

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр гематологии»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Кузьмина Елена Андреевна

**Молекулярно-генетический профиль клеток крови у больных  
хроническим миелолейкозом и его клиническое значение при терапии  
аллостерическим ингибитором тирозинкиназ**

3.1.28. - Гематология и переливание крови

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук Чельшева Екатерина Юрьевна

Москва, 2026

## Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	5
Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	12
1.1 Клиническая характеристика и лечение больных хроническим миелолейкозом.....	12
1.2 Неудача терапии ингибиторами тирозинкиназ .....	16
1.2.1 Причины неудачи терапии ингибиторами тирозинкиназ .....	16
1.2.2 Мутации <i>BCR::ABL1</i> и их роль в развитии резистентности .....	18
1.2.2.1 Мутации <i>BCR::ABL1</i> устойчивости к асциминебу .....	22
1.2.3 Другие механизмы резистентности.....	24
1.3 Молекулярно-генетический профиль клеток крови у больных хроническим миелолейкозом.....	26
1.3.1 Основы и применение метода высокопроизводительного секвенирования .....	26
1.3.2 Клональное кроветворение и его связь с гематологическими заболеваниями .....	28
1.3.3 Спектр и частота встречаемости соматических мутаций различных генов у больных хроническим миелолейкозом .....	32
1.3.4 Молекулярно-генетический профиль клеток крови у больных на момент диагностики хронического миелолейкоза .....	35
1.3.5 Молекулярно-генетический профиль клеток крови у больных в фазе акселерации и бластного криза хронического миелолейкоза.....	38
1.3.6 Динамическая оценка мутационного профиля у больных хроническим миелолейкозом.....	41
Резюме .....	44
Глава 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	46

2.1 Дизайн исследования по определению молекулярно-генетического профиля клеток крови.....	46
2.1.1 Характеристика больных из групп «случай-контроль» .....	49
2.2 Дизайн программы управляемого доступа к асциминибу .....	52
2.2.1 Характеристика больных из программы управляемого доступа к асциминибу .....	54
2.2.3 Критерии диагностики ХМЛ и эффективности терапии ИТК.....	56
2.3 Лабораторные методы исследования .....	58
2.3.1 Методика определения мутаций в гене <i>BCR::ABL1</i> .....	59
2.3.2. Высокопроизводительное секвенирование с использованием авторской таргетной панели генов .....	61
2.4 Статистическая обработка данных.....	63
Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	65
3.1 Результаты секвенирования генов миелоидной панели у больных хроническим миелолейкозом.....	65
3.1.1 Частота выявления соматических мутаций генов миелоидной панели у больных хроническим миелолейкозом .....	65
3.1.2 Мутационный профиль клеток крови у больных с неудачей терапии ингибиторами тирозинкиназ.....	66
3.1.3 Результаты динамического исследования мутационного профиля в группе больных с неудачей терапии .....	71
3.1.4 Факторы, ассоциированные с наличием мутаций генов миелоидной панели у больных с неудачей терапии .....	75
3.1.5 Спектр и динамика соматических мутаций в группе больных с оптимальным ответом.....	77

3.2 Результаты терапии аллостерическим ингибитором тирозинкиназ в программе управляемого доступа.....	79
3.2.1 Выживаемость больных хроническим миелолейкозом при терапии асциминибом .....	79
3.2.2 Эффективность терапии аллостерическим ингибитором тирозинкиназ асциминибом .....	82
3.2.3 Факторы, влияющие на эффективность терапии асциминибом .....	87
3.2.4 Клональная эволюция на фоне терапии асциминибом .....	90
3.2.5 Нежелательные явления терапии асциминибом .....	91
3.3 Эффективность терапии асциминибом больных хроническим миелолейкозом в зависимости от наличия соматических мутаций генов.....	93
Глава 4 ОБСУЖДЕНИЕ .....	98
Выводы .....	108
Список сокращений .....	110
Список литературы.....	112

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность исследования

Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) — это клональное опухолевое миелопролиферативное заболевание, в основе патогенеза которого лежит реципрокная транслокация  $t(9;22)(q34;q11)$  с формированием химерного онкогена *BCR::ABL1*. Применение ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) способствовало повышению 10-летней общей выживаемости (ОВ) до 85% в хронической фазе (ХФ) ХМЛ [114]. В то же время неудача терапии ИТК остается актуальной проблемой: почти у 40% больных, получающих иматиниб в 1 линии, требуется замена препарата к 5 годам лечения [95]. Применение ИТК второго поколения (ИТК2) позволяет преодолеть резистентность к терапии у части пациентов, но эффективность ИТК снижается с каждой последующей линией лечения [68, 82, 106]. Наиболее распространенной причиной резистентности считаются мутации в киназном домене гена *BCR::ABL1*, которые возникают примерно у 1/3 больных с неудачей терапии в ХФ и определяют выбор ИТК в зависимости от степени чувствительности мутантных клонов к различным препаратам [114]. Другими причинами неудачи терапии могут быть дополнительные хромосомные aberrации (ДХА) высокого риска в Ph-положительном клоне и активация *BCR::ABL1*-независимых путей. Однако не у всех больных удастся установить механизмы устойчивости к ИТК, и изучение дополнительных факторов резистентности может позволить улучшить терапевтическое воздействие при ХМЛ.

В настоящее время в мире активно исследуется молекулярно-генетический профиль клеток крови у больных ХМЛ, в частности, соматические мутации различных генов рассматриваются как возможные факторы резистентности [16]. По данным литературы, соматические мутации в генах, не связанных с *BCR::ABL1*, обнаруживаются примерно у 20–30% пациентов, чаще в фазе акселерации (ФА) и бластного криза (БК), чем в ХФ заболевания [40, 108]. Некоторые исследования

показывают, что наличие таких мутаций связано с худшим ответом на терапию ИТК и/или сниженной бессобытийной выживаемостью, но не оказывают влияния на общую выживаемость [103]. Некоторые распространенные соматические мутации генов, таких как *ASXL1*, *DNMT3A* и *TET2*, также связаны с возрастным клональным гемопоэзом, и их появление может предшествовать формированию *BCR::ABL1* [120]. Другие мутации, характерные для гематологических новообразований (*RUNX1*, делеции экзонов *IKZF1*), могут появляться на фоне лечения при прогрессировании ХМЛ и ассоциироваться с неблагоприятным течением заболевания [16]. Особый интерес представляет изучение влияния соматических мутаций генов на эффективность лечения инновационными ИТК.

Новый ИТК асциминиб - это первый препарат из класса STAMP-ингибиторов (Specifically Targeting the ABL Myristoyl Pocket), который в отличие от других ИТК взаимодействует не с АТФ-связывающим сайтом, а с аллостерическим центром *BCR::ABL1*-тирозинкиназы – миристоиловым карманом. Это позволяет асциминибу проявлять активность в отношении клонов с мутациями *BCR::ABL1*, затрагивающими область АТФ-связывающего сайта, в том числе с мутацией Т315I, которая обуславливает нечувствительность лейкозных клеток ко всем ИТК2 [174]. В исследованиях I и III фазы показана его высокая эффективность и хороший профиль безопасности при применении у больных ХМЛ в ХФ с неудачей терапии  $\geq 2$  ИТК и мутацией Т315I [1, 30, 149]. В то же время факторы риска неудачи терапии асциминибом все еще мало изучены. Исследования показывают, что на фоне терапии аллостерическим ИТК могут появляться новые мутации миристоилового кармана *BCR::ABL1*, но данные об этом ограничены и требуют дальнейшего изучения. Кроме того, соматические мутации в различных генах могут ассоциироваться с неудачей терапии асциминибом – данные об этом только начинают появляться и их изучение представляет интерес [104].

Исследование генетического ландшафта и клинического значения наиболее часто встречающихся соматических мутаций генов у больных ХМЛ могло бы способствовать более точному определению прогноза заболевания и тактики

ведения пациентов в разных клинических ситуациях: подбору более эффективного ИТК, выполнению трансплантации аллогенных гемопоэтических клеток либо, в перспективе, к использованию таргетной терапии, направленной на альтернативные генетические аномалии. Изучение влияния соматических мутаций генов и других потенциально неблагоприятных факторов на эффективность терапии асциминибом важно для поиска места инновационного препарата в терапии ХМЛ: определения наиболее оптимальных условий его применения и оценки возможности преодоления резистентности к другим ИТК.

### **Цель исследования**

Изучить спектр соматических мутаций генов, ассоциированных с миелоидными неоплазиями, у больных хроническим миелолейкозом и оценить их клиническое значение при терапии аллостерическим ингибитором тирозинкиназ.

### **Задачи исследования**

1. Определить и сопоставить частоту выявления соматических мутаций генов миелоидной панели (*ASXL1, DNMT3A, FLT3, IDH1, IDH2, NPM1, RUNX1, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF2, KIT, WT1, CEBPA, ZRSR2, JAK2, GATA2*) у больных хроническим миелолейкозом с неудачей терапии и оптимальным ответом на терапию.
2. Определить спектр соматических мутаций генов миелоидной панели у больных хроническим миелолейкозом с неудачей терапии в зависимости от клинических характеристик.
3. Оценить изменение молекулярно-генетического профиля клеток крови в динамике у больных хроническим миелолейкозом с неудачей терапии и оптимальным ответом на терапию.

4. Определить факторы неудачи терапии и оценить изменение мутационного статуса гена *BCR::ABL1* на фоне лечения асциминибом у больных хроническим миелолейкозом с предшествующей неудачей терапии.

5. Оценить эффективность терапии асциминибом у больных хроническим миелолейкозом в зависимости от наличия соматических мутаций генов миелоидной панели (*ASXL1, DNMT3A, FLT3, IDH1, IDH2, NPM1, RUNX1, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53, U2AF2, KIT, WT1, CEBPA, ZRSR2, JAK2, GATA2*).

### **Научная новизна**

Впервые выполнено сравнение молекулярно-генетического профиля у больных хроническим миелолейкозом с неудачей терапии и у больных с оптимальным ответом на лечение; проведена оценка динамики мутантных клонов.

В группе больных, получающих аллостерический ингибитор тирозинкиназ, определены факторы риска неудачи терапии и проведена оценка изменения мутационного статуса гена *BCR::ABL1*. Впервые оценена роль соматических мутаций различных генов в эффективности терапии асциминибом.

### **Практическая значимость работы**

Соматические мутации генов, ассоциированные с миелоидными неоплазиями, являются дополнительными маркерами резистентности и прогрессирования хронического миелолейкоза, в том числе при терапии аллостерическим ингибитором тирозинкиназ асциминибом.

Выявленные факторы риска неудачи терапии асциминибом следует учитывать для прогнозирования его эффективности. Мутационный статус *BCR::ABL1* следует оценивать в динамике при отсутствии оптимального ответа на терапию аллостерическим ингибитором тирозинкиназ для своевременного выявления мутаций *BCR::ABL1* устойчивости к асциминибу.

## Методология и методы исследования

Исследование построено по типу «случай-контроль», где в качестве группы «случая» выступали пациенты с неудачей терапии ИТК (n=29), а в качестве группы «контроля» - больные с оптимальным ответом на терапию, подобранные по методу подбора пар (n=29). Отбор пациентов производился из двух популяций: группы проспективно отслеживаемых с момента установления диагноза больных ХМЛ (n=146) и группы участников программы управляемого доступа к асциминибу (Managed Access Program – MAP) (n=68). Высокопроизводительное секвенирование (ВПС) проводилось у всех больных в группах «случай-контроль» на фоне лечения, а также у части больных с доступными архивными биообразцами ВПС проводилось в дополнительной точке, приближенной к моменту установления диагноза ХМЛ. Авторская таргетная панель генов для проведения ВПС, сформирована на основании литературных данных о мутациях генов, наиболее часто встречающихся у больных с миелоидными новообразованиями. В подгруппе больных с неудачей терапии, которые были переведены на асциминиб после проведения ВПС (n=20), оценивалась эффективность терапии асциминибом в зависимости от наличия соматических мутаций генов миелоидной панели. Во всей группе пациентов, получавших аллостерический ингибитор тирозинкиназ асциминиб в программе MAP (n=68), оценивалась эффективность терапии и факторы риска неудачи терапии.

## Положения, выносимые на защиту

1. Соматические мутации генов *ASXL1*, *DNMT3A*, *RUNX1*, *CEBPA*, *WT1*, *NPM1* и *TET2* ассоциируются с резистентным течением хронического миелолейкоза. Мутации генов *CEBPA*, *RUNX1*, *NPM1* и *WT1* ассоциируются с прогрессированием хронического миелолейкоза. Мутации гена *BCR::ABL1* могут сочетаться с соматическими мутациями других генов, наиболее часто с *ASXL1*.

2. Независимыми неблагоприятными факторами достижения большого молекулярного ответа на фоне терапии асциминибом являются уровень  $BCR::ABL1 \geq 10\%$  на момент начала терапии асциминибом, наилучший уровень  $BCR::ABL1 \geq 1\%$  в анамнезе и неудача терапии понатинибом в анамнезе.

3. У пациентов с соматическими мутациями генов *ASXL1*, *DNMT3A*, *RUNX1*, *CEBPA*, и *TET2* отмечена достоверно меньшая вероятность достижения полного цитогенетического ответа и большого молекулярного ответа, а также снижение беспрогрессивной выживаемости на фоне терапии асциминибом.

4. Мутации  $BCR::ABL1$  A337T и M244V ассоциируются с устойчивостью к терапии асциминибом.

### Степень достоверности и апробация результатов работы

Достоверность полученных данных определяется методически грамотным формированием выборки и актуальными методами статистической обработки данных, соответствующими поставленным задачам. Промежуточные результаты работы представлены на следующих конференциях:

- III Московская международная школа по гематологии и II Московская гематологическая школа молодых ученых и врачей (Москва, 2023 г.);
- II-я научно-практическая конференция имени академика В.Г. Савченко (Москва, 2023 г.);
- Конференция «Дискуссионный клуб профессора А.Ю. Зарицкого» (Санкт-Петербург, 2024 г.);
- VII Конгресс гематологов России и IV Конгресс трансфузиологов России (Москва, 2024 г.);
- IV Научно-практическая конференция «Современные подходы к диагностике и лечению гематологических заболеваний» (Москва, 2025 г.);

- VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Генетика опухолей кроветворной системы – от диагностики к терапии» (Санкт-Петербург, 2025 г.);
- VIII Конгресс гематологов России и V Конгресс трансфузиологов России (Москва, 2026 г.);
- 64th ASH Annual Meeting & Exposition (New Orleans, LA, USA 2022 г.)
- 65th ASH Annual Meeting & Exposition (San Diego, CA, USA, 2023 г.)
- ЕНА2023 Hybrid Congress (Frankfurt, Germany, 2023 г.)
- ЕНА2024 Hybrid Congress (Madrid, Spain, 2024 г.)
- 67th ASH Annual Meeting & Exposition (Orlando, FL, USA, 2025 г.)

По теме диссертации опубликовано 5 научных статей в журналах, рекомендуемых ВАК Министерства образования и науки РФ, из них 2 за первым авторством; а также 19 тезисных сообщений, в том числе 12 в англоязычных сборниках конференций.

Апробация диссертационной работы состоялась на заседании проблемной комиссии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России «Фундаментальные и клинические исследования в гематологии; проблемы клинической и производственной трансфузиологии» (протокол № 17 от 20.10.2025).

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 134 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Диссертационная работа содержит 20 таблиц, 24 рисунка и 1 приложение. В списке литературы представлено 187 литературных источников: 18 отечественных и 169 зарубежных.

## Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Клиническая характеристика и лечение больных хроническим миелолейкозом

Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) — это клональное опухолевое миелопролиферативное заболевание, развивающееся в результате злокачественного перерождения гемопоэтической стволовой клетки и характеризующееся повышенной экспансией клеток гранулоцитарного ростка кроветворения [6, 64]. В основе патогенеза ХМЛ лежит так называемая «Филадельфийская» (Ph) хромосома,  $t(9;22)(q34;q11)$ , с формированием химерного онкогена *BCR::ABL1* [90, 151]. Конститутивно активная *BCR::ABL1*-тирозинкиназа, действуя через различные сигнальные пути, подавляет гомеостатические механизмы, регулирующие клеточную пролиферацию; способствует невосприимчивости клеток к действию ингибирующих клеточный рост цитокинов и снижает апоптоз, за счет чего опухолевые клетки получают преимущество в выживании [148, 155, 160]. Несмотря на то, что драйверная мутация ХМЛ возникает в лейкоэмической стволовой клетке, которая является мультипотентной и имеет потенциал дифференциации в любую клетку крови, преимущество получают клетки гранулоцитарного ростка. Развитие по пути В-клеточной линии происходит в малой степени, и редко *BCR::ABL1* выявляется в предшественниках Т-лимфоцитов, при этом он отсутствует в зрелых CD3+ Т-лимфоцитах, что свидетельствует об элиминации лимфоцитов с химерным онкогеном по мере созревания [90,111].

На долю ХМЛ приходится порядка 11-15 % от всех случаев лейкозий и 0,5% от всех случаев онкологических заболеваний [50, 51]. Пик заболеваемости в Российской популяции приходится на возраст 50–59 лет, однако значительной остается доля молодых пациентов в возрасте до 40 лет – до 33% [3, 6]. Выделяют

три фазы заболевания: хроническая фаза (ХФ) устанавливается примерно у 94% пациентов с впервые выявленным ХМЛ, фаза акселерации (ФА) - у 3-5%, бластный криз (БК) - у 1-2 % больных [3, 148, 177]. В последнее время классификация ХМЛ пересматривается, и критерии ФА различаются у разных экспертных групп, а классификация ВОЗ 2022 г. предлагает концепцию ХМЛ как двухфазного заболевания, в котором есть только ХФ и БК [122,173].

В 40-х годах XIX века Р. Вирхов впервые применил термин “лейкемия”, описывая больных ХМЛ, однако, как самостоятельная нозологическая единица ХМЛ был выделен более 100 лет спустя, с открытием Ph-хромосомы в 1960 г. [48]. Впоследствии был идентифицирован слитный ген *BCR::ABL1*, и в 1998 г. впервые применен первый ингибитор тирозинкиназ (ИТК) иматиниб, что не только стало прорывом в лечении больных ХМЛ, но и позволило переосмыслить возможности терапии всех онкологических пациентов [95]. Механизм действия ИТК заключается в таргетном ингибировании *BCR::ABL1*-тирозинкиназы за счет блокады ее АТФ-связывающего кармана или миристоилового кармана и подавления ферментативной активности, дающей опухолевым клеткам пролиферативное преимущество.

