетное секвенирование биоптатов опухоли с захватом 406 онкогенов и 31 реаранжировок методом NGS. В основу протокола «ЛКМ-2016» были интегрированы все современные максимально эффективные принципы терапии ЛКМ.

Особенностью индукционной терапии протокола «ЛКМ-2016» являлась комбинация бендамустина и цитарабина (схема RBAC) и высокодозного цитарабина (схема RHA) в виде ротации только 4 курсов ХТ. Сокращение числа курсов до 4 в терапии ЛКМ вызывало сомнения, но при проведении динамической оценки клинического ответа и

контроля МОБ было показано, что 61% больных были МОБ-негативными уже после 1 курса ХТ, а после 4 курса молекулярная ремиссия была достигнута у 97% больных в группе стандартного риска. Комплексный подход к оценке МОБ также являлся особенностью нашей работе. По данным статистического анализа было достигнуто 100% общего ответа, 82% ПЭТ и МОБ-негативных ремиссий, 2-летней БСВ и ОВ 78,1% и 91,6%, соответственно, в общей группе больных.

Таким образом, новый протокол «ЛКМ-2016» показал свою высокую эффективность и приемлемую токсичность у больных ЛКМ до 70 лет. В ходе проведения протокола «ЛКМ-2016» проводился тщательный анализ всех 11 неудач в лечении (резистентность, ранние и поздние рецидивы). Практически все пациенты с первично-резистентным течением были с мутациями в гене *TP53*. Несмотря на крайне неблагоприятный прогноз для больных ЛКМ с мутациями в гене *TP53*, сегодня появляются терапевтические опции способные переломить эту ситуацию. В нашей работе был изменен принципиальный подход к лечению этой группы больных. Уже на этапе диагностики или в ходе лечения превентивно была выделена группа больных ЛКМ с мутациями в гене *TP53* и согласно протоколу была выполнена алло-ТГСК в первой линии терапии. Это существенно отличало наш протокол, от всех существующих в литературе исследований, где алло-ТГСК в доминирующем большинстве случаев, согласно официальным рекомендациям, проводится только в случае рецидива, обычно после многочисленных курсов и линий ХТ.

При проведении алло-ТГСК был получен и другой полезный опыт, который также может применяться в последующих перспективных работах. Была убедительно показана высокая эффективность таргетной терапии для подготовки больных к алло-ТГСК. Прежде всего, применение таргетной терапии дает возможность сохранить биологический резерв пациента, что позволяет в дальнейшем минимизировать инфекционные осложнения. Кроме того, минимальное воздействие на стромальное и иммунное микроокружения в дальнейшем способствует быстрой и эффективной реконституции донорских стволовых клеток, что возможно снижает риск неприживления трансплантата, развития РТПХ и рецидивов.

По нашему мнению показания для алло-ТГСК в первой линии должны расширяться. Так, при проведении статистического анализа был выявлен еще один фактор ранних неудач в лечении – комплексный кариотип в группе больных ЛКМ без мутаций в гене *TP53*.

В рамках проведенного протокола у 9 больных ЛКМ из группы высокого риска удалось провести таргетное секвенирование методом NGS с одновременным захватом 406 онкогенов и 31 реаранжировок. Были получены первые и пока очень ограниченные данные, однако уже очевидны перспективы этого метода исследования. Помимо улучшения дифференциальной диагностики ЛКМ, появляются возможности детекции прогностически неблагоприятных мутаций (*NOTCH 1* и *2*, *MLL2*, *CHEK1* и *CHEK2*), делеций *CDKN2A/B* и т.д., которые в перспективе позволят четко выделить неблагоприятную группу больных ЛКМ и расширить показания для таргетной и иммунотерапии.

Перспективными становятся возможности молекулярного мониторинга МОБ, особенно при использовании свободной опухолевой ДНК (Kumar A, 2021). Таким образом, полученные результаты могут служить плацдармом для дальнейших исследований ЛКМ в течение ближайших 10-15 лет.