Целью современной терапии является максимальное подавление опухолевого клона, предупреждение развития резистентности и прогрессирования заболевания, обеспечение длительной выживаемости при хорошем качестве жизни пациентов, а также достижение и сохранение ремиссии без лечения (РБЛ) [6]. Так, в эру ИТК 10-летняя общая выживаемость (ОВ) пациентов с ХМЛ в ХФ составляет 83% [114]. Продолжительность жизни больных, которые достигли полного цитогенетического ответа (ПЦО), что означает отсутствие Ph-хромосомы по данным стандартного цитогенетического исследования, сопоставима с таковой в популяции здоровых людей [101, 110]. Отмечается, что достижение ПЦО коррелирует с достижением MO2 - снижением относительной экспрессии *BCR::ABL1* на 2 lg или *BCR::ABL1* (IS) < 1%. Вероятность достижения ПЦО и большого молекулярного ответа (БМО), то есть снижения относительной экспрессии *BCR::ABL1* менее 0,1%, составляет 81-91% и 73-88% соответственно [13, 15, 33, 114]. У 30-50% пациентов через 5 лет

терапии отмечается достижение глубокого молекулярного ответа (ГМО): МО4 - снижение относительной экспрессии *BCR::ABL1* на 4 lg или  $BCR::ABL1 \leq 0,01\%$  в соответствии с международной шкалой (International Score, IS), МО4,5 - снижение экспрессии *BCR::ABL1* на 4,5 lg или  $BCR::ABL1 (IS) \leq 0,0032\%$ . У таких больных рассматривается возможность отмены терапии, при этом удачная попытка сохранения РБЛ отмечается в 40-50% случаев [12, 74, 150, 159]. Причины молекулярных рецидивов после попытки отмены терапии остаются предметом изучения, в частности исследуются биологические факторы, способствующие персистенции лейкоэмических стволовых клеток ХМЛ в костном мозге при достижении неопределяемого уровня *BCR::ABL1* [4, 99, 176].

Тактика лечения больных ХМЛ в случае неудачи терапии заключается в последовательной смене препаратов от ИТК 1 поколения (иматиниб) до ИТК2 (нилотиниб, дазатиниб, бозутиниб) и препаратов новых поколений, в том числе участие в клинических исследованиях [6, 82, 95]. Выбор ИТК зависит от фазы ХМЛ, наличия точечных мутаций в гене *BCR::ABL1*, коморбидного статуса больного. Показано, что на каждой последующей линии терапии вероятность достижения оптимального ответа снижается: вероятность достижения ПЦО во 2 линии составляет около 45%, БМО - 25-46% по данным разных исследований, а в 3 линии терапии ПЦО и БМО удастся достичь у 42% и у менее 25% больных соответственно [44, 68, 113, 130]. У пациентов с неудачей 2 линий терапии ИТК обсуждается вопрос о выполнении трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), которая остается потенциально излечивающим терапевтическим методом для некоторых пациентов с ХМЛ, но ее проведение связано со значительной вероятностью развития осложнений и смертностью [6, 82, 95, 106].

Для пациентов с неудачей 2 линий терапии в России в 2022-2023 гг. были зарегистрированы новые препараты: ИТК 3 поколения понатиниб и аллостерический ингибитор *BCR::ABL1*-тирозинкиназы асциминиб. Понатиниб проявляет активность в отношении опухолевого клона с мутацией T315I, которая

вызывает устойчивость к терапии ИТК 1 и 2 поколений. Кроме того, понатиниб продемонстрировал большую эффективность по сравнению с ИТК2 при применении у больных в ХФ в 3 и последующих линиях, а также в продвинутых фазах ХМЛ (ФА и БК), однако препарат обладает значительной кардиотоксичностью и не зарегистрирован для применения в 1 линии [28, 138].

Асциминиб - это первый препарат из класса STAMP-ингибиторов (Specifically Targeting the ABL Myristoyl Pocket), который в отличие от всех ранее известных ИТК взаимодействует с аллостерическим центром BCR::ABL1-тирозинкиназы – миристоиловым карманом, что позволяет ему проявлять активность в отношении клонов с мутациями BCR::ABL1, затрагивающими область АТФ-связывающего сайта, в том числе с мутацией T315I [1, 30, 149]. В клинических исследованиях I и III фазы при применении у больных ХМЛ в ХФ с неудачей терапии  $\geq 2$  ИТК показана его высокая эффективность и хороший профиль безопасности.

В исследовании I фазы 48 пациентов с мутацией T315I получали асциминиб в суточной дозе 400 мг, при этом у 49% больных был получен БМО к 96 неделе терапии [31]. По результатам клинического исследования III фазы ASCEMBL по сравнению эффективности асциминиба и бозутиниба у пациентов с ХМЛ в ХФ, ранее получавших  $\geq 2$  ИТК, ПЦО/МО2 на 96-й неделе терапии был достигнут у 45% и у 19% больных, БМО - у 38% и 16% больных в группе асциминиба и бозутиниба соответственно, таким образом асциминиб был более эффективен по сравнению с бозутинибом [32]. Наиболее частыми нежелательными явлениями (НЯ) были лабораторные НЯ (гематологическая токсичность, повышение липазы), отмечен благоприятный профиль сердечно-сосудистой токсичности асциминиба [31, 32]. В настоящее время препарат не зарегистрирован для применения в продвинутых фазах. Факторы риска неудачи терапии асциминибом в клинических исследованиях отражены недостаточно и продолжают изучаться в реальной клинической практике.

Больные ХМЛ с продвинутыми фазами (ФА и БК) имеют худший прогноз: медиана ОВ в фазе БК составляет 1-2 года, при этом ОВ выше у больных с впервые

диагностированным ХМЛ в ФА и БК, чем у больных с прогрессированием ХМЛ из ХФ [143, 181]. В эпоху ИТК частота прогрессирования ХМЛ к 11 годам не превышает 5-7%, и до сих пор не разработана оптимальная тактика лечения больных в продвинутых фазах [114]. С учетом фенотипа БК (лимфоидный/миелоидный), возраста и коморбидности пациента, применяются различные терапевтические подходы: монотерапия ИТК, применение ИТК в сочетании с химиотерапией или другими таргетными препаратами (ингибиторы BCL-2), экспериментальные подходы и участие в клинических исследованиях [63, 181]. Единым остается мнение о целесообразности выполнения алло-ТГСК, без этого подхода прогноз при БК ХМЛ остается неблагоприятным [6, 95].

## **1.2 Неудача терапии ингибиторами тирозинкиназ**

### **1.2.1 Причины неудачи терапии ингибиторами тирозинкиназ**

В рекомендациях European LeukemiaNet (ELN), National Comprehensive Cancer Network (NCCN), Национального гематологического общества (НГО) существует понятие «неудача терапии», которое подразумевает отсутствие целевого гематологического, цитогенетического или молекулярного ответа на лечение в контрольные сроки, что требует рассмотрения вопроса о смене терапии для снижения риска прогрессирования заболевания [82]. Поскольку *BCR::ABL1*-положительный клон генетически нестабилен, его персистенция в организме приводит к накоплению новых мутаций в лейкоэмических клетках, что способствует селекции резистентных к терапии ИТК опухолевых субклонов и в дальнейшем к прогрессированию заболевания в терминальную фазу. Таким образом, неудача терапии ассоциирована с повышенным риском прогрессирования заболевания [6]. В новых рекомендациях ELN 2025 термин неудача терапии заменен на "группа неблагоприятного прогноза", при этом суть остается прежней: для этих пациентов

предпочтительна смена ИТК [18]. Неудача терапии может быть связана не только с биологическими особенностями опухоли, но с другими факторами, которые представлены ниже.

Непереносимость терапии – частая причина неудач, которая характеризуется развитием НЯ, препятствующим проведению терапии в рекомендованном режиме. НЯ могут носить транзиторный характер или усиливаться со временем, их спектр и степень варьирует в зависимости от конкретного применяемого ИТК и индивидуальных особенностей пациента. Обусловленное токсичностью нарушение режима приема препарата - перерывы в лечении, снижение дозировки – может привести к недостижению или потере оптимального ответа на терапию [96]. Для достижения и поддержания оптимального ответа важна высокая приверженность больного к лечению и доступность препаратов, и нередко низкая комплаентность является причиной неудачи терапии. Кроме того, наступление беременности на фоне ХМЛ требует немедленной отмены терапии ИТК и может приводить к потере ответа, который не всегда удается восстановить после возобновления лечения. Замена препарата может осуществляться при наличии субоптимального ответа на терапию с учетом характеристик пациента (возраст, образ жизни, сопутствующие заболевания и переносимость препарата) для снижения риска прогрессирования заболевания, а также для достижения конкретных целей терапии – например, необходимости индуцировать ГМО для наблюдения в РБЛ [82].

Резистентность заболевания характеризуется нечувствительностью опухолевого клона к лечению, проводимому в рекомендованном режиме. Резистентность может быть первичной (недостижение ответа) и вторичной (потеря ранее достигнутого ответа). Условно возможно обозначить гематологическую, цитогенетическую и молекулярную резистентность (отсутствие целевых ответов, подтвержденных соответствующими лабораторными методами исследования). В клинических исследованиях, где изучали причины неудачи терапии ИТК, на долю

резистентности приходилось 10-20% пациентов, получающих иматиниб, и <10% пациентов, получающих ИТК2 в первой линии [82, 84, 112].

С учетом всех описанных причин (резистентность, НЯ, низкая комплаентность, субоптимальный ответ, решение врача и др.), замена иматиниба в 1 линии происходит у порядка 30-50% пациентов с первичным ХМЛ в ХФ. Доля больных с неудачей терапии во 2 линии растет: у 60-70% пациентов отсутствует БМО, и у 50-56% не удается достичь ПЦО к двум годам терапии 2 линии [44, 45, 131]. Выбор терапии у больных с неудачей  $\geq 2$  линий терапии ИТК является сложной клинической задачей, для решения которой разрабатываются новые терапевтические подходы как с использованием ИТК новых поколений, так и с применением других противоопухолевых препаратов [66].

Механизмы резистентности опухолевого клона к терапии ИТК могут различаться. Условно их подразделяют на связанные с драйверным онкогеном *BCR::ABL1* (мутации киназного домена (КД) *BCR::ABL1*, особенности формирования *BCR::ABL1* и Ph-ассоциированные перестройки, амплификация и гиперэкспрессия *BCR::ABL1*) и связанные с другими *BCR::ABL1*-независимыми факторами (дополнительные хромосомные аномалии (ДХА), соматические мутации различных генов, влияние микроокружения и покоящиеся лейкемические клетки, нарушение регуляции микроРНК и эпигенетической регуляции, активация дополнительных онкогенных путей).

### 1.2.2 Мутации *BCR::ABL1* и их роль в развитии резистентности

Точечные мутации в гене *BCR::ABL1*, которые напрямую препятствуют взаимодействию тирозинкиназы с ИТК, являются одной из самых частых и наиболее изученных причин резистентности при ХМЛ [11, 182]. Мутации КД *BCR::ABL1* встречаются у трети больных с резистентностью ХМЛ в ХФ и у 2/3 больных в ФА/БК [82]. Предполагается, что в некоторых ситуациях опухолевые

клетки с мутацией КД *BCR::ABL1* могут существовать уже на момент постановки диагноза, но не детектируются ввиду большой массы чувствительной к ИТК опухоли; при этом со временем на фоне терапии ИТК происходит селекция резистентного к терапии клона. Также мутации *BCR::ABL1* могут появляться в течение болезни из-за генетической нестабильности клеток опухолевого клона [161, 163].

В литературе описано более 90 мутаций *BCR::ABL1*, ассоциированных с устойчивостью к терапии иматинибом, большинство из них редкие и встречаются в 1-2% случаев [46]. В то же время мутации в 15 позициях (T315I, Y253F/H, E255K/V, M351T, G250E, F359C/V, H396R/P, M244V, E355G, F317L, M237I, Q252H/R, D276G, L248V, F486S) встречаются в 60-85% случаев [29, 62, 86, 124]. При разных мутациях гена *BCR::ABL1* возникает частичная или полная устойчивость к терапии одним или несколькими ИТК. Для лечения больных с резистентными к иматинибу мутациями применяются ИТК2 (нилотиниб, дазатиниб, бозутиниб), ИТК 3 поколения понатиниб или STAMP-ингибитор асциминиб. Выбор препарата осуществляется с учетом спектра чувствительности мутантных клонов по данным исследований *in vitro* и клинических данных. Эффективность воздействия конкретного ИТК в исследованиях *in vitro* оценивают посредством определения 50%-й максимальной ингибирующей концентрации (IC50), т. е. концентрации лекарственных препаратов, способной снизить на 50% фосфорилирующую активность изолированной мутантной формы *BCR::ABL1*-киназы (биохимический тест) либо пролиферативную активность Ph-положительных клеточных линий (пролиферативный тест) [13, 36]. Данные исследований чувствительности мутантного клона *in vitro* используются как приблизительный ориентир при выборе терапии тем или иным ИТК и представлены в публикациях в виде «цветных» таблиц (Таблица 1).

Таблица 1 - Чувствительность клонов к ингибиторам тирозинкиназ при различных мутациях гена *BCR::ABL1 in vitro* [11]

		Показатели IC <sub>50</sub> в сравнении с «диким» типом («дикий» тип = 1)				
		Иматиниб	Бозутиниб	Дазатиниб	Нилотиниб	Понатиниб
	Тип клеток	10.8	38.3	568.3	38.4	570.0
	«Дикий» тип	1	1	1	1	1
Р-петля	M244V	0.9	0.9	2.0	1.2	3.2
	L248R	14.6	22.9	12.5	30.2	6.2
	L248V	3.5	3.5	5.1	2.8	3.4
	G250E	6.9	4.3	4.4	4.6	6.0
	Q252H	1.4	0.8	3.1	2.6	6.1
	Y253F	3.6	1.0	1.6	3.2	3.7
	Y253H	8.7	0.6	2.6	36.8	2.6
	E255K	6.0	9.5	5.6	6.7	8.4
С-спираль	E255V	17.0	5.5	3.4	10.3	12.9
	D276G	2.2	0.6	1.4	2.0	2.1
	E279K	3.6	1.0	1.6	2.0	3.0
АТФ-связывающий участок (контактирующий с препаратом)	E292L	0.7	1.1	1.3	1.8	2.0
	V299L	1.5	26.1	8.7	1.3	0.6
	T315A	1.7	6.0	58.9	2.7	0.4
	T315I	17.5	45.4	75.0	39.4	3.0
	T315V	12.2	29.3	738.8	57.0	2.1
	F317L	2.6	2.4	4.5	2.2	0.7
	F317R	2.3	33.5	114.8	2.3	4.9
SH2-контакт	F317V	0.4	11.5	21.3	0.5	2.3
	M343T	1.2	1.1	0.9	0.8	0.9
	M351T	1.8	0.7	0.9	0.4	1.2
Субстрат-связывающий участок	F359I	6.0	2.9	3.0	16.3	2.9
	F359V	2.9	0.9	1.5	5.2	4.4
А-петля	L384M	1.3	0.5	2.2	2.3	2.2
	H396P	2.4	0.4	1.1	2.4	1.4
	H396R	3.9	0.8	1.6	3.1	5.9
С-концевая область	F486S	8.1	2.3	3.0	1.9	2.1
Чувствительный		≤ 2				
Слабо чувствительный		2,01-4				
Резистентный		4,01-10				
Высокорезистентный		> 10				

Адаптировано из Redaelli S. с соавт. и Deininger M. [21, 72]

Поскольку метод определения чувствительности мутантных клонов *in vitro* не является унифицированным и стандартизированным, значения часто не совпадают у разных авторов и по сравнению с данными, полученными *in vivo*. Поэтому необходимо при принятии решения о смене ИТК учитывать, помимо

мутационного статуса *BCR::ABL1*, также другие не менее важные клинические и биологические параметры, такие как история заболевания, факторы риска, сопутствующая патология, другие генетические аномалии [36].

С внедрением в практику высокопроизводительного секвенирования (ВПС; Next Generation Sequencing - NGS) появилась возможность выявлять низкоуровневые мутации *BCR::ABL1* с аллельной нагрузкой (Variant Allele Frequency – VAF) 1-20%, в то время как чувствительность метода секвенирования по Сэнгеру позволяет определить лишь мутации с VAF 15-20% [71, 129]. В исследовании Soverini с соавт. показана более высокая частота обнаружения мутаций *BCR::ABL1* при использовании метода ВПС, при этом у некоторых больных с минорными клонами (VAF 1-20%) при дальнейшем динамическом наблюдении отмечалась экспансия мутантного клона и развитие резистентности [145]. Помимо этого, при наличии нескольких мутаций *BCR::ABL1* ВПС может позволить количественно оценить VAF каждой мутации и косвенно определить, находятся ли мутации в одном клоне клеток (комбинированные мутации) или в разных клетках [129]. Было показано, что комбинированные мутации редко обнаруживаются у пациентов с неудачей терапии несколькими ИТК при ХФ ХМЛ (3,7%) и часто при ФА/БК ХМЛ или Ph-положительном ОЛЛ (30%) [37]. При этом большинство резистентных клонов имеют двойные комбинированные мутации. Клоны с  $\geq 3$  мутациями *BCR::ABL1* обычно элиминируются, вероятно, потому, что чрезмерная мутационная нагрузка ослабляет активность *BCR::ABL1*-тирозинкиназы. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* показано, что комбинированные мутации были устойчивы к монотерапии ИТК, в том числе понатинибом и асциминибом [37, 60]. Таким образом, изменение мутационного статуса может происходить во время лечения, при его смене, при прогрессировании, и в таких ситуациях динамическое отслеживание мутаций с помощью ВПС позволяет более точно подобрать эффективную терапию.

Для выбора наиболее подходящего ИТК больному с мутацией *BCR::ABL1* рекомендуется руководствоваться данными о чувствительности, полученными *in*

*vivo*, то есть подтвержденными клиническим опытом (Таблица 2). Среди мутаций устойчивости к ИТК особо выделяется Т315I, ассоциированная с резистентностью к терапии всеми ИТК 1 и 2 поколений. Для лечения больных с мутацией Т315I применяется понатиниб и аллостерический ИТК асциминиб, а также проводятся исследования других препаратов ИТК, потенциально активных в отношении клонов с мутацией Т315I (олверембатиниб, вамотиниб) [132, 137].

Таблица 2 - Мутации *BCR::ABL1* устойчивости к ИТК по данным *in vivo* [83]

Лекарственная резистентность к ИТК	Вариант мутации
Дазатиниб	V299L, T315I/A, F317L/V/I/C
Нилотиниб	Y253H, E255K/V, T315I, F359V/I/C
Бозутиниб	E255K, V299L, T315I
Понатиинб	T315M/L
Асциминиб*	G109D, Y115N, M244V, V289I, A337V/T, E355G, F359V, E462K, G463D/S, P465S, V468F, S501R, I502L

\*Для мутаций устойчивости к асциминибу список является предварительным и включает мутации, которые определялись в исследованиях *in vitro* и впервые появились у пациентов, с резистентностью к асциминибу в опубликованных клинических исследованиях [30, 31, 32, 60]. Для составления более достоверного списка потребуются дополнительные клинические данные.

### 1.2.2.1 Мутации *BCR::ABL1* устойчивости к асциминибу

В отличие от АТФ-конкурирующих ИТК, асциминиб связывается с аллостерическим центром *BCR::ABL1*-тирозинкиназы – миристоиловым карманом, оказывая ингибирующее действие в отношении клонов с мутациями в области АТФ-связывающего участка (Рисунок 1) [149]. В то же время в исследованиях *in vitro* и *in vivo* было показано, что на фоне терапии асциминибом могут появляться мутации миристоилового кармана, и в настоящее время продолжается сбор данных о новых мутациях устойчивости у пациентов, получающих терапию асциминибом в рамках исследований и в клинической практике [20, 149, 174].

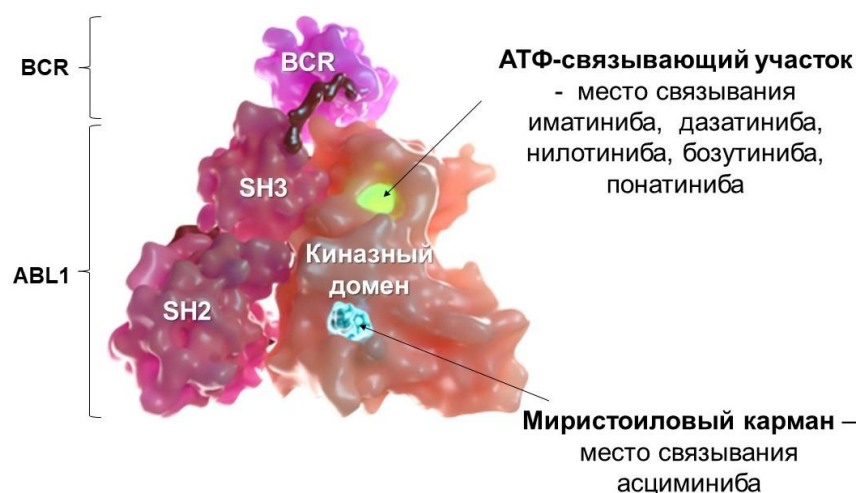


Рисунок 1 - Структура белка BCR::ABL1 с обозначением мест связывания с ИТК

Адаптировано из Р. Manley с соавт. [117]

Так же, как и мутации АТФ-связывающего сайта, мутации миристоилового кармана могут влиять на динамику белка в целом, связывание АТФ и субстрата, активность фермента [98, 117]. Некоторые аминокислотные замены в миристоиловом кармане ингибируют пространственное связывание асциминиба: к ним относятся G463D/S, P465S, V468F и I502L. Мутации в промежуточных областях (G109D, Y115C/D, P223S и K294E) дестабилизируют третичную структуру белка, препятствуя переходу BCR::ABL1-тирозинкиназы в неактивное пространственное состояние. Мутации в сайте связывания АТФ (T315I и F359V), а также A337V в миристоиловом кармане, вероятно, приводят к нарушению динамики белка [98, 117].

Степень устойчивости мутантного клона к асциминибу может варьировать. Так, в исследовании *in vitro* препарат в стандартных дозировках проявлял низкую антипролиферативную активность в отношении клонов с мутацией T315I, но показал эффективность при применении в повышенной дозе [117]. Кроме того, по данным исследований *in vitro*, эффективность асциминиба при наличии мутаций G109D, Y115C/D, P223S, K294E, P242S и K313E снижена незначительно [117]. Также последние данные свидетельствуют о том, что мутации в кодоне 359 АТФ-связывающего фрагмента КД (F359V/C/I), могут быть ассоциированы с устойчивостью к лечению асциминибом [60, 75, 149, 174]. При этом ИТК2

проявляют активность в отношении клонов с мутациями миристоилового кармана [117]. В связи с этим, в последнее время проводятся исследования по изучению сочетанного применения асциминиба с АТФ-конкурирующими ИТК для эффективного ингибирования клонов с резистентными мутациями обоих центров связывания [59, 158].

В таблице 2 суммированы данные о мутациях *BCR::ABL1*, выявленных *in vitro* и в клинических исследованиях по применению асциминиба, однако для подтверждения клинической значимости мутаций требуются дополнительные данные [83]. В исследовании 1 фазы у 7 из >100 больных описано появление 12 новых мутаций (V468F, I502L, E355G, G463D/S, P465S, G109D, A337T, F359I, Y115N, V289I, M244V); у всех пациентов на момент определения мутационного статуса БМО был потерян или не был достигнут [30, 31]. По результатам двухлетнего наблюдения в исследовании 3 фазы ASCEMBL из 157 пациентов, получающих асциминиб, 39 прекратили лечение в связи резистентностью [32]. У 4 из 39 больных на фоне лечения появились мутации миристоилового кармана (A337T - n=3, P465S), у 6 из 39 больных - мутации АТФ-связывающего сайта *BCR::ABL1* (M244V - n=3, E355G, F359V, T315I), у 6 из 39 больных мутации сохранялись с начала до завершения терапии асциминибом (F317L - n=2, F359C/V - n=3, Y253H). У 4 из 33 больных, прекративших терапию асциминибом в исследовании по другим причинам, сохранялись мутации миристоилового кармана (E462K), и другие мутации *BCR::ABL1* (T315I - n=2, F359V) [32].

### 1.2.3 Другие механизмы резистентности

Появление некоторых ДХА в Ph-положительных клетках ассоциировано с неблагоприятным прогнозом и более высоким риском прогрессирования и смерти у больных ХМЛ [95, 102]. Частота появления ДХА среди всех больных ХМЛ составляет <10% [2]. По некоторым данным, ДХА выявлялись у 50% пациентов с

резистентностью или рецидивом ХМЛ в ХФ и ФА, и у 73% пациентов в БК [152]. К наиболее часто встречающимся аномалиям («major route») относятся: трисомии 8, 19, 21, 17; удвоение Ph-хромосомы; изохромосома 17. Реже встречаются («minor route») моносомия 7; делеция 7q; перестройки хромосомного района 3q26.2 и 11q23 [77, 152, 153]. При этом к ДХА высокого риска относятся +8, +19; +Ph; i(17q); -7/7q, 3q26.2, а также комплексные aberrации ( $\geq 2$  ДХА). Из этих ДХА наиболее прогностически неблагоприятными являются -7/7q-, 3q26.2 и комплексные aberrации, в то время как трисомия 8, по данным некоторых работ, в изолированном виде не оказывала значительного влияния на прогноз [95, 144, 153]. Механизмы резистентности при разных хромосомных aberrациях имеют свои особенности, например, аномалия 17 хромосомы может приводить к изменению функции гена *TP53* и инактивации белка p53, обладающего в норме апоптотической активностью, таким образом снижая общий эффект от терапии ИТК [115, 144].

Известно, что на экспрессию генов и функциональную активность белков влияют процессы эпигенетического метилирования и посттрансляционного ацетилирования, в частности, эпигенетическое метилирование негистоновых белков может поддерживать клеточную пролиферацию и устойчивость к апоптозу [39]. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* продемонстрирована ассоциация нарушения эпигенетической регуляции и резистентности при ХМЛ, а также потенциальная эффективность применения гипометилирующих препаратов у больных с резистентностью к ИТК, однако для подтверждения этих данных требуются дополнительные исследования [39, 80, 136].

Кроме того, обсуждаются фармакокинетические причины устойчивости к терапии ИТК, особенности индивидуальной биодоступности препарата, нарушение работы транспортных белков, активация альтернативных сигнальных путей, обуславливающих выживание опухолевых клеток независимо от *BCR::ABL1* [24, 49, 97, 139, 147, 162]. Гиперэкспрессия *BCR::ABL1* у некоторых пациентов может быть ассоциирована с неэффективностью терапии ИТК в стандартных дозах и прогрессированием заболевания [35]. Значимую роль в развитии рецидива ХМЛ,

в том числе после отмены терапии, играют покоящиеся лейкемические клетки и их взаимодействие с компонентами микроокружения [121, 154]. Помимо этого, в последние годы активно изучается роль соматических мутаций различных генов у больных ХМЛ, которые могут способствовать нарушению регуляции клеточного цикла, выживанию опухолевой клетки и развитию резистентности, что будет подробно изложено далее.

### **1.3 Молекулярно-генетический профиль клеток крови у больных хроническим миелолейкозом**

#### **1.3.1 Основы и применение метода высокопроизводительного секвенирования**

В 2004 г. на рынке появились системы для проведения секвенирования нового поколения – NGS или ВПС, которые благодаря своей производительности позволили сделать более доступным процесс расшифровки нуклеотидной последовательности целого генома, экзона или транскриптома [187]. В настоящее время этот метод является рутинным во многих лабораториях мира для определения наследственных и приобретенных (соматических) мутаций. Каждый ген в панели может быть секвенирован полностью или только частично (например, области горячих точек – участков, в которых частота возникновения мутаций или рекомбинаций очень велика). Высокая пропускная способность может быть использована для охвата целых геномов, экзотов или транскриптомов за один цикл секвенирования или для фокусирования на группе генов или генетических регионов, которые будут секвенированы сотни или тысячи раз, что позволяет достичь высокой чувствительности – так называемое «глубокое» или «сверхглубокое» секвенирование, которое в настоящее время представляет собой основное диагностическое применение ВПС [129]. Предел обнаружения

мутантного клона при ВПС может составлять всего 1%. Теоретически возможна более высокая чувствительность (за счет увеличения глубины секвенирования - т.е. количества прочтений, покрывающих данную нуклеотидную позицию), но ниже порога в 1% фоновый шум ошибок, возникающий как из-за неправильного встраивания ПЦР, так и из-за ошибок секвенирования, обычно не позволяет достоверно отличить истинные генетические варианты, что критично важно для клинической интерпретации и применения; в некоторых работах по тем же причинам порог обнаружения повышают до 3-5% [129, 145].

Последние достижения в технологии ВПС позволили подробно исследовать генетические аномалии при различных миелоидных новообразованиях, включая острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), миелодиспластический синдром (МДС) и миелопролиферативные новообразования (МПН). Для больных ОМЛ прогностическая стратификация основана на молекулярно-генетическом профиле больных, включающем мутации в генах *FLT3*, *NPM1*, *CEBPA* и других, а также слияния генов, при этом спектр прогностически значимых мутаций генов постоянно расширяется [73]. Показано, что наличие мутаций *FLT3*, *ASXL1*, *RUNX1* или *TP53* у больных ОМЛ ассоциировано с неблагоприятным прогнозом, тогда как наличие биаллельной мутации *CEBPA* ассоциируется с благоприятным исходом [73]. Таким образом, система стратификации риска на основе молекулярно-генетического профиля кроветворных клеток у больных ОМЛ помогает в определении прогноза заболевания, тактики лечения, а также способствует разработке и применению новых таргетных препаратов [73].

Прогностическая стратификация больных ХМЛ по группам риска на момент диагностики заболевания проводится с использованием шкал ELTS [141], Sokal [88], EUTOS [140], основанных на таких клинико-лабораторных параметрах, как возраст пациента, размеры селезенки, число тромбоцитов, процент бластных клеток в крови и др. Молекулярные маркеры не являются прогностически значимыми факторами у больных ХМЛ в ХФ на момент диагностики, а анализ мутаций *BCR::ABL1* и оценка ДХА проводится только на фоне лечения при

развитии резистентности или в ФА и БК ХМЛ. В последние годы по мере совершенствования методик секвенирования генов появляется все больше публикаций, посвященных исследованию спектра и роли разных соматических мутаций у больных ХМЛ.

### **1.3.2 Клональное кроветворение и его связь с гематологическими заболеваниями**

Клональное кроветворение (КК) определяется как несбалансированное увеличение числа потомков одной гемопоэтической стволовой клетки-предшественницы (ГСКП). КК возникает в результате соматических мутаций в генах, ассоциированных со злокачественными новообразованиями системы крови, которые повышают способность ГСКП к самообновлению и/или наделяют их конкурентным преимуществом в размножении по отношению к остальным клеткам крови [94]. По современным понятиям, КК характеризуется  $VAF \geq 2\%$  [169]. Согласно этому определению, КК может быть выявлено менее чем у 1% людей моложе 40-50 лет, примерно у 10% людей в возрасте 65-79 лет, у 12% людей в возрасте 80-89 лет и более чем у 15-20% людей в возрасте 90 лет и старше; таким образом, его частота увеличивается с каждым десятилетием жизни, что может затруднить диагностику гематологических опухолей, особенно у пожилых пациентов [2, 41, 61, 107]. При использовании более чувствительных лабораторных методов и учитывании более низкого уровня VAF (например,  $>0,01-2\%$ ), КК окажется повсеместно распространенным состоянием среди взрослой человеческой популяции [55]. В основном такие клоны остаются стабильными с течением времени при длительном наблюдении и показывают незначительное пролиферативное преимущество, а клиническое значение таких доброкачественных низкоуровневых гемопоэтических клонов остается неясным.

КК неясного потенциала (ККНП) характеризуется отсутствием изменений в периферической крови или других признаков заболевания системы крови и подразумевает приобретение мутаций разных генов как часть процесса старения. В то же время ККНП ассоциируется с повышенным риском развития гематологических злокачественных новообразований, таких как ОМЛ, МДС и МПН; однако его роль в патогенезе ХМЛ остается неясной [5, 56, 169, 185].

Предположительно, ККНП можно рассматривать как определенную стадию развития от нормального кроветворения до появления гематологических новообразований. Тем не менее, у большинства людей, имеющих эти мутации, злокачественное новообразование системы крови не развивается в течение жизни; предполагаемый риск прогрессирования составляет от 0,5% до 1% в год [56]. Однако, риски различаются в зависимости от некоторых факторов. Установлено, что наличие более чем одной соматической мутации, мутации в определенных генах (таких как *IDH1/2* или гены механизма сплайсинга, в отличие от более часто мутирующих *DNMT3A*, *TET2* и *ASXL1*) и более высокий показатель VAF являются предикторами развития злокачественных гематологических заболеваний [23, 64, 172].

При КК наиболее часто выявляются мутации генов *DNMT3A*, *TET2*, *ASXL1*, *TP53*, *IDH1*, *IDH2*, *SF3B1*, *SRSF2*, *ZRSR2*, *U2AF1*. Мутации этих и других генов встречаются у больных гематологическими заболеваниями. Функции некоторых генов и частота встречаемости их мутаций при миелоидных новообразованиях представлены в Таблице 3 и описаны ниже. Клиническое значение и влияние на прогноз мутаций генов различается среди разных нозологий, но мутации некоторых генов ассоциируются с неблагоприятным прогнозом при большинстве миелоидных новообразований (*ASXL1*, *RUNX1*, *TP53*) [116, 118, 183].

Таблица 3 - Функции генов, ассоциированных с клональным кроветворением, и частота встречаемости их мутаций при некоторых гематологических заболеваниях

Ген	Локус	Функциональная классификация	Частота встречаемости мутаций при заболеваниях, %		
			ОМЛ [118]	МДС [93]	Rh-негативные МПН [116]
<i>ASXL1</i>	20q11	Модификация хроматина	15	10-20	2-35
<i>DNMT3A</i>	2p23	Метилирование ДНК	24	~8	1-12
<i>IDH1</i>	2q34	Метилирование ДНК	10	~2	1-6
<i>IDH2</i>	15q26.1	Метилирование ДНК	15	~2	1-6
<i>TET2</i>	4q24	Метилирование ДНК	22	~20	3-20
<i>SF3B1</i>	2q33.1	Сплайсинг РНК	6	~20	<2-7
<i>SRSF2</i>	17q25.1	Сплайсинг РНК	16	~12	<2-14
<i>U2AF1</i>	21q22.3	Сплайсинг РНК	6	~7	<2-10
<i>ZRSR2</i>	Xp22.2	Сплайсинг РНК	-	~3	-
<i>TP53</i>	17p13.1	Супрессор опухолей, репарация ДНК	17	~10	<2-5
<i>WT1</i>	11p13	Супрессор опухолей, фактор транскрипции	6	-	-
<i>JAK2</i>	9p24.1	Активация сигнальных путей	5	5% МДС, 50% МДС/МПН	60-98
<i>ABL1</i>	9q34.12	Активация сигнальных путей	0,4	-	-
<i>FLT3</i>	13q12.2	Активация сигнальных путей	25	~2	-
<i>KIT</i>	4q12	Активация сигнальных путей	3	~1	-
<i>RUNX1</i>	21q22.12	Фактор транскрипции	19	~15	<2-3
<i>CEBPA</i>	19q13.11	Фактор транскрипции	6	1-4	-
<i>GATA2</i>	3q21.3	Фактор транскрипции	3	<5	-
<i>NPM1</i>	5q35.1	Фактор транскрипции, множественные функции	22	~2	-

ОМЛ – острый миелоидный лейкоз, МДС – миелодиспластический синдром, МПН – миелопролиферативные новообразования, ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота, РНК – рибонуклеиновая кислота.

С начала 2000-х годов мутации гена *RUNX1* часто описывались при лейкозах [128]. Белок RUNX1 вовлечен в регуляцию нормальной дифференцировки гемопоэтических клеток, а также обладает свойствами супрессора опухолей; потеря функции гена способствует развитию миелоидных новообразований [25].

Ген *TET2* участвует в эпигенетической регуляции метилирования ДНК и является ключевым регулятором самообновления и дифференцировки гемопоэтических стволовых клеток. Его мутации ассоциируются с КК, а также могут быть ранним генетическим событием лейкемогенеза, приводя к миелоидной гиперплазии с нарушением дифференцировки клеток крови [146]. Мутации в генах *IDH1/2* способствуют гиперметилированию ДНК и, кроме того, приводят к ингибированию функции белка TET2 [9].

Белок ASXL1 участвует в эпигенетической регуляции экспрессии генов, а мутации *ASXL1* могут приводить к развитию миелоидных неоплазий и часто встречаются при хроническом миеломоноцитарном лейкозе (ХММЛ) (43%), вторичном ОМЛ (47%); реже при других миелопролиферативных заболеваниях [8].

Фермент DNMT3A выполняет функцию метилирования ДНК *de novo*, а мутации гена приводят к снижению его активности и обнаруживаются примерно в 20% случаев ОМЛ с неблагоприятным исходом и у 8% больных МДС [8].