Выводы

1. В рамках проспективного исследования разработан и внедрен в практику новый протокол диагностики и лечения лимфомы из клеток мантии («ЛКМ-2016»). Показано, что при использовании протокола «ЛКМ-2016», в общей группе из 40 больных ЛКМ 2-летняя бессобытийная и общая выживаемость составляют 78,1% и 91,6% соответственно (медиана наблюдения 14 месяцев).
2. При оценке эффективности терапии по протоколу «ЛКМ-2016» определено, что у больных лимфомой из клеток мантии наличие мутаций в гене *TP53* и комплексный кариотип являются независимыми факторами неблагоприятного прогноза ($p=0,004$; $p=0,0012$). Все 11 случаев ранних неудач после ХТ наблюдались только у больных с факторами неблагоприятного прогноза.
3. У больных ЛКМ без факторов неблагоприятного прогноза (мутация в гене *TP53* и комплексный кариотип) 2-летняя бессобытийная и общая выживаемость (в рамках протокола «ЛКМ-2016») составили 100% (медиана наблюдения 22 месяца).
4. По результатам секвенирования по Сэнгеру (2-11 экзонов гена *TP53*), патогенные мутации в гене *TP53* обнаружены у 7 (17%) из 40 больных ЛКМ. По результатам иммуногистохимического исследования гиперэкспрессия белка p53 (cut-off 50%) совпала в 100% случаев с наличием мутаций в гене *TP53*.

5. У больных с мутациями в гене *TP53* вероятность выявления комплексного кариотипа, бластоидной морфологии, делеции 17p13 и статуса по ECOG (≥ 2 баллов) выше в 7, 18, 20 и 60 раз, соответственно, чем у больных в *TP53*-негативной группе. Накопление радиофармпрепарата по данным ПЭТ/КТ исследования также достоверно выше у больных с мутациями в гене *TP53* ($p = 0,013$).
6. При медиане наблюдения 18 месяцев, только у 1 из 7 больных ЛКМ с мутациями в гене *TP53* удалось достичь ПЭТ- и МОБ-негативной ремиссии, а 2-летняя бессобытийная выживаемость составила 0%, независимо от интенсивности проводимой ХТ ($p=0,0001$). Наличие мутаций в гене *TP53* является абсолютным показанием для выполнения трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток в первой линии терапии для этой группы больных (у 3 из 4 больных, с мутациями в гене *TP53* достигнута ПЭТ и МОБ-негативная ремиссия со сроком наблюдения - 1,13 и 46 месяцев).
7. При медиане наблюдения 14 месяцев у 11 больных ЛКМ с комплексным кариотипом 2-летняя бессобытийная выживаемость составила 77,1% ($p=0,0001$). В случае неудач в лечении для этой группы больных также показано выполнение трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (у 2 из 3 больных с комплексным кариотипом достигнута ПЭТ- и МОБ-негативная ремиссия со сроком наблюдения 1 и 9 месяцев).
8. Первый опыт проведения таргетного секвенирования у 9 больных ЛКМ показал новые перспективные возможности в дифференциальной диагностике, анализе опухолевой резистентности, адекватном выборе терапии и оценки МОБ.

Практические рекомендации

Перед проведением терапии больным ЛКМ, необходимо выделить прогностически неблагоприятную группу больных, не только в соответствии с существующими прогностическими индексами, но и на основании молекулярно-генетического исследования (детекция мутации в гене *TP53*, комплексный кариотип).

Вероятность обнаружения мутации в гене *TP53* выше у больных при наличии В-симптомов (100%), соматическом статусе по шкале ECOG ≥ 2 баллов (100%), группе высокого риска согласно критериям МIP1 (57%), высокой активности сывороточной ЛДГ (100%), бластоидном варианте (86%), индексе пролиферативной активности по Ki-67 \geq

30% (67%), при наличии делеции 17p13 (57%), положительном иммуногистохимическом исследовании на p53 (cut-off 50%) - в 100% случаях.

При обнаружении мутации в гене *TP53*, необходимо максимально раннее принятие решение вопроса о возможности проведения алло-ТГСК, а также организация поиска родственного или неродственного HLA-идентичного или гаплоидентичного донора.

В *TP53*+позитивных случаях, перед проведением алло-ТГСК, с целью снижения гематологической и негематологической токсичности, рационально включение в индукционные режимы ХТ препаратов, ингибирующих сигнальные пути (ингибиторов ВТК и белка BCL-2) с минимизацией ДНК-токсичных препаратов. Проведение ауто-ТГСК неэффективно у больных ЛКМ с мутациями в гене *TP53*.

В *TP53*-негативных случаях рационально провести 4 курса ХТ (ротация RBAC и RHA) с последующей высокодозной консолидацией и 2-летней поддерживающей терапией ритуксимабом. Как показало наше исследование, эта программа отличается высокой эффективностью и приемлемой токсичностью у больных ЛКМ в возрасте до 70 лет и без тяжелой сопутствующей коморбидности.