Тирозинкиназа JAK2 участвует в активации сигнального пути JAK-STAT, обеспечивающего регуляцию пролиферации, дифференцировки, апоптоза и выживания клеток. Мутации *JAK2* являются ключевым звеном патогенеза хронических Ph-негативных МПН и определяются у 95-98% больных истинной полицитемией, 50-70% - эссенциальной тромбоцитемией, 40-50% - первичным миелофиброзом, а также встречаются при ХММЛ (в 2-13% случаев), ОМЛ (менее 10%), некоторых МДС/МПН [8].

Антионкоген *TP53* играет решающую роль в регуляции клеточного цикла, апоптоза, репарации ДНК, и потеря его функции связана с появлением различных злокачественных опухолей [89].

Интересно отметить, что связанные с КК мутации генов могут постоянно выявляться у больных гематологическими заболеваниями в период ремиссии, то есть в неопухолевых клетках. В недавнем исследовании было показано, что обнаружение некоторых мутаций, ассоциированных с КК (*DNMT3A*, *TET2* и *ASXL1*), у больных ОМЛ в период ремиссии не является прогностически значимым для рецидива, в то время как выявление мутаций остальных генов миелоидной панели в ремиссии, даже с небольшой аллельной нагрузкой, ассоциировалось с развитием рецидива [119].

В исследованиях, касающихся ХМЛ, сообщалось о слабой корреляции между возрастом и количеством соматических мутаций. Это позволяет предположить, что некоторые соматические мутации при ХМЛ могут быть частью ККНП [88, 164, 165]. Секвенирование Ph-отрицательных образцов на момент ремиссии или образцов Т-клеток от пациентов с ХФ ХМЛ позволило выявить предлейкемические мутации во многих генах, связанных с ККНП, включая *DNMT3A*, *TP53*, *TET2*, *ASXL1*, *BCOR* и *CREBBP*, которые были обнаружены как в лейкемических, так и в нелейкемических клетках [120, 122, 166, 167]. Таким образом, нельзя исключить, что КК может быть плацдармом для появления перестройки *BCR::ABL1*.

На данном этапе достоверно неизвестно, какую роль КК играет в развитии ХМЛ, как часто химерный онкоген *BCR::ABL1* возникает в клоне с соматической мутацией, насколько отличается прогноз у больных с наличием или отсутствием соматических мутаций и КК. Эти и другие вопросы являются предметом изучения для исследователей.

### **1.3.3 Спектр и частота встречаемости соматических мутаций различных генов у больных хроническим миелолейкозом**

Некоторые мутации генов, часто встречающиеся и имеющие прогностическое значение при других миелоидных новообразованиях, также

выявлялись у больных ХМЛ, но относительно редко [105, 108, 166]. С внедрением в практику методики ВПС, в литературе стало появляться больше сообщений о больных ХМЛ с различными соматическими мутациями генов [26, 108, 125, 175]. В настоящее время в мире продолжается изучение спектра, частоты встречаемости соматических мутаций генов у больных ХМЛ и их возможного влияния на прогноз для улучшения тактики ведения больных. В Таблице 4 представлены данные мета-анализа исследований по изучению частоты встречаемости мутаций генов у больных ХМЛ: в 15 исследованиях были описаны больные в ХФ, в 20 исследованиях - больные в продвинутых фазах [108].

Таблица 4 - Частота встречаемости мутаций генов у больных хроническим миелолейкозом [108]

Ген	Диагностика ХМЛ в ХФ			ХМЛ в ФА/БК		
	Общее число больных	Число больных с мутациями	Доля больных с мутациями, %	Общее число больных	Число больных с мутациями	Доля больных с мутациями, %
<i>RUNX1</i>	349	9	2,6	191	35	18,3
<i>IKZF1 del</i>	49	3	6,1	106	17	16,0
<i>ASXL1</i>	518	50	9,7	199	30	15,1
<i>BCORL1</i>	109	1	0,9	58	5	8,6
<i>GATA2</i>	109	0	0	143	12	8,4
<i>TET2</i>	439	4	0,9	165	11	6,7
<i>WT1</i>	224	0	0	105	6	5,7
<i>DNMT3A</i>	348	8	2,3	66	3	4,5
<i>TP53</i>	237	4	1,7	206	8	3,9
<i>SETBP1</i>	209	0	0	58	2	3,4
<i>SETD1B</i>	109	3	2,8	58	2	3,4
<i>PHF6</i>	209	0	0	66	2	3,0
<i>BCOR</i>	209	0	0	66	2	3,0
<i>PTPN11</i>	209	1	0,5	67	2	3,0
<i>IDH1</i>	489	1	0,2	285	8	2,8
<i>IDH2</i>	489	0	0	285	6	2,1
<i>CBLB</i>	209	0	0	98	2	2,0
<i>JAK2</i>	323	5	1,5	111	2	1,8
<i>NRAS</i>	224	0	0	191	2	1,6
<i>KMT2D</i>	333	4	1,2	66	1	1,5
<i>CBL</i>	224	2	0,9	145	2	1,4
<i>KRAS</i>	224	0	0	191	2	1,0
<i>IKZF1 SNV</i>	333	4	1,2	126	1	0,8
<i>EZH2</i>	348	2	0,6	67	0	0

ХМЛ – хронический миелолейкоз, ХФ – хроническая фаза, ФА – фаза акселерации, БК – бластный криз, SNV – single nucleotide variant (однонуклеотидный вариант).

В большинстве исследований, включенных в мета-анализ, не были подробно описаны клинические характеристики пациентов или различались принципы отбора больных, виды биообразцов для секвенирования (использование несортированных или отселектированных клеток), методы секвенирования (прямое секвенирование, ВПС), количество скринируемых генов в таргетных панелях для ВПС. Кроме того, преимущественно в исследования были включены небольшие выборки больных, в связи с чем сложно судить по их результатам об истинной частоте встречаемости разных соматических мутаций у больных ХМЛ. В связи с этим в настоящее время проводится попытка систематизации и анализа данных, полученных в разных исследованиях, в рамках международной программы HARMONY CML по изучению соматических мутаций у больных ХМЛ [57].

Важным аспектом для исследователей является установление порога уровня экспрессии *BCR::ABL1*, при котором возможно обнаружение соматических мутаций в опухолевом клоне при исследовании образца ДНК. По данным некоторых авторов, для правильной интерпретации данных и оценки соматических мутаций в опухолевом клоне рекомендуемым уровнем относительной экспрессии *BCR::ABL1* является >2–5% по международной шкале (IS) при секвенировании геномной ДНК методом ВПС [40].

Конкретные терапевтические опции для пациентов с дополнительными мутациями ограничены и находятся в стадии изучения. В настоящее время продолжают исследования по разработке таргетной терапии для больных лейкозами с некоторыми соматическими мутациями, которые нередко встречаются при ХМЛ. Например, исследуют применение ретиноидов для больных с мутациями *IKZF1* [79]; анти-CD19+ CAR-T-клетки, ингибиторы mTOR, BCL2 и VEGFR, а также глюкокортикоиды - при мутациях *RUNX1* [78, 133, 157, 171]; ингибиторы BAP1 и ингибиторы BET-белков - для носителей мутаций *ASXL1* [81, 91].

### 1.3.4 Молекулярно-генетический профиль клеток крови у больных на момент диагностики хронического миелолейкоза

Установлено, что генетический ландшафт у больных ХМЛ может быть разнообразным уже на момент диагностики [108]. По данным мета-анализа, обобщающего 15 исследований для изучения частоты встречаемости соматических мутаций генов (анализ сосредоточен на однонуклеотидных заменах, малых инсерциях и делециях, делециях экзонов *IKZF1*), среди больных ХМЛ в ХФ на момент диагностики наиболее часто встречались мутации генов *ASXL1*, делеции экзонов *IKZF1*, мутации *RUNX1*, *SETD1B*, *DNMT3A* [108].

У большинства пациентов был проанализирован ген *ASXL1* (518 пациентов), он же чаще всего мутировал у больных ХМЛ в ХФ - у 9,7% всех протестированных пациентов. В одном клиническом исследовании мутации *ASXL1* были обнаружены у 8 (9%) из 91 пациентов на момент диагностики ХМЛ, но их прогностическое значение не было определено: 3 из 8 больных с мутацией *ASXL1* достигли БМО, у остальных 5 была первичная или приобретенная резистентность к иматинибу [123]. Кроме того, *ASXL1* является одним из наиболее распространенных генов, мутации которых ассоциированы с ККНП [108]. Среди больных ХМЛ с мутациями *ASXL1* средний возраст на момент диагностики заболевания был указан в двух небольших сериях случаев - 55 лет (диапазон 44-62, n=8) и 47 лет (диапазон 37-82, n=9) [108]. Только 3 из этих пациентов были в возрасте >60 лет. Помимо этого, в одном исследовании, проведенном на группе детей и молодых взрослых (средний возраст 14 лет) при диагностике ХМЛ обнаружены мутации *ASXL1* у 6 из 21 пациента при отсутствии других генных мутаций [87]. Таким образом, не прослежена ассоциация между возрастом и наличием мутаций *ASXL1* у больных ХМЛ.

Из 489 больных ХМЛ в ХФ, у которых на момент диагностики исследовали мутации в «горячих точках» генов *IDH1/2*, только у одного пациента обнаружена мутация *IDH1* [108]. В отдельном исследовании среди 49 больных ХМЛ в ХФ на момент диагностики мутация *IDH1* (R132H) выявлена у одного пациента, у

которого спустя 6 месяцев терапии развился БК лимфоидной направленности [108]. Эти данные позволяют предположить, что на момент диагностики ХМЛ в ХФ относительно часто встречаются мутации *ASXL1* и крайне редко мутации *IDH1/2*, но именно последние могут быть ассоциированы с неблагоприятным прогнозом.

По данным японских исследователей, при полноэкзомном секвенировании образцов 24 пациентов с впервые установленным диагнозом ХМЛ в ХФ выявлено в среднем по 8 генетических вариантов разного значения на пациента (диапазон: 1-17), большинство из которых касались генов, регулирующих клеточную пролиферацию и активацию сигнальных путей. Варианты генов, отвечающих за эпигенетическую регуляцию (*ASXL1*, *TET2*, *TET3*, *KDM1A*, *MSH6*) обнаружены у 25% пациентов. Замены в 12 экзоне *ASXL1* выявлены у 3/24 больных, а мутации генов *TET2*, *TET3* и *RUNX1* встречались у одного пациента каждая [88].

Кроме описания спектра и частоты встречаемости мутаций генов, в последних работах более подробно изучали их возможное влияние на исход заболевания. В российском проспективном исследовании при полноэкзомном секвенировании образцов 60 пациентов на момент диагностики ХМЛ в ХФ патогенные генетические варианты *JAK2*, *BRCAl*, *ASXL1* и *DNMT3A* были выявлены у 7 (12%) больных [10]. При дальнейшем наблюдении в течение 1 года у двоих из них (с мутациями в генах *JAK2* и *BRCAl*) отмечался оптимальный ответ на терапию ИТК, а у пяти больных (4 с мутациями *ASXL1*, и 1 мутациями *ASXL1* и *DNMT3A*) констатирована неудача терапии. Это позволило авторам предположить, что именно эти патогенные генетические варианты *ASXL1* и *DNMT3A* ассоциированы с резистентностью к терапии ИТК [10].

В работе Shanmuganathan и соавт. изучали дополнительные генетические аномалии при ХМЛ: соматические мутации генов и ассоциированные с Ph-хромосомой перестройки, которые включали в себя слияния, делеции и инверсии, расположенные рядом с геном *BCR::ABL1*. Авторы показали, что у пациентов с соматическими мутациями различных генов или перестройками с Ph-хромосомы, обозначенными термином «дополнительные генетические аномалии» (ДГА), при

терапии иматинибом в первой линии была относительно снижена выживаемость без неудачи терапии (69% против 84%,  $p=0,03$ ), вероятность достижения БМО (72% против 84%,  $p=0,02$ ) и ГМО (37% против 62%,  $p=0,001$ ) по сравнению с больными без ДГА [22]. В то же время не отмечено разницы в выживаемости без неудачи терапии (94% против 91%,  $p=0,47$ ) и достижении БМО (88% против 83%,  $p=0,71$ ) в зависимости от наличия ДГА у больных, которым в первой линии проводилась терапия ИТК2. Отдельно оценивалось влияние наличия мутаций гена *ASXL1* на прогноз и было показано, что у больных с мутациями этого гена при лечении иматинибом чаще отмечалась неудача терапии. Подобной зависимости также не было отмечено у пациентов, получающих ИТК2 в первой линии [22].

В то же время в другом исследовании Schönfeld и соавт. было показано, что среди больных ХМЛ, получающих терапию ИТК2 нилотинибом в первой линии, наличие мутаций гена *ASXL1*, которые наиболее часто встречались на момент установления диагноза ХМЛ, ассоциировано с меньшей вероятностью достижения БМО. Также была показана более высокая частота встречаемости мутаций гена *ASXL1* у молодых пациентов и у пациентов из группы высокого риска по прогностической шкале EUTOS-score [34].

Т. Kim и соавт., используя таргетную панель из 40 генов, исследовали мутационный спектр у 254 больных при диагностике ХМЛ и показали, что мутации генов, ответственных за активацию сигнальных путей и факторы миелоидной транскрипции, наиболее часто ассоциировались с неблагоприятным исходом при терапии иматинибом, однако подобной ассоциации не наблюдалось при применении ИТК2 в первой линии. Самыми частыми на момент диагностики заболевания в этом исследовании были мутации генов *ASXL1*, *TET2* и *DNMT3A* [166].

### 1.3.5 Молекулярно-генетический профиль клеток крови у больных в фазе акселерации и бластного криза хронического миелолейкоза

Подробные механизмы прогрессирования ХМЛ в ФА и БК до сих пор мало изучены. Отмечено, что повышенная пролиферативная активность *BCR::ABL1*-положительных клеток приводит к геномной нестабильности за счет нарушения механизмов репарации ДНК, способствуя накоплению новых генетических aberrаций [152]. Не установлено, в какой степени в трансформации заболевания участвуют соматические мутации других генов, помимо *BCR::ABL1*. Понимание этих молекулярных событий могло бы помочь предсказать прогрессирование болезни, улучшить терапевтические подходы при ФА и БК ХМЛ, рассмотреть возможное применение комплексной терапии, направленной на специфические мутации [108].

В мире проводятся исследования по изучению мутационного профиля клеток крови у больных в ФА и БК ХМЛ. В 2005 г. описан один из первых клинических случаев выявления соматической миссенс-мутации R139P в домене runt гена *RUNX1* методом прямого секвенирования у пациента с прогрессированием ХМЛ до ФА, связанным с появлением ДХА - трисомии 21 хромосомы. Также мутация *RUNX1* выявлялась и в ретроспективном биообразце, взятом на момент диагностики ХМЛ [58]. Кроме того, у этого пациента на момент ФА была обнаружена мутация *BCR::ABL1* M244V, которая не выявлялась на момент постановки диагноза. Авторы делают вывод, что сочетание мутаций *BCR::ABL1* и *RUNX1* лежало в основе геномной нестабильности, а удвоение 21 хромосомы с мутированным геном *RUNX1* могло привести к прогрессированию ХМЛ [58]. В другом исследовании секвенирование гена *RUNX1* проводилось у 14 больных ХМЛ с трисомией 21, и мутации *RUNX1* выявлены у шести пациентов (один больной с ХФ ХМЛ и пять пациентов с миелоидным БК ХМЛ) [94].

По данным описанного выше мета-анализа, соматические мутации чаще обнаруживались в продвинутых фазах ХМЛ, чем в хронической при диагностике заболевания [108]. Наиболее часто в ФА и БК выявлялись мутации генов *RUNX1* (18%), *ASXL1* (15%), делеции экзонов *IKZF1* (16%), мутации *BCORL1* (8,6%) *GATA2* (8,4%) [108]. В некоторых работах даже было показано, что частота встречаемости мутаций *RUNX1*, *IKZF1* и *ASXL1* сопоставима или выше частоты мутаций киназного домена *BCR::ABL1* у больных ХМЛ в БК [47, 62, 69]. Всего тринадцать генов подверглись мутациям у больных ХМЛ в продвинутых фазах более чем в одном исследовании: *RUNX1*, *IKZF1*, *ASXL1*, *GATA2*, *TET2*, *TP53*, *SETBP1*, *PTPN11*, *IDH1*, *IDH2*, *NRAS*, *JAK2* и *CBL*. Другие мутации, которые обнаруживались при БК ХМЛ, затрагивали гены *BCORL1*, *BCOR*, *SETD1B*, *SETD2*, *TP53*, *IDH1/2*, *GATA2*, *TET2*, *EZH2*, *WT1*, *PHF6*, *SETBP1*, *CBL*, *PTPN11* и *NRAS* [108]. Более ранние исследования показывали, что мутации *TP53* встречались в 20% случаев ФА и БК в период до появления ИТК, однако современные геномные исследования с применением ВПС показывают низкую частоту выявления мутаций *TP53* в продвинутых фазах ХМЛ (около 4%) [108, 134, 180].

При изучении ассоциации фенотипа БК и мутационного профиля клеток крови у больных ХМЛ отмечено, что мутации *ASXL1* чаще встречаются у пациентов с миелоидным фенотипом, а делеции *IKZF1* – у больных с лимфоидным фенотипом БК [38, 105, 122]. Кроме того, мутации *WT1*, *GATA2* и *RUNX1* чаще встречались у больных ХМЛ с БК миелоидной направленности [54, 94]. В некоторых исследованиях отмечалась высокая частота встречаемости мутаций генов *WT1* (15%) [19] и *GATA2* (11%) у пациентов с БК ХМЛ [92], при этом в других работах, в которых эти гены целенаправленно изучались, сообщалось о низкой частоте их встречаемости, хотя число исследуемых пациентов было небольшим [108].

Интересно сопоставление двух работ, в которых изучали мутационный статус у больных с БК ХМЛ, в одном случае с помощью секвенирования 12 генов таргетной панели (V. Grossmann и соавт. [19]) и в другом - с применением

полноэкзомного секвенирования (S. Branford и соавт. [105]). В обеих работах отмечалась относительно высокая частота встречаемости мутаций *RUNX1*, *ASXL1*, делеций экзонов *IKZF1* - как минимум один из этих генов был мутирован у 23 (59%) из 39 пациентов в одной работе [19] и у 21 (54%) из 39 пациентов в другой [105]. Интересно, что в обеих работах сообщалось об очень высокой частоте сочетания мутаций киназного домена *BCR::ABL1* и других соматических мутаций генов: 11/13 пациентов (85%) [19] и 17/19 пациентов (89%) [105]. Можно заметить, что при секвенировании только 12 генов, авторы обнаружили мутации 10 генов у 30/39 пациентов (77%) [19], в то время как при полноэкзомном секвенировании выявлены мутации того же типа (однонуклеотидные замены и делеции) в 15 генах у 31/39 пациентов (79%) [105]. При этом мутации 5 из 10 генов из исследования V. Grossmann и соавт. также встречались в исследовании S. Branford и соавт. Это позволяет предположить, что спектр мутаций, выявляемых при БК ХМЛ, ограничен небольшим числом генов, ассоциированных со злокачественными новообразованиями, в то время как мутации остальных генов практически не встречаются при секвенировании полного экзома.

Кроме точечных мутаций генов, у больных ХМЛ в продвинутых фазах при исследовании транскриптома выявлялись различные слияния генов, в частности с вовлечением *RUNX1* [156], *MLL (KMT2A)* [178], и *CBFB* [126]. Результаты секвенирования транскриптома 39 пациентов с БК ХМЛ показали высокую частоту встречаемости слияний с участием генов *MLL*, *RUNX1*, *IKZF1*, *CBFB*, *MESOM* и *PAX5* [19]. В целом, ВПС полного экзома и транскриптома больных с БК ХМЛ в этом исследовании позволило выявить мутации генов у 37 (95%) из 39 пациентов и типы вариантов включали однонуклеотидные замены, инсерции, делеции и слияния генов [19].

### 1.3.6 Динамическая оценка мутационного профиля у больных хроническим миелолейкозом

Особый интерес представляет секвенирование серий образцов больных ХМЛ в разные периоды времени, которое позволяет получить представление об изменении мутационного профиля в процессе лечения ИТК, при достижении оптимального ответа и при неудаче терапии, а также при прогрессировании заболевания. Лишь в немногих работах проводился анализ мутаций генов у больных ХМЛ в динамике. Mitani и соавт., сопоставляя серийные образцы 20 больных ХМЛ в ХФ, обнаружили, что большинство мутаций, выявленных на момент диагностики заболевания, не определялись при достижении ремиссии и редукции Ph-положительного клона; подобная динамика клонов отмечалась также в других работах [34, 164, 167]. В то же время, у некоторых пациентов мутации генов, включая *TET2*, выявлялись и на момент диагностики, и в образцах в ремиссии, при этом аллельная нагрузка их была даже выше, чем при диагностике, что может быть связано с присутствием этих мутаций в Ph-отрицательном клоне [34, 164]. M. Schmidt и соавт. в своей работе по изучению клональной эволюции *BCR::ABL1*-независимых мутаций у больных ХМЛ в Ph-положительном и Ph-отрицательном клонах обсуждают возможность появления соматических мутаций на разных этапах до начала лейкемогенеза и во время болезни (Рисунок 2) [120].

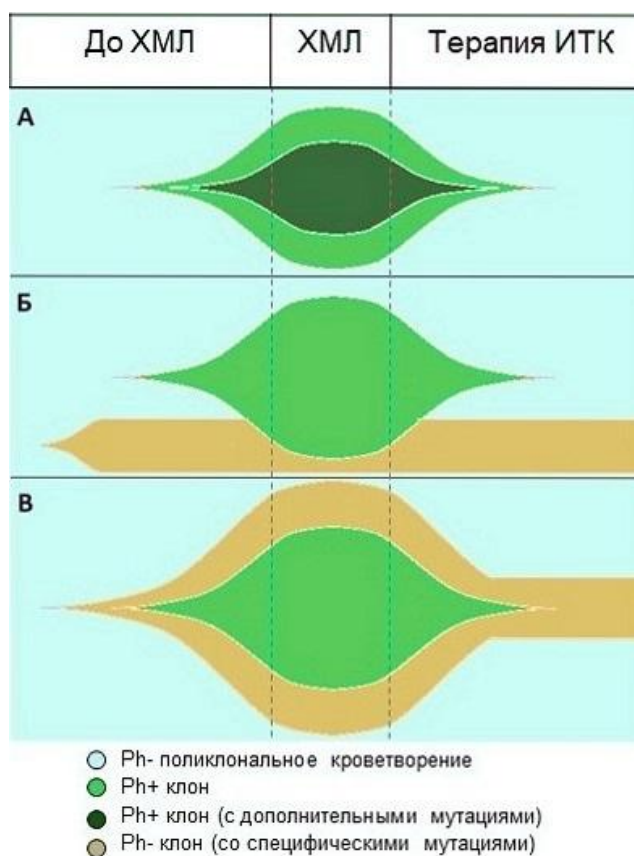


Рисунок 2 - Варианты динамики клонов с дополнительными мутациями у больных хроническим миелолейкозом

А: соматическая мутация возникает в Ph<sup>+</sup> клоне и исчезает на фоне терапии ИТК по мере редукции Ph<sup>+</sup> клона. Б: клон с соматической мутацией существует независимо от Ph<sup>+</sup> клона. В: мутация *BCR::ABL1* возникает в клоне с соматической мутацией (на фоне клонального кроветворения)

ХМЛ – хронический миелолейкоз, ИТК – ингибиторы тирозинкиназ

Адаптировано из М. Schmidt и соавт. [120]

Также различные варианты динамики клонов показали Т. Kim и соавт. в проспективном исследовании при анализе образцов 100 пациентов с ХМЛ в ХФ, взятых на момент диагностики и спустя 1 год после начала терапии ИТК [166]. По особенностям изменения мутационного профиля и ответу на терапию все больные были разделены на 5 групп. В группе 1 соматические мутации генов выявлялись при диагностике заболевания и сохранялись при динамическом наблюдении, несмотря на значительную редукцию Ph-положительного клона, что может свидетельствовать об их нахождении в существующем до лейкоза Ph-отрицательном клоне. В группе 2 мутации появились у больных на фоне лечения, и это было ассоциировано с резистентностью к терапии. В группе 3 мутации,

выявленные на момент диагностики, исчезли спустя 1 год терапии, при этом отмечались различные ответы на терапию, от оптимального до прогрессирования ХМЛ. Группы 4 и 5 включали в себя несколько пациентов с мутациями, которые были обнаружены при диагностике не только в Ph-положительных клетках, но и в контрольных фракциях Т-клеток, что позволяет предположить их появление задолго до ХМЛ. При этом в динамике у больных из группы 5 отмечался клиренс мутантного клона, а в группе 4 мутации персистировали, и однозначного влияния наличия мутаций на исход у этих пациентов не прослеживалось [166].

В еще одном исследовании сообщалось о больных ХМЛ, имеющих генетические мутации, характерные для КК, включая *DNMT3A*, *TET2*, *ASXL1*, *BCOR* и *CREBBP*, на момент диагностики заболевания и после начала терапии ИТК без значимого изменения аллельной нагрузки при достижении ремиссии. Из этого авторы делают вывод, что клон с соматической мутацией расширяется при подавлении опухолевого Ph-положительного клона, таким образом функционирует условно «здоровое» Ph-отрицательное кроветворение [167]. В то же время КК по-прежнему может являться плацдармом для развития других злокачественных новообразований в будущем. Можно предположить, что с персистированием КК может быть связано развитие ОМЛ или МДС из Ph-отрицательного клона, что описано у некоторых пациентов с ХМЛ, в том числе с ДХА в Ph-отрицательных клетках.

В своей работе Adnan-Awad и соавт. при динамическом анализе образцов 28 пациентов в ХФ показали, что персистенция и/или приобретение соматических мутаций в течение болезни ассоциированы с резистентным течением ХМЛ [122]. S. Branford и соавт. изучали соматические мутации генов у 25 больных при диагностике ХМЛ и при прогрессировании в БК [105]. На фоне прогрессирования ХМЛ, помимо мутаций киназного домена *ABL1*, также отмечалось приобретение делеций экзонов *IKZF1*, мутаций *RUNX1*, *ASXL1*, *BCORL1*, *IDH1* и реже других генов [105]. В других исследованиях с меньшим количеством пациентов при прогрессировании ХМЛ отмечалось появление мутаций генов *ABL1*, *RUNX1*,

*ASXL1*, делеции *IKZF1*, и у отдельных больных появление мутаций генов *UBE2A*, *NRAS*, *EZH2*, *TET2* [27, 70, 122, 123].

## Резюме

Соматические мутации различных генов рассматриваются в качестве одной из возможных причин резистентности ХМЛ, и ряд исследований демонстрирует их ассоциацию с худшим ответом на терапию ИТК [103]. Однако роль мутаций генов, имеющих прогностическое значение при других миелоидных новообразованиях или связанных с клональным кроветворением, у больных ХМЛ окончательно не установлена [120]. Изучение частоты встречаемости и динамики наиболее значимых и распространенных соматических мутаций генов (*ASXL1*, *DNMT3A*, *FLT3*, *IDH1*, *IDH2*, *NPM1*, *RUNX1*, *SF3B1*, *SRSF2*, *TET2*, *TP53*, *U2AF2*, *KIT*, *WT1*, *CEBPA*, *ZRSR2*, *JAK2*, *GATA2*), в том числе в сочетании с мутациями *BCR::ABL1*, с применением метода ВПС актуально для поиска неблагоприятных прогностических молекулярных маркеров ХМЛ.

В терапии ХМЛ появился новый класс препаратов – аллостерические ИТК, и актуальным представляется изучение возможностей лечения этими препаратами больных с предшествующей резистентностью к терапии. Также важно понимать, может ли терапия аллостерическим ИТК асциминибом помочь преодолеть резистентность, связанную с *BCR::ABL1*-независимыми механизмами. По данным немногочисленных исследований, соматические мутации генов могут быть ассоциированы с неудачей терапии асциминибом, но этот вопрос требует дальнейшего изучения [104]. Другие факторы резистентности к асциминибу, в частности мутации миристоилового кармана *BCR::ABL1*, в настоящее время также изучены недостаточно. Таким образом, на настоящий момент не представляется возможным сделать окончательные выводы о клинической значимости соматических мутаций при ХМЛ, в связи с чем требуется проведение дальнейших

стандартизированных исследований в более крупных когортах или с использованием централизованной обработки и мета-анализа данных, полученных в небольших исследованиях.

## Глава 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1 Дизайн исследования по определению молекулярно-генетического профиля клеток крови

Дизайн исследования по определению и сопоставлению молекулярно-генетического профиля клеток крови у больных ХМЛ методом ВПС представлен на Рисунке 3, тип исследования: «случай-контроль». В группу «случай» включены больные ХМЛ с неудачей терапии ИТК (n=29). Критерии включения в группу «случай»: 1) хроническая фаза на момент установления диагноза ХМЛ; 2) неудача после  $\geq 2$  линий терапии ИТК по критериям ELN 2020 (за исключением непереносимости терапии) или прогрессирование ХМЛ в ФА или БК на фоне терапии; 3) наличие валидного материала в биобанке.

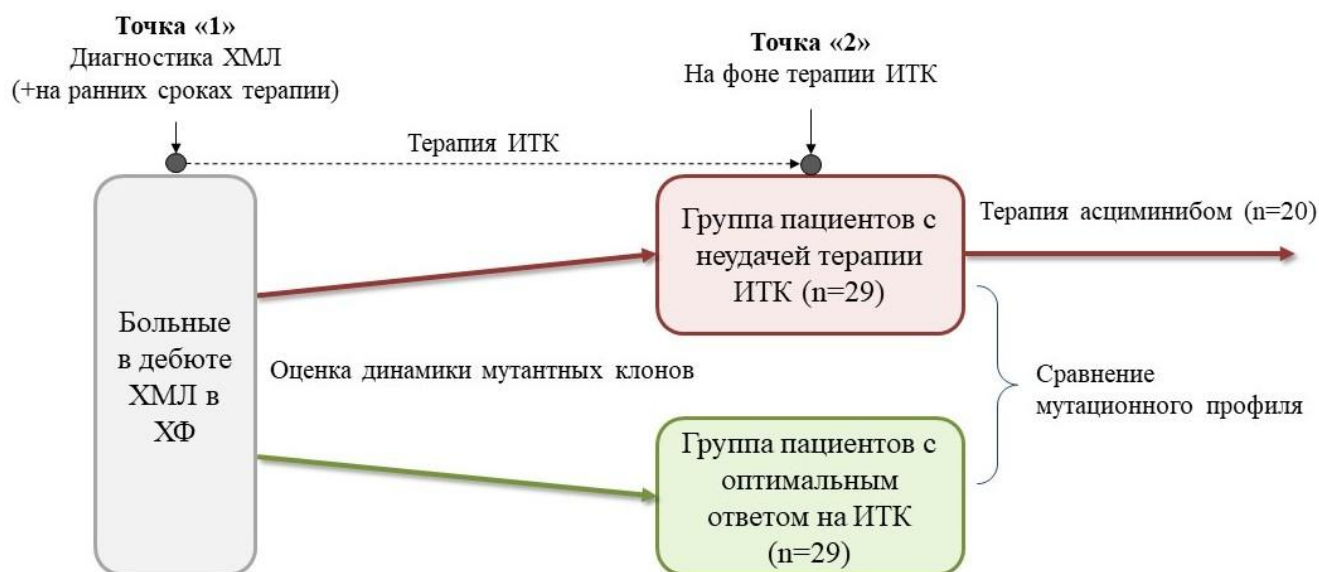


Рисунок 3 – Дизайн исследования

В группу «контроль» включены больные ХМЛ с оптимальным ответом на терапию ИТК по критериям ELN 2020 (n=29). С помощью метода подбора пар для «случаев» подбирали пары «контролей», совпадающих по возрасту и полу в соотношении 1 : 1. Критерии включения в группу «контроль»: 1) стабильный

глубокий молекулярный ответ степени MO4,5 ( $BCR::ABL1 < 0,0032\%$ ) длительностью более 1 года (включая пациентов, у которых были попытки отмены терапии и наблюдения в РБЛ); 2) отсутствие резистентности к терапии ИТК в анамнезе; 3) наличие валидного материала в биобанке; 4) соответствие парам из группы «случай» по полу и возрасту.

Отбор пациентов в группы производился из двух популяций участников проспективных исследований:

1) Проспективное наблюдательное исследование первичных больных ХМЛ (n=146), проводимое в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (далее НМИЦ гематологии), в которое с 2012 по 2018 гг. включались все больные с впервые установленным диагнозом ХМЛ в ХФ. Мониторинг и терапия ИТК проводилась в соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями по диагностике и лечению ХМЛ;

2) Программа управляемого доступа к асциминибу (Managed Access Program, MAP) (n=68), в рамках которой наблюдались больные ХМЛ в ХФ с неудачей  $\geq 2$  линий терапии ИТК или мутацией T315I с 2019 по 2024 гг. Мониторинг и терапия асциминибом проводилась в соответствии с протоколом программы.

В группу «случай» из двух популяций отобраны все больные с резистентным течением ХМЛ, соответствующие критериям включения (n=29): 9 пациентов - участники проспективного наблюдательного исследования первичных больных ХМЛ, 13 пациентов – участники программы управляемого доступа к асциминибу, 7 пациентов - участники обоих исследований. В группу «контроль» все больные (n=29) отобраны из проспективного наблюдательного исследования первичных больных ХМЛ.

Всем пациентам из групп «случай-контроль» (n=58) определение молекулярно-генетического профиля методом ВПС проводилось на фоне терапии. Для анализа брали последний доступный биообразец на момент, когда пациент соответствовал критериям включения в группу. Медиана времени от установления

диагноза ХМЛ до анализа на фоне терапии не различалась между группами: в группе «случай» составила 4,7 лет (диапазон 0,6-22,3 лет), в группе «контроль» – 4,7 лет (диапазон 1,1-9,6 лет). Временную точку, в которой проводили ВПС на фоне терапии ИТК условно обозначили как точка «2».

Для динамической оценки мутационного профиля у некоторых пациентов проводилось ВПС на более ранних этапах заболевания – в точке «1» (Таблица 5). Парные биообразцы в точке «1» были взяты на момент установления диагноза ХМЛ, а при отсутствии диагностического образца – на ранних этапах лечения в наиболее приближенное к началу заболевания время, но менее 1 года от точки «2». Для некоторых больных, у которых отсутствовал парный диагностический биообразец для анализа методом ВПС, использовали имеющиеся данные определения молекулярных маркеров методом полноэкзомного секвенирования (ПЭС), ранее выполненного в рамках научной работы: для 3 больных из группы «случай» и 7 больных из группы «контроль» [10]. Всего биообразцы в точке «1» были доступны для 24 из 29 больных из группы «случай», 13 из них были взяты на момент диагностики ХМЛ. Остальные 11 были взяты на ранних этапах лечения; медиана времени от установления диагноза ХМЛ до анализа в точке «1» составила 1,8 лет (диапазон 0,3-20,7 лет). Парные биообразцы, взятые на момент диагностики ХМЛ, были доступны для 21 из 29 больных из группы «контроль».

Таблица 5 - Популяции отбора больных в группы «случай-контроль» и наличие образцов в двух точках для анализа

Показатель			Больные из группы, «неудача терапии» (n=29)	Больные из группы, «оптимальный ответ» (n=29)
Популяция отбора больных, n	Проспективная группа		6	29
	MAP + проспективная группа		7	0
	MAP		13	0
Наличие образцов у пациентов, n	Точка «2»		29	29
	Точка «1»	На момент диагностики	ВПС ПЭС	10 7
		На раннем этапе лечения		11
MAP - Managed Access Program				

Всего из популяции участников программы управляемого доступа к асциминибу в группу «случай» отобрано 20 пациентов, всем им проведено секвенирование биообразцов, полученных на момент начала терапии асциминибом. Среди этих больных проводилась оценка вероятности достижения ПЦО, БМО, ГМО; оценка ОВ и выживаемости без прогрессирования (ВБП) на фоне терапии асциминибом в зависимости от наличия соматических мутаций генов миелоидной панели.

### 2.1.1 Характеристика больных из групп «случай-контроль»

Исследование мутаций генов разных методом ВПС в точке «2» проведено всем больным из группы «случай» («неудача терапии»), и из группы «контроль» («оптимальный ответ»). В группу «случай» включены больные ХМЛ в ХФ или ФА с резистентностью к терапии  $\geq 2$  ИТК и больные с прогрессированием в БК после терапии  $\geq 1$  ИТК (у всех пациентов на момент установления диагноза ХМЛ была ХФ ХМЛ). В группу «контроль» включены больные с оптимальным ответом на терапию, большинство из которых (79%) были кандидатами для отмены терапии. Характеристика пациентов представлена в Таблице 6.