В *TP53*-негативных случаях, при обнаружении комплексного кариотипа, рациональна также ранняя детекция потенциальных доноров для проведения алло-ТГСК в случае Р/Р течения заболевания. В случае возникновения рецидива заболевания, у больного из группы стандартного риска, необходима повторная детекция мутации в гене *TP53*. При отсутствии мутации в гене *TP53*, подготовку к алло-ТГСК возможно проводить с помощью таргетных препаратов, а также с использованием цитостатических препаратов, не использованных в протоколе «ЛКМ-2016» (циклофосфамид, доксорубин, винкристин, препараты платины и т.д.).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Королева Д.А., Звонков Е.Е. Негативное влияние мутаций в гене *TP53* на эффективность терапии лимфомы из клеток мантии. Промежуточные результаты протокола «ЛКМ-2016» // Гематология и трансфузиология - 2019. - Т:64(3). – С. 256-273
2. Королева Д.А., Звонков Е.Е. Первый опыт трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток у больных лимфомой из клеток мантии с мутациями в гене *TP53*// Гематология и трансфузиология – 2020. – Т:65(4). – С. 483-500
3. Саенко С.С., Королева Д.А. Идентификация геномных прогностических маркеров лимфомы из клеток мантийной зоны. Материалы XX зимней молодежной школы ПИЯФ по биофизике и молекулярной биологии. 2019 год.
4. Бидерман Б.В., Джулакян У.Л., Королева Д.А. Стереотипные антигенные рецепторы при В-клеточных лимфопролиферативных заболеваниях// Вестник гематологии – 2019. – Т:15(2). – С. 22-23
5. Королева Д.А., Звонков Е.Е. Лимфома из клеток мантии с мутацией гена *TP53*, описание клинического случая// Гематология и трансфузиология – 2018. – Т:63(S1). – С. 143-144
6. Обухова Т.Н., Звонков Е.Е., Королева Д.А. В-клеточная лимфома с транслокациями *CCND1*, *BCL2* и *BCL6*// Гематология и трансфузиология – 2020. - Т:65(S1). – С. 93
7. Королева Д.А., Дроков М.Ю., Звонков Е.Е. Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) в первой линии терапии лимфомы из клеток зоны мантии с мутациями в гене *TP53*// Гематология и трансфузиология – 2020. - Т:65(S1). – С. 154-155
8. Королева Д.А., Габеева Н.Г., Звонков Е.Е. Промежуточные результаты протокола "ЛКМ-2016" у больных лимфомой из клеток зоны мантии без мутаций в гене *TP53*// Гематология и трансфузиология – 2020. - Т:65(S1). – С. 154
9. Королева Д.А., Габеева Н.Г., Звонков Е.Е. Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток в первой линии терапии лимфомы из клеток мантии с мутациями в гене *TP53*// Клеточная терапия и трансплантация – 2020. – Т9(3). – С. 30-32
10. Koroleva D.A., Zvonkov E.E. Results of treatment patients of mantle cell lymphoma depending on the mutational status of the *TP53* gene// HEMASPHERE – 2019. - Т: 3(51). – P.912

Список сокращений

Ауто-ГСК – аутологичные гемопоэтические стволовые клетки

Алло-ГСК – аллогенные гемопоэтические стволовые клетки

Алло-ТГСК – трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

Ауто-ТГСК - трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток

АЛТ - аланинаминотрансфераза

АСТ - аспаратаминотрансфераза

ИГХ – иммуногистохимическое исследование

КК – комплексный кариотип

ЛКМ – лимфома из клеток мантии

ЛДГ - лактатдегидрогеназа

МОБ – минимальная остаточная болезнь

МЩ – многоцветная проточная цитофлуориметрия

ОО – общий ответ

ПНГ – прогностически неблагоприятная группа

ПЭТ/КТ – позитронно-эмиссионная томография, совмещенная с компьютерной томографией

РТПХ – реакция трансплантат против хозяина

РТПО - реакция трансплантат против опухоли

Р/Р – рецидив/рефрактерность

Т/Т – таргетная терапия

ХТ – химиотерапия

CAR- химерный антигенный рецептор (chimeric antigen receptor)

МИР - международный прогностический индекс для лимфомы из клеток мантии

NGS – секвенирование нового поколения (next generation sequencing)