Таблица 6 - Характеристика больных из группы «неудача терапии» и группы «оптимальный ответ» на момент анализа в точке «2», на фоне терапии

Показатель	Больные из группы «неудача терапии» (n=29)	Больные из группы «оптимальный ответ» (n=29)	P
Пол, женщины/мужчины, n (%)	14/15 (48/52)	14/15 (48/52)	p=1
Возраст на момент установления диагноза, годы, Me (мин-макс)	46 (26-79)	47 (25-76)	p=0,9256
Возраст на момент анализа в точке «2», годы, Me (мин-макс)	58 (26-81)	51 (34-80)	p=0,5970
Длительность ХМЛ до анализа в точке «2», годы, Me (мин-макс)	4,7 (0,6-22,3)	4,7 (1,1-9,6)	p=0,7795
<b>Группа риска по ELTS на момент диагностики ХМЛ в ХФ</b>			
Низкий	11 (38)	27 (93)	p<0,001
Промежуточный	11 (38)	2 (7)	
Высокий	3 (10)	0	
Нет данных	4 (14)	0	

Продолжение таблицы 6

<b>Фаза на момент анализа в точке «2», n (%)</b>			
Хроническая фаза	18 (62)	29 (100)	p=0,002
Фаза акселерации	6 (21)	0	
Бластный криз	5 (17)	0	
<b>Наилучший молекулярный ответ на предыдущих линиях терапии, n (%)</b>			
<i>BCR::ABL1</i> <1 %	13 (45)	29 (100)	p<0,001
<i>BCR::ABL1</i> ≥1 -<10%	4 (14)	0	
<i>BCR::ABL1</i> ≥10 %	12 (41)	0	
<b>Уровень <i>BCR::ABL1</i> IS на момент анализа в точке «2», n (%)</b>			
<i>BCR::ABL1</i> ≥10 %	22 (76)	0	p<0,001
<i>BCR::ABL1</i> ≥1 -<10%	4 (14)	0	
<i>BCR::ABL1</i> ≥0,0032 %- <1 %	3 (10)	4 (14)	
<i>BCR::ABL1</i> <0,0032 %	0	25 (86)	
<b>Число предшествующих линий ИТК, n (%)</b>			
1	3 (10)	24 (83)	p<0,001
2	6 (21)	5 (17)	
3-7	20 (69)	0	
<b>ИТК на момент анализа в точке «2», n (%)</b>			
Иматиниб	4 (14)	21 (73)	-
Нилотиниб	3 (10)	0	
Дазатиниб	8 (28)	3 (10)	
Бозутиниб	7 (24)	0	
Понатиниб	3 (10)	0	
Асциминиб	4 (14)*	0	
Без терапии	0	5 (17)	
<b>Мутации <i>BCR::ABL1</i>, n (%)</b>	8 (28)**	0	p=0,003
<b>ДХА в Ph+клетках, n (%)</b>	7 (24)	0	p<0,001
<b>Отсутствие ПГО на момент анализа в точке «2», n (%)</b>	14 (48)	0	p<0,001
<b>Попытки «стоп»/деэскалации терапии, n (%)</b>			
Ремиссия без лечения	0	8 (27,5)	p<0,001
Деэскалация дозы ИТК	0	10 (34,5)	
Неудача попытки деэскалации/отмены терапии	0	5 (17)	
Без попытки отмены/деэскалации	29	6 (21)	
*Парный образец в точке «1» был взят перед началом терапии асциминибом			
**У шести больных мутация T315I			
Me – медиана, ХМЛ – хронический миелоидный лейкоз, ИТК – ингибиторы тирозинкиназ, ПГО – полный гематологический ответ, ELTS - EUTOS long-term survival, ДХА – дополнительные хромосомные аномалии			

Пациенты в двух группах были сопоставимы по полу, возрасту и длительности заболевания к моменту проведения ВПС в точке «2». В то же время

пациенты различались по ключевым характеристикам ответа на терапию: по фазе заболевания, распределению по группам риска по ELTS-score, наилучшему ответу на лечение до анализа, молекулярному ответу на момент анализа, числу ранее применяемых ИТК, наличию других признаков резистентности (мутации в гене *BCR::ABL1*, ДХА, отсутствие полного гематологического ответа (ПГО)) или оптимального ответа (попытка отмены терапии или деэскалации дозы ИТК); что обусловлено критериями отбора больных в группы.

На момент анализа в точке «2» у 5 больных из группы «неудача терапии» после 1-3 линий ИТК отмечалось прогрессирование ХМЛ в фазу БК: лимфоидного (n=2), миелоидного (n=2) и неуточненного вариантов (n=1). Прогрессирование в ФА было у 6 больных, при этом у 4 из них ФА была установлена только на основании наличия ДХА в Ph-положительных клетках (без других признаков ФА). В ХФ было 18 больных, у 2 из них была вторая ХФ (в анамнезе прогрессирование ХМЛ до ФА и БК). У 14 (48%) больных из группы «неудача терапии» отмечалась первичная цитогенетическая резистентность ХМЛ (отсутствие ПЦО в анамнезе), а у 15 больных была вторичная резистентность – потеря ранее достигнутого ПЦО/БМО/ГМО. У 3 больных в группе «случай» с уровнем относительной экспрессии *BCR::ABL1* < 1% неудача терапии констатирована на основании выявления резистентной к иматинибу и ИТК2 мутации T315I. Выявленные ДХА в Ph-положительном клоне у 7 (24%) из 29 пациентов отображены в Таблице 7.

Таблица 7 - Дополнительные хромосомные аномалии у больных из группы «неудача терапии»

Номер пациента	ДХА	Фаза ХМЛ
1	der(9), der(22)	ФА
2	del(3p)	БК
3	Моносомия 7 хромосомы	ФА
4	Трисомия 8 хромосомы	ФА
5	Трисомия 8, der(22), t(2;21), t(3;12)	ФА
6	Трисомия 8 хромосомы, i(17q)	ФА
7	Трисомия 8, der(22)	ФА
ДХА – дополнительные хромосомные аномалии, ХФ – хроническая фаза, ФА – фаза акселерации, БК – бластный криз		

Все пациенты из группы «оптимальный ответ» находились в ХФ ХМЛ, при этом 27 (93%) пациентов относились к группе низкого риска по шкале ELTS на момент установления диагноза. Большинство пациентов - 24 (83%) – получили одну линию терапии иматинибом, у 5 больных выполняли перевод на 2 линию в связи с непереносимостью иматиниба. У 23 (79%) больных проводилась попытка отмены терапии или деэскалации дозы ИТК в связи с наличием стабильного ГМО. У 4 пациентов в группе «оптимальный ответ» биообразец для анализа в точке «2» был взят в период наблюдения без терапии, с чем было связано повышение уровня *BCR::ABL1* до 0,008-0,129% на момент анализа.

По данным ранее выполненного ПЭС, у 2 из 3 больных в группе «случай» на момент диагностики ХМЛ выявлялись мутации в генах *ASXL1* и *DNMT3A*. В группе «контроль» ни у кого из 7 больных на момент диагностики ХМЛ мутации генов, включенных в нашу миелоидную панель, методом ПЭС не выявлялись [10]. Все эти данные были учтены при оценке частоты выявления мутаций на момент установления диагноза в группах «случай-контроль».

## 2.2 Дизайн программы управляемого доступа к асциминибу

В рамках одной из задач исследования (4) среди всех участников программы управляемого доступа к асциминибу (n=68) проводилась оценка эффективности терапии, изучались неблагоприятные факторы достижения БМО и изменение мутационного статуса гена *BCR::ABL1* на фоне терапии асциминибом.

Всего в программу управляемого доступа (Managed Access Program, MAP) по обеспечению новым аллостерическим STAMP-ингибитором тирозинкиназ асциминибом за период с 2019 г. по 2021 г. включено 82 больных из трех центров России: НМИЦ гематологии (n=38), ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России (n=29) и Клиника «НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой» (n=15).

Критерии включения больных в программу MAP были следующие: 1) возраст пациентов  $\geq 18$  лет; 2) диагноз ХМЛ Ph-положительный; 3) ХФ на момент включения в программу (допускалось наличие ФА или БК в анамнезе и ДХА); 4) неудача терапии  $\geq 2$  ИТК в анамнезе; 5) любая линия ИТК при наличии мутации T315I; 6) соответствие специфическим требованиям программы MAP (отсутствие других коммерчески доступных вариантов лечения, возможности включения больного в клиническое исследование, соответствие запроса об участии в MAP законам Российской Федерации).

Решение о наличии показаний к терапии асциминибом принималось врачебной комиссией, проводимой в каждом центре. Лечение пациентов было одобрено Локальным этическим комитетом. Перед участием в программе все пациенты подписали информированное согласие, с пациентами моложе 65 лет предварительно обсуждалась возможность выполнения алло-ТГСК.

Терапия асциминибом проводилась в разных дозовых режимах, установленных на основании данных клинических исследований об эффективности применения препарата у пациентов с мутацией T315I или без нее. Для больных с мутацией T315I применялась доза асциминиба 200 мг 2 раза в сутки (р/сут), для больных без мутации T315I - 40 мг 2 р/сут. Оценка эффективности и переносимости терапии проводилась в соответствии с установленным графиком посещений – 1 раз в 3 месяца или чаще по показаниям. Критерии ответа на терапию соответствовали Федеральным клиническим рекомендациям по диагностике и лечению ХМЛ и рекомендациям ELN 2020 г. [6, 82]. Регистрация НЯ проводилась в соответствии с критериями СТСАЕ (Common Terminology Criteria for Adverse Events) версии 5.0 [127].

Из дальнейшего анализа эффективности терапии асциминибом исключено 14 больных по следующим причинам: ФА/БК на момент включения в программу (n=9), длительность терапии асциминибом менее 3 месяцев (n=1), состояние после алло-ТГСК (наличие донорского кроветворения) (n=4). Таким образом, в анализ эффективности терапии асциминибом в рамках MAP включено 68 пациентов.

## 2.2.1 Характеристика больных из программы управляемого доступа к асциминибу

Клинико-лабораторная характеристика больных, участвующих в программе и получающих асциминиб в двух дозовых режимах, представлена в Таблице 9.

Таблица 9 - Клинико-лабораторная характеристика больных, включенных в программу MAP

Показатель		Группы пациентов		Все пациенты (n=68)
		40 мг 2 p/сут (n=42)	200 мг 2 p/сут (n=26)	
Возраст на момент установления диагноза, годы, Me (мин-макс)		39 (12-79)	43 (26-65)	39 (12-79)
Возраст на момент начала терапии асциминибом, годы, Me (мин-макс)		53 (27-85)	49 (28-71)	51 (27-85)
Пол, мужчины/женщины, n (%)		17/25 (41/59)	11/15 (42/58)	28/40 (41/59)
Me длительности ХМЛ до начала терапии асциминибом, годы, Me (мин-макс)		8,2 (0,9-27,4)	5,7 (0,8-15,8)	6,9 (0,8-27,4)
<b>Фаза ХМЛ, n (%)</b>				
Первая хроническая фаза		33 (79)	18 (69)	51 (75)
Вторая хроническая фаза	Фаза акселерации в анамнезе	4 (10)	3 (12)	7 (10)
	Бластный криз в анамнезе	0 (0)	1 (4)	1 (2)
Фаза акселерации (ДХА в Ph+клетках), n (%)		5 (11)	4 (15)	9 (13)
ДХА в анамнезе, n (%)		6 (14)	7 (27)	13 (19)
<b>Группы риска Sokal, n (%)</b>				
Низкий риск		6 (14)	5 (19)	11 (16)
Промежуточный риск		13 (31)	4 (15)	17 (25)
Высокий риск		5 (12)	9 (35)	14 (21)
Нет данных/не применимо		18 (43)	8 (31)	26 (38)
<b>Группы риска ELTS, n (%)</b>				
Низкий риск		13 (31)	4 (15)	17 (25)
Промежуточный риск		6 (14)	8 (31)	14 (21)
Высокий риск		2 (5)	4 (15)	6 (9)
Нет данных		21 (50)	10 (39)	31 (45)
<b>Предшествующие ИТК, n (%)</b>				
Иматиниб		41 (98)	25 (96)	66 (97)
Нилотиниб		32 (76)	18 (69)	50 (74)
Дазатиниб		37 (88)	14 (54)	51 (75)
Бозутиниб		31 (74)	8 (31)	39 (57)

Продолжение таблицы 9

Понатиниб	12 (29)	14 (54)	26 (38)
PF114 (Вамотиниб)	6 (14)	7 (27)	13 (19)
<b>Число предшествующих линий ИТК, n (%)</b>			
2	4 (10)	7 (27)	11 (16)
3	12 (29)	8 (31)	20 (30)
4	17 (40)	7 (27)	24 (35)
≥5	9 (21)	4 (15)	13 (19)
<b>Причина прекращения терапии последним ИТК, n (%)</b>			
Резистентность	32 (76)	25 (96)	57 (84)
Непереносимость	10 (24)	1 (4)	21 (16)
<b>Мутации <i>BCR::ABL1</i></b>			
Пациенты без мутаций <i>BCR::ABL1</i> , n (%)	33 (79)	0	33 (49)
Пациенты с мутациями <i>BCR::ABL1</i> , n (%)	9 (21)	26 (100)	35 (51)
T315I	1 (2)*	25 (96)**	26 (38)
Другие мутации	8 (19)	1 (4)	9 (13)
<b>Уровень <i>BCR::ABL1</i> IS на момент начала терапии асциминибом, n (%)</b>			
<i>BCR::ABL1</i> <1 %	8 (19)	4 (15)	12 (17)
<i>BCR::ABL1</i> ≥1 -<10%	8 (19)	6 (23)	14 (21)
<i>BCR::ABL1</i> ≥10 %	26 (62)	16 (62)	42 (62)
<b>Наилучший молекулярный ответ на предыдущих линиях терапии, n (%)</b>			
<i>BCR::ABL1</i> <1 %	22 (53)	12 (46)	34 (50)
<i>BCR::ABL1</i> ≥1 -<10%	14 (33)	7 (27)	21 (31)
<i>BCR::ABL1</i> ≥10 %	6 (14)	7 (27)	13 (19)
<b>Цитогенетический ответ перед началом терапии асциминибом (Ph+клетки), n (%)</b>			
0%	11 (26)	4 (15)	15 (22)
1-35%	4 (10)	5 (19)	9 (13)
36-95%	10 (24)	7 (27)	17 (25)
100%	17 (40)	10 (39)	27 (40)
* У 1 больного в низкодозовой группе выявлена мутация T315I при пересмотре мутационного анализа. **У 1 больного в высокодозовой группе не подтвердилось наличие мутации T315I при пересмотре мутационного анализа. T315I выявлена в сочетании с другими мутациями у 6 больных			
Me – медиана, ХМЛ - хронический миелолейкоз, ДХА – дополнительные хромосомные аномалии, ИТК- ингибиторы тирозинкиназ			

ХФ ХМЛ отмечалась у 59 (87%) больных на момент включения в исследование, при этом у 8 (12%) больных была «вторая» ХФ - после перенесенных

ФА или БК (миелоидный БК у 1 больного). У 9 (13%) больных была ФА, установленная только на основании наличия ДХА в Ph-положительных клетках (+8, der(22), der(17), +19, -7/del(7p), комплексный кариотип). У 3 больных был атипичный транскрипт *BCR::ABL1*: p230 (n=2) и p190 (n=1). У 35 (49%) больных были выявлены мутации гена *BCR::ABL1* до начала терапии асциминибом, у 26 (38%) из них - мутация T315I, включая сочетание с другими мутациями (n=6). Всего у 8 (12%) больных определялось 2 мутации в гене *BCR::ABL1*. Обращает на себя внимание серьезная предлеченность пациентов: 54% больных получали  $\geq 4$  линий терапии ИТК, медиана длительности ХМЛ до начала терапии составила 6,9 лет, и у большинства больных (84%) неудача терапии к последнему ИТК констатирована на основании резистентности, а не токсичности препарата.

Терапию асциминибом в дозе 200 мг 2 р/сут получали 26 больных, у всех на момент скрининга перед включением в программу выявлялась мутация T315I. Однако у одного пациента из этой дозовой группы при пересмотре результата мутационного исследования наличие мутации T315I не подтвердилось; тем не менее пациент продолжил прием асциминиба в дозе 200 мг 2 р/сут.

Терапию асциминибом в дозе 40 мг 2 р/сут получали 42 больных. В соответствии с протоколом, в данную дозовую группу включались больные без мутации T315I на момент скрининга перед началом терапии асциминибом. Однако у одного больного спустя 4 месяца терапии при потере гематологического ответа результаты исследования мутационного статуса на момент начала терапии асциминибом была пересмотрены – у этого больного обнаружена мутация T315I. Дальнейшее участие в программе MAP пациент прекратил.

### 2.2.3 Критерии диагностики и эффективности терапии ХМЛ

В соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями по диагностике и лечению ХМЛ ХФ устанавливалась при отсутствии признаков ФА и

БК; ФА устанавливалась при наличии хотя бы одного из следующих критериев: 15-29% бластных клеток в периферической крови и/или костном мозге, сумма бластов + промиелоцитов  $\geq 30\%$  (при этом бластов  $< 30\%$ ),  $\geq 20\%$  базофилов в крови, персистирующая тромбоцитопения  $< 100$  тыс/мкл, не связанная с терапией, появление ранее не определявшихся методом СЦИ ДХА высокого риска в Ph-положительных клетках. БК устанавливался при  $\geq 30\%$  бластных клеток в крови или костном мозге или наличии экстрамедуллярного поражения [6].

Группа риска для больных ХМЛ в ХФ (низкий, промежуточный, высокий) определялась по шкалам Sokal и ELTS при автоматическом подсчете по формуле на основании установленных параметров (размер селезенки в см из-под реберной дуги, возраст пациента, количество тромбоцитов в крови, количество бластных клеток в крови) [6, 88, 141]. Показателями эффективности лечения были достижение гематологического, цитогенетического и молекулярного ответов (Приложение А). При оценке эффективности терапии ПЦО считали эквивалентом ответа МО2. Критерии неудачи терапии представлены в Таблице 8 [6].

Таблица 8 - Критерии неудачи терапии у больных ХМЛ

Срок терапии	Неудача терапии
3 месяца	Нет ПГО <i>BCR::ABL1</i> $> 10\%$ , подтвержденный повторным анализом через 1-3 месяца Ph <sup>+</sup> $> 95\%$
6 месяцев	<i>BCR::ABL1</i> $> 10\%$ Ph <sup>+</sup> $> 35\%$
12 месяцев	<i>BCR::ABL1</i> $> 1\%$ Ph <sup>+</sup> $> 0\%$
В дальнейшем и в любое время	<i>BCR::ABL1</i> $> 1\%$ Мутации <i>BCR::ABL1</i> , приводящие к резистентности ДХА высокого риска в Ph <sup>+</sup> клетках
ПГО- полный гематологический ответ, ДХА – дополнительные хромосомные аномалии	

### 2.3 Лабораторные методы исследования

Лабораторное обследование больных включало в себя общий клинический и биохимический анализы крови, цитологическое исследование костного мозга, которые выполнялись в клинико-диагностической лаборатории НМИЦ гематологии (зав. лабораторией - к.м.н. Двирнык В.Н.) Для оценки цитогенетического ответа на терапию выполнялось стандартное цитогенетическое исследование методом G-дифференциального окрашивания хромосом или FISH-исследование с использованием двухцветной флуоресцентно-меченой пробы для обнаружения слитного гена *BCR::ABL1* в лаборатории кариологии НМИЦ гематологии (зав. лабораторией - к.м.н. Обухова Т.Н.). Молекулярно-генетические исследования выполнялись в лаборатории молекулярной гематологии НМИЦ гематологии (зав. лабораторией – д.б.н. Судариков А.Б.).

Для определения относительной экспрессии *BCR::ABL1* проводили количественный подсчет мРНК химерного онкогена *BCR::ABL1* и мРНК гена *ABL1* методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» с использованием комплектов из набора реагентов «АмплиСенс Лейкоз Квант M-bcr-FRT» в соответствии с инструкцией производителя (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Предварительно из образцов периферической крови пациентов выделяли ядерные клетки методом лизиса эритроцитов [76]. Экстракцию тотальной РНК из клеток проводили с использованием комплекта «РИБО-золь-D» вариант 100 по методу Хомчинского [52]. Выделенная РНК служила матрицей для получения кДНК. Комплект реагентов для постановки реакции обратной транскрипции «РЕВЕРТА-L» вариант 100 содержал компоненты: ДТТ лиофилизированный, RT-mix, ревертаза (MMlv), которые использовали для приготовления реакционной смеси по инструкции производителя. Реакционная смесь подвергалась инкубации в термостате по заданной программе: 1 этап - 50°C (15 мин) и 2 этап - 95°C (5 мин). Полученную кДНК использовали для постановки реакции ПЦР с использованием комплекта

реагентов «АмплиСенс» вариант FRT по заданной производителем программе с детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени» на приборе Rotor-Gene Q 6plex, QIAGEN (США).

### 2.3.1 Методика определения мутаций в гене *BCR::ABL1*

Для рутинного определения мутаций киназного домена гена *BCR::ABL1* применялся метод прямого секвенирования по Сэнгеру. Выделение клеток крови, экстракция РНК и постановка реакции обратной транскрипции осуществлялась по описанной выше методике. Полученную кДНК использовали для амплификации участка киназного домена *BCR::ABL1* методом двухстадийной ПЦР. Протокол двух стадий ПЦР и режима секвенирования кратко представлен в Таблице 10. Для первой реакции ПЦР применялась пара праймеров к 13 экзону гена *BCR* и к 10 экзону гена *ABL1*. Во время второй стадии ПЦР использовали праймеры к 4 и 9 экзонам гена *ABL1*, для амплификации участка, кодирующего киназный домен.

Таблица 10 - Протокол для выявления мутаций *BCR::ABL1*

Стадии	Праймеры	Нуклеотидная последовательность праймера (5'-3')	Матрица на 25 мкл
<b>ПЦР-1</b>	PCR1_F (ENF501)	TCCGCTGACCATCAATAAGGA	кДНК - 5 мкл
	PCR1_R (4065R)	CCTTCTCTAGCAGCTCATACACCTG	
<b>Режим ПЦР-1:</b>			
1) 95°C (7 мин)		2) 95°C (30 сек), 60°C (30 сек), 72°C (90 сек) - 30 циклов	3) 72°C (5 мин)
<b>ПЦР-2</b>	PCR2_F (3306F)	TGGTTCATCATCATCAACGG	1 мкл ПЦР-1 продукта
	PCR2_R (4000R)	GGACATGCCATAGGTAGCA	
<b>Режим ПЦР-2:</b>			
1) 95°C (7 мин)		2) 95°C (30 сек), 60°C (30 сек), 72°C (60 сек) - 40 циклов	3) 72°C (5 мин)
Seq.	PCR2_F (3306F)	TGGTTCATCATCATCAACGG	1-2 мкл ПЦР-2 продукта после очистки
	PCR2_R (4000R)	GGACATGCCATAGGTAGCA	

Качество продукта амплификации оценивали посредством визуализации при электрофорезе в 2% агарозном геле. Очистка итогового ПЦР- продукта проводилась посредством ферментативной обработки с помощью набора реагентов ExoProStar™ 1-Step (Cytiva, Великобритания), удаляющими остатки праймеров и dNTP, с инкубацией в термостате при 37°C (15 мин) и 80°C (15 мин).

Секвенирующую реакцию выполняли с использованием набора BrilliantDye™ Terminator (v1.1) (NimaGen., Нидерланды), удаление избытка флуоресцентно-меченных дидезоксинуклеотидов - с помощью набора iX-Pure (NimaGen., Нидерланды) согласно инструкциям производителя. Капиллярный электрофорез проводили на генетическом анализаторе Нанофор 05 (ИАП РАН, Россия). Полученные хроматограммы сравнивали с референсной последовательностью гена *ABL1* (получена из базы данных «The National Center for Biotechnology Information» (NCBI) [42] в программе Mutation Surveyor (SoftGenetics, США).

#### *Определение мутаций в гене BCR::*ABL1* методом ВПС*

С 2022 г. в НМИЦ гематологии определение мутаций гена *BCR::*ABL1** осуществлялось рекомендуемым международной группой экспертов ELN методом ВПС на основе РНК. Методика включала в себя ранее описанные этапы экстракции РНК, обратной транскрипции, постановки двухстадийной ПЦР с контролем качества продуктов амплификации с помощью электрофореза. Далее полученные ампликоны использовались для создания библиотек с помощью наборов Nextera XT DNA Library Preparation kit и Nextera XT Index kit v2 (Illumina, США) в соответствии с протоколом производителя. ВПС проводилось на генетическом анализаторе MiSeq (Illumina, США). Среднее покрытие составляло 1000х. Этапы биоинформатического анализа включали в себя фильтрацию данных, удаление служебных последовательностей, картирование прочтений на референсную последовательность генома человека, поиск и аннотирование вариантов при

помощи утилит с открытым исходным кодом Trimmomatic [43], BWA [109], SAMtools [179], Vardict [184] и Annovar [186]. Для визуализации полученных данных использовалась программа Integrative Genomics Viewer (IGV) [100]. Патогенность мутаций определяли с помощью онлайн-базы данных Franklin by Genoos [85].

### **2.3.2. Высокопроизводительное секвенирование с использованием авторской таргетной панели генов**

Для проведения ВПС в исследуемых группах «случай-контроль» была сформирована таргетная панель генов, мутации которых наиболее часто встречаются у пациентов с миелоидными новообразованиями (гены миелоидной панели): *ASXL1* (ex12), *DNMT3A* (ex7-18, ex20-23), *FLT3* (ex13-16), *IDH1* (ex4), *IDH2* (ex4), *NPM1* (ex11), *RUNX1* (ex2-9), *SF3B1* (ex14-16), *SRSF2* (ex1-2), *TET2* (ex2-10), *TP53* (ex2-11), *U2AF2* (ex2,6), *KIT* (ex17), *WT1* (ex7-9), *CEBPA* (ex1), *ZRSR2* (ex1-11), *JAK2* (ex12, 14), *GATA2* (ex1-7), а также *ABL1* (ex4-9) – всего 19 генов.

Замороженные клетки крови для проведения ВПС отбирали из биобанка лаборатории молекулярной гематологии НМИЦ гематологии. Для исследования использовалась геномная ДНК, выделенная из замороженных клеток крови с помощью модифицированного метода солевой экстракции, в основе которого лежит осаждение белков в присутствии  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , осаждение ДНК изопропанолом и промывка 70% этиловым спиртом [76].

Перед проведением ВПС выполнялось измерение концентрации ДНК с использованием набора Qubit dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США) и разведение ДНК до необходимой концентрации 5-10 пмоль/мл. Пробоподготовка материала проводилась с применением модулей Prep&Seq™ U-target (PARSEQLAB, Россия). Таргетное обогащение геномной ДНК осуществлялось с использованием готовых пулов урацил-содержащих праймеров для исследуемой панели генов. Далее следовал этап отрезания праймеров с восстановлением концов

ампликонов, после чего осуществлялось лигирование адаптерных последовательностей к ампликонам и очистка продуктов лигирования с использованием магнитных частиц. На этапе амплификации библиотек проводилось индексирование ампликонов с помощью праймеров, затем выполнялась очистка библиотек после обогащения. Для количественной оценки библиотек, прошедших этап амплификации, использовали флуориметр Qubit и набор Qubit dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США). После разведения до оптимальной рассчитанной концентрации и пулирования библиотек проводилось ВПС на генетическом анализаторе MiSeq (Illumina, США). Биоинформатическая обработка осуществлялась с помощью программного обеспечения Seq&Go (PARSEQLAB, Россия). Среднее покрытие составляло 1000х. В качестве референсной использовали сборку генома GRCh38.

#### *Валидация полученных при ВПС данных*

После компьютерной обработки полученных данных секвенирования проводился отбор потенциально клинически значимых генетических вариантов. При анализе учитывались однонуклеотидные замены, делеции, инсерции, дубликации в экзонах, приводящие к аминокислотным заменам, и мутации в зоне сплайсинга, встречающиеся с частотой  $<1\%$  в популяции, и имеющие  $VAF \geq 5\%$ . При анализе не учитывались благоприятные генетические варианты по данным баз Franklin by Genoox [85], ClinVar [53], COSMIC [67]. Условно патогенные, патогенные и варианты неясного значения были включены в анализ.

Валидация соматического происхождения генетических вариантов проводилась с учетом VAF. Больным, у которых во всех имеющихся образцах была выявлена мутация с VAF близкой к 50% (38-55%) для исключения или подтверждения ее герминального происхождения проводилось контрольное секвенирование методом Сэнгера гена в нелейкемических клетках (буккальный эпителий, образец крови в ремиссии). Контрольное секвенирование по Сэнгеру не проводилось в случае обнаружения мутаций гена *ABL1*, которые считались

присутствующими в приобретенном химерном гене *BCR::ABL1*, а также при VAF мутации любого гена  $<38\%$  или при отсутствии мутации в парном образце при сохранной структуре хромосомы, на которой расположен ген - вариант в этом случае считали соматическим.

## 2.4 Статистическая обработка данных

Статистический анализ проводился при поддержке группы биostatистики информационно-аналитического отдела (начальник отдела к.т.н Куликов С.М.) и начальника отдела анализа обеспечения лекарственными препаратами и обращения медицинских изделий в субъектах Российской Федерации к.м.н. Шухова О.А.. Для статистической обработки данных использовали методы описательной статистики, частотного анализа, процедуры линейного регрессионного анализа, двухфакторные и многофакторные модели событийного анализа. Для проверки гипотез о различиях распределений категориальных признаков в группах сравнения использовался анализ таблиц сопряженности. Для оценки значимости применяли двусторонний критерий Фишера (для таблиц  $2 \times 2$ ) и критерий  $\chi^2$  для таблиц большей размерности в случае, если минимальное ожидаемое значение для каждой градации более 5. В качестве меры связи приведено отношение шансов (ОШ) с соответствующим 95% доверительным интервалом. Для проверки гипотез о наличии различий в распределениях числовых показателей в группах сравнения использовали непараметрический ранговый критерий Манна-Уитни. В ряде случаев после проверки гипотезы о нормальности распределения количественных показателей и при необходимости нормализующих преобразований использовали также многофакторные методы регрессионного и дисперсионного анализа.

Анализ эффективности терапии с использованием различных базовых конечных точек проводили с помощью методов событийного анализа. В качестве конечных точек использовали ОВ, ВБП; вероятности достижения ПЦО, БМО и

ГМО. При анализе ОВ время определяли как длительность временного интервала от момента начала терапии асциминибом до смерти от любой причины либо до даты последнего контакта с пациентом (цензурирование). При анализе ВБП время определяли как длительность интервала от даты начала терапии до даты первого неблагоприятного события (прогрессирования заболевания, смерти от любой причины) либо даты последнего контакта с пациентом (цензурирование). При анализе выживаемости без смены терапии время определяли как длительность интервала от даты начала терапии до прекращения терапии асциминибом или смерти от любой причины; либо даты последнего контакта с пациентом (цензурирование).

Для анализа вероятности достижения ПЦО/БМО/ГМО точкой начала отсчета являлась дата начала терапии асциминибом. Временной интервал до события отсчитывали от даты начала отсчета до даты получения соответствующего ответа, временной интервал до конкурирующего события отсчитывали от даты начала отсчета до наступления первого конкурирующего события (прогрессия или смерть). Пациенты, у которых не был получен ответ и не было зафиксировано конкурирующего события были цензурированы датой последнего контакта (цензурирование). Анализ вероятности достижения ПЦО/БМО/ГМО проводился с использованием функции оценки кумулятивной частоты событий с применением теста Грея для сравнения данных между группами.

## Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1 Результаты секвенирования генов миелоидной панели у больных хроническим миелолейкозом

#### 3.1.1 Частота выявления соматических мутаций генов миелоидной панели у больных хроническим миелолейкозом

Проведен сравнительный анализ частоты встречаемости соматических мутаций в генах миелоидной панели (*ASXL1*, *DNMT3A*, *FLT3*, *IDH1*, *IDH2*, *NPM1*, *RUNX1*, *SF3B1*, *SRSF2*, *TET2*, *TP53*, *U2AF2*, *KIT*, *WT1*, *CEBPA*, *ZRSR2*, *JAK2*, *GATA2*), без учета *ABL1*, в точке «2», на фоне лечения, в группах больных с неудачей терапии и оптимальным ответом. Соматические мутации генов миелоидной панели достоверно чаще определялись у больных в группе «неудача терапии», чем в группе «контроля», у больных с оптимальным ответом: 52% против 7% ( $p=0,0002$ , отношение рисков 14,06) (Рисунок 4).

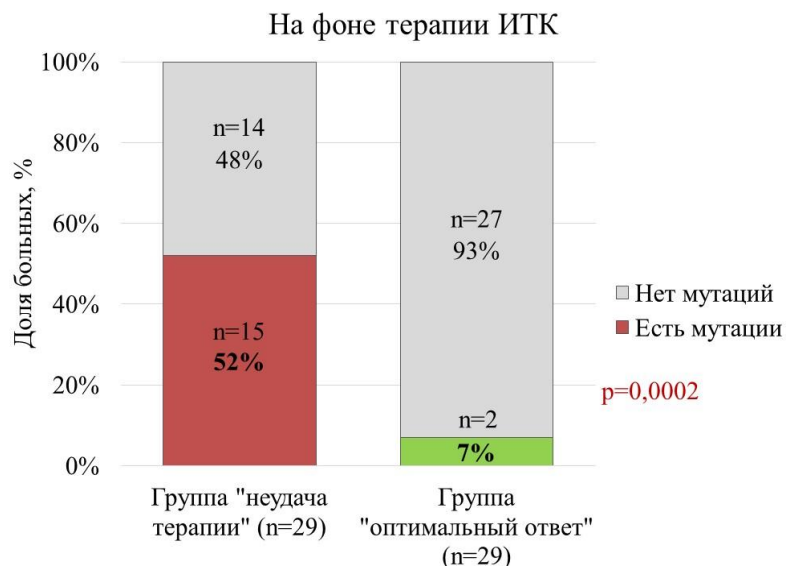


Рисунок 4 - Частота встречаемости соматических мутаций в группах «неудача терапии» и «оптимальный ответ» на фоне лечения, в точке «2»

По результатам оценки молекулярно-генетического профиля клеток крови у больных на момент установления диагноза ХМЛ, с учетом архивных данных ПЭС, было показано, что в дебюте ХМЛ соматические мутации генов миелоидной панели значительно чаще выявлялись у больных в группе «неудача терапии», чем в группе «оптимальный ответ»: 46% против 5% ( $p=0,0037$ , отношение рисков 8,41) (Рисунок 5) [17].

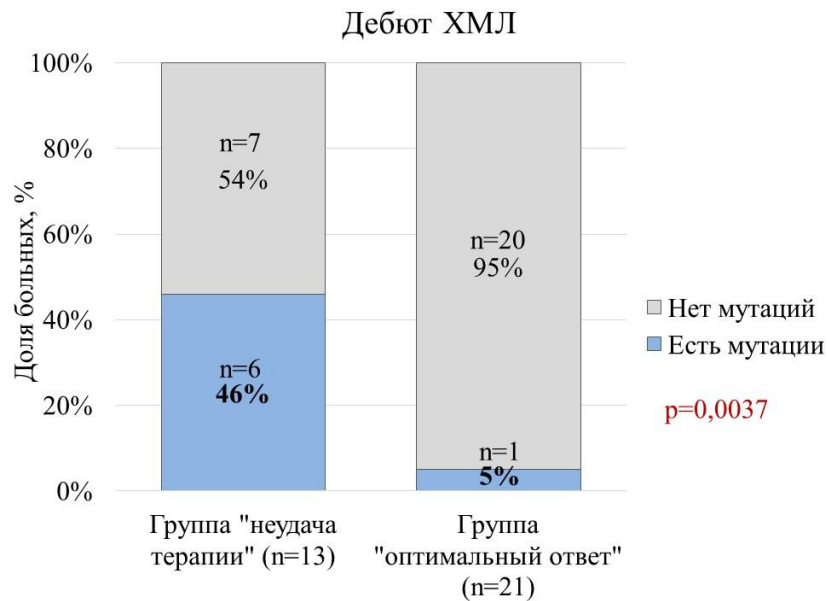


Рисунок 5 - Частота встречаемости соматических мутаций в группах «неудача терапии» и «оптимальный ответ» на момент установления диагноза ХМЛ, в точке «1»

### 3.1.2 Мутационный профиль клеток крови у больных с неудачей терапии ингибиторами тирозинкиназ

В группе больных с неудачей терапии в точке «2» мутации генов миелоидной панели, включая ген *ABL1*, выявлены у 19 (66%) из 29 пациентов. Всего обнаружено 35 мутаций в 8 генах: *ABL1* - у 11 (38%) пациентов, *ASXL1* - у 9 (31%), *DNMT3A* - у 3 (10%), *RUNX1*, *CEBPA* - по 2 пациента (7%), *WT1*, *NPM1*, *TET2* – по одному пациенту (3,5%) (Рисунок 6). Медиана VAF вариантов составила 27% (диапазон 5-50%). Частота встречаемости мутаций всех генов значимо не различалась в

зависимости от фазы ХМЛ: мутации выявлены у 11 (61%) из 18 пациентов в ХФ, у 4 (67%) из 6 – в ФА и у 4 (80%) из 5 - в БК ( $p=0,7$ ).

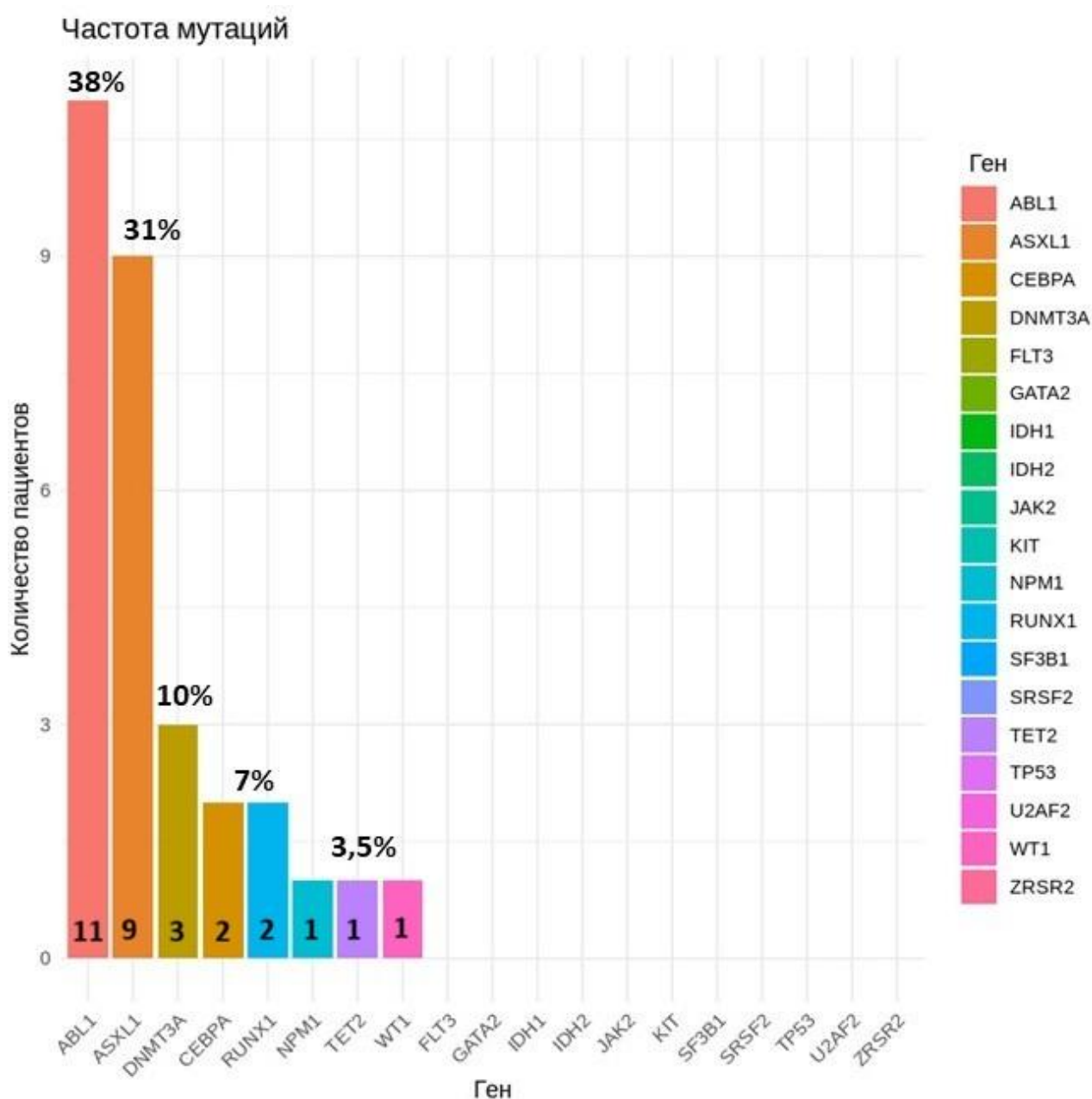


Рисунок 6 – Спектр и частота выявления мутаций в группе больных с неудачей терапии в точке «2» (n=29)

У 9 (31%) из 29 пациентов из группы «неудача терапии» выявлено более 1 мутации (от 2 до 4), в том числе несколько мутаций в одном гене (Рисунок 7). У 3 (7%) из 29 больных выявлено по 2 мутации, у 5 (10%) больных - по 3 мутации, у 1 (3,5%) пациента с БК обнаружено 4 мутации: 3 мутации в гене *ABL1* и 1 мутация в гене *CEBPA*. У 7 (24%) из 29 пациентов отмечалось сочетание мутаций гена *ABL1*

и другого гена, наиболее часто сочетались мутации в генах *ABL1* и *ASXL1* - у 4 (14%) из 29 пациентов.

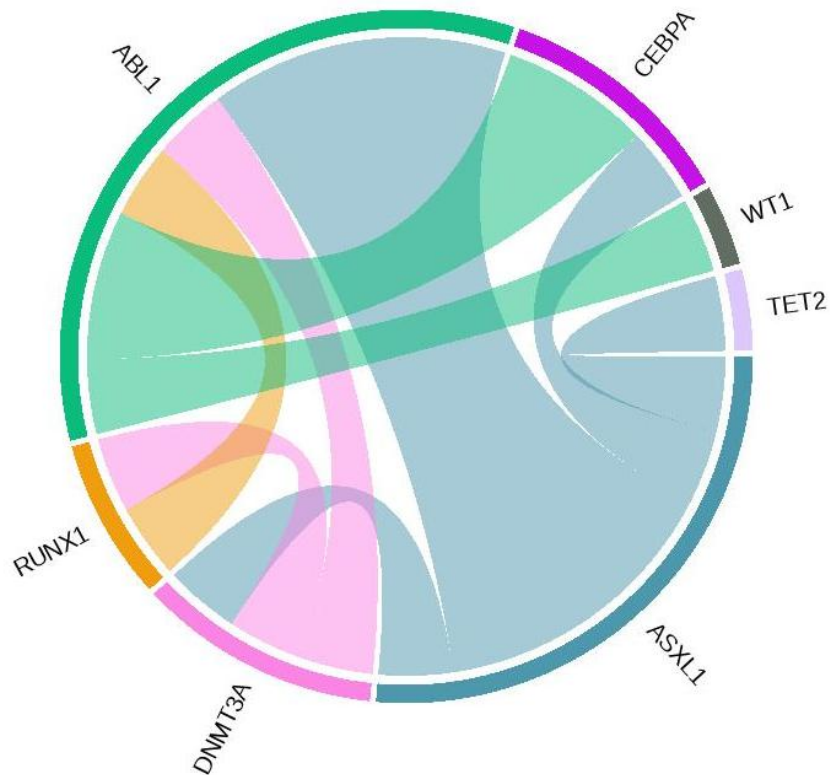


Рисунок 7 – Сочетание мутаций генов в группе больных с неудачей терапии в точке «2» (n=9)

Соматические мутации в 7 генах миелоидной панели, за исключением *ABL1* (*ASXL1*, *DNMT3A*, *RUNX1*, *CEBPA*, *WT1*, *NPM1*, *TET2*), выявлены у 15 (52%) из 29 больных. Частота встречаемости мутаций этих генов не различалась в зависимости от фазы ХМЛ: мутации определялись у 8 из 18 (44%) больных в ХФ, 4 из 6 (67%) - в ФА и у 3 из 5 (60%) - в БК ( $p=0,6$ ) (Рисунок 8).

## Индивидуальный номер пациента

Ген	P22	P4	P15	P23	P1	P5	P7	P11	P2	P8	P21	P17	P14	P19	P26	P29	P18	P27	P10
<i>ABL1</i>	1	1	1	1	3	1	2	1	1	1	1								
<i>ASXL1</i>	1	1	1	1								1	2	1	1	1			
<i>DNMT3A</i>				1													1	1	
<i>RUNX1</i>							1										1		
<i>CEBPA</i>		1			1														
<i>NPM1</i>																			1
<i>WT1</i>								2											
<i>TET2</i>													1						

■ бластный криз

■ фаза акселерации

■ хроническая фаза

Рисунок 8 – Спектр и число мутаций в группе «неудача терапии» в точке «2» в зависимости от фазы заболевания. Представлены только больные, у которых выявлены мутации генов (n=19)

Характеристика мутаций генов, которые встречались у больных из группы «неудача терапии», отображена в Таблицах 11 и 12. Полученные результаты секвенирования гена *ABL1* совпадали с анамнестическими данными о мутационном статусе *BCR::ABL1* для тех больных, у кого он был известен на момент исследования.

Таблица 11 - Мутации в гене *ABL1*, выявленные у больных в группе «неудача терапии» (n=11)

Пациент	Фаза	Мутации <i>ABL1</i>		VAF, %	Патогенность (AMP)
		кДНК	Белок		
P1	ЛБК	c.756G>T	p.Q252H	6	Tier 2
		c.1075T>G	p.F359V	28	Tier 1
		c.730A>G	p.M244V	44	Tier 2
P5	ЛБК	c.1457T>C	p.F486S	23	Tier 2
P7	БК	c.756G>T	p.Q252H	29	Tier 2
		c.1135G>A	p.V379I	34	Tier 2
P11	ФА	c.944C>T	p.T315I	50	Tier 1
P22	ФА	c.944C>T	p.T315I	35	Tier 1
P15	ХФ	c.944C>T	p.T315I	39	Tier 1
P2	ХФ	c.749G>A	p.G250E	44	Tier 1
P21	ХФ	c.944C>T	p.T315I	43	Tier 1
P23	ХФ	c.1075T>G	p.F359V	12	Tier 1
P4	ХФ	c.944C>T	p.T315I	25	Tier 1
P8	ХФ	c.944C>T	p.T315I	22	Tier 1

ХФ - хроническая фаза, ФА – фаза акселерации, БК – бластный криз (неуточненный), ЛБК – лимфоидный бластный криз, VAF – variant allele frequency (аллельная нагрузка), AMP - Association for Molecular Pathology (ассоциация молекулярной патологии), Tier 1 – высокая клиническая значимость, Tier 2 – потенциальная клиническая значимость

Таблица 12 - Мутации в генах *ASXL1*, *DNMT3A*, *RUNX1*, *CEBPA*, *WT1*, *NPM1*, *TET2* выявленные у больных в группе «неудача терапии» (n=15)

Пациент	Фаза	Ген	Мутации		VAF, %	Патогенность (AMP)
			кДНК	Белок		
P4	ХФ	<i>ASXL1</i>	c.1774C>T	p.Q592*	30	Tier 1
P14	ХФ		c.2695A>C	p.I899L	50	Tier 1
P14	ХФ		c.3824C>G	p.S1275*	20	Tier 1
P15	ХФ		c.1900_1922del	p.E635Rfs*15	38	Tier 1
P17	ФА		c.2593G>T	p.E865*	19	Tier 1
P19	ХФ		c.2520del	p.V841*	44	Tier 1
P22	ФА		c.1934dup	p.G646Wfs*12	20	Tier 1
P22	ФА		c.1900_1922del	p.E635Rfs*15	24	Tier 1
P23	ХФ		c.2077C>T	p.R693*	17	Tier 1
P26	ХФ		c.1934dup	p.G646Wfs*12	15	Tier 1
P29	ХФ		c.2077C>T	p.R693*	48	Tier 1
P18	ФА		<i>DNMT3A</i>	c.2039del	p.K680Rfs*25	50
P23	ХФ	c.2480dup		p.S828Qfs*27	17	Tier 1
P27	ХФ	c.1015-2A>C		зона сплайсинга	9	Tier 1
P11	ФА	c.976C>T		p.R326C	8	Tier 1
P1	ЛБК	<i>CEBPA</i>	c.947A>G	p.E316G	5	Tier 2
P4	ХФ		c.311G>A	p.G104D	6	Tier 2
P7	БК	<i>RUNX1</i>	c.601C>T	p.R201*	30	Tier 1
P18	ФА		c.1085C>A	p.S362*	6	Tier 1
P11	ФА	<i>WT1</i>	c.1299_1300del	p.C433*	20	Tier 1
P11	ФА		c.1159del	p.A387Hfs*67	36	Tier 1
P10	МБК	<i>NPM1</i>	c.860_863dup	p.W288Cfs*12	27	Tier 1
P14	ХФ	<i>TET2</i>	c.3646C>T	p.R1216*	21	Tier 1

МБК – миелоидный бластный криз, AMP - Association for Molecular Pathology (ассоциация молекулярной патологии), Tier 1 – высокая клиническая значимость, Tier 2 – потенциальная клиническая значимость. Желтым цветом выделена герминальная мутация. Зеленым цветом выделены мутации, которые выявлены только в точке «1»

Контрольное секвенирование нелейкемического образца (буккального эпителия и образца крови в ремиссии) проводилось двум больным (P14 и P19), у которых во всех имеющихся образцах выявлены мутации генов миелоидной панели, кроме *ABL1*, с VAF >38%. У одного пациента (P14) при контрольном секвенировании биообразца буккального эпителия выявлена мутация I899L в гене *ASXL1*, таким образом подтверждено ее герминальное происхождение. Данная мутация ранее не описана в открытых базах данных. При этом на частоту выявления мутаций в группе это не повлияло, поскольку у этого больного было две

мутации в гене *ASXL1*. У второго пациента (P19) в образце крови в ремиссии мутация гена *ASXL1* не была выявлена, таким образом подтверждено ее соматическое происхождение. Мутации в генах *FLT3*, *IDH1*, *IDH2*, *SF3B1*, *SRSF2*, *TP53*, *U2AF2*, *KIT*, *ZRSR2*, *JAK2* и *GATA2* не были выявлены среди больных из группы «неудача терапии».

### 3.1.3 Результаты динамического исследования мутационного профиля в группе больных с неудачей терапии

Парные биообразцы для оценки динамики клонов методом ВПС были доступны для 21 больного из группы «неудача терапии». В точке «1» в группе «неудача терапии» мутации выявлены у 48% (10/21) больных. Всего обнаружено 15 мутаций в 4 генах: *ASXL1* – у 7 (33%), *DNMT3A* – у 4 (19%), *ABL1* – у 2 (10%), *TET2* – у 1 (5%) пациента (Таблица 13). Из 15 мутаций, выявленных в точке «1», 13 мутаций у 9 (43%) из 29 больных также выявлялись в точке «2», при этом их аллельная нагрузка менялась разнонаправленно. У 2 (9,5%) больных мутации в генах *DNMT3A* и *ASXL1*, выявленные в точке «1», более не определялись в точке «2», при этом у больных отмечалось появление мутаций в других генах и прогрессирование ХМЛ до ФА. У 11 (52%) из 29 больных в точке «2» отмечено появление 20 мутаций, не определявшихся ранее в точке «1».

Таблица 13 - Мутации в генах *ABL1*, *ASXL1*, *DNMT3A*, *RUNX1*, *CEBPA*, *WT1*, *NPM1* и *TET2*, выявленные у больных в группе «неудача терапии» в точке «1» и точке «2»

Паци- ент	Фаза ХМЛ в точке «2»	Мутации гена	Точка «1»			Точка «2»		
			Время ХМЛ, годы	VAF (%)	<i>BCR::ABL1</i> (%)	Время ХМЛ, годы	VAF (%)	<i>BCR::ABL1</i> (%)
P1	ЛБК	<i>ABL1</i>	0	0	66	1,2	6	54
		<i>ABL1</i>	0	0	66	1,2	28	54
		<i>ABL1</i>	0	0	66	1,2	44	54
		<i>CEBPA</i>	0	0	66	1,2	5	54
P5	ЛБК	<i>ABL1</i>	0	0	44	1,1	23	54

Продолжение таблицы 13

P7	БК	<i>ABL1</i>	0,3	0	0,13	4	29	66
		<i>RUNX1</i>	0,3	0	0,13	4	30	66
		<i>ABL1</i>	0,3	0	0,13	4	34	66
P11	ФА	<i>WT1</i>	7,3	0	4	9,7	20	68
		<i>WT1</i>	7,3	0	4	9,7	36	68
		<i>DNMT3A</i>	7,3	8	4	9,7	0	68
		<i>ABL1</i>	7,3	8	4	9,7	50	68
P17	ФА	<i>ASXL1</i>	0	8	193	3	19	29
P18	ФА	<i>RUNX1</i>	0	0	96	1,5	6	81
		<i>DNMT3A</i>	0	36	96	1,5	50	81
P22	ФА	<i>ASXL1</i>	0,7	0	19	4,7	20	79
		<i>ABL1</i>	0,7	0	19	4,7	35	79
		<i>ASXL1</i>	0,7	24	19	4,7	0	79
P14	ХФ	<i>TET2</i>	8,4	26	22	18	21	35
		<i>ASXL1</i>	8,4	48	22	18	50	35
		<i>ASXL1</i>	8,4	25	22	18	20	35
P15	ХФ	<i>ASXL1</i>	1,8	35	36	3,6	38	36
		<i>ABL1</i>	1,8	52	36	3,6	39	36
P19	ХФ	<i>ASXL1</i>	20,7	38	70	22,3	44	84
P21	ХФ	<i>ABL1</i>	11,4	0	61	15,3	43	66
P23	ХФ	<i>ABL1</i>	0	0	61	6	12	27
		<i>ASXL1</i>	0	40	61	6	17	27
		<i>DNMT3A</i>	0	47	61	6	17	27
P26	ХФ	<i>ASXL1</i>	0	33	39	1,2	15	13
P27	ХФ	<i>DNMT3A</i>	0,3	30	58	4,7	9	15
P29	ХФ	<i>ASXL1</i>	0	0	141	5,7	48	150
P4	ХФ	<i>ABL1</i>	9,5	0	15	13	25	52
		<i>ASXL1</i>	9,5	0	15	13	30	52
		<i>CEBPA</i>	9,5	0	15	13	6	52
P8	ХФ	<i>ABL1</i>	0	0	35	4,8	22	29

ХМЛ - хронический миелолейкоз, ХФ - хроническая фаза, ФА – фаза акселерации, БК – бластный криз (неуточненный), ЛБК – лимфоидный бластный криз, VAF – variant allele frequency (аллельная нагрузка). Желтым цветом выделена герминальная мутация. Синим цветом обозначено наличие мутации в каждой точке

На Рисунке 9 схематично отображена динамика мутантных клонов и аллельная нагрузка мутаций среди больных, у которых образец в точке «1» был взят на момент диагностики ХМЛ, с учетом архивных данных ПЭС (n=13). Среди этих пациентов различали следующие варианты динамики клонов: появление 9 мутаций в генах *ABL1*, *CEBPA*, *ASXL1* и *RUNX1* у 46% (6/13) больных, персистенция 5 мутаций в генах *ASXL1* и *DNMT3A* у 31% (4/13) больных, исчезновение 2 мутаций в гене *ASXL1* у 15% (2/13) больных.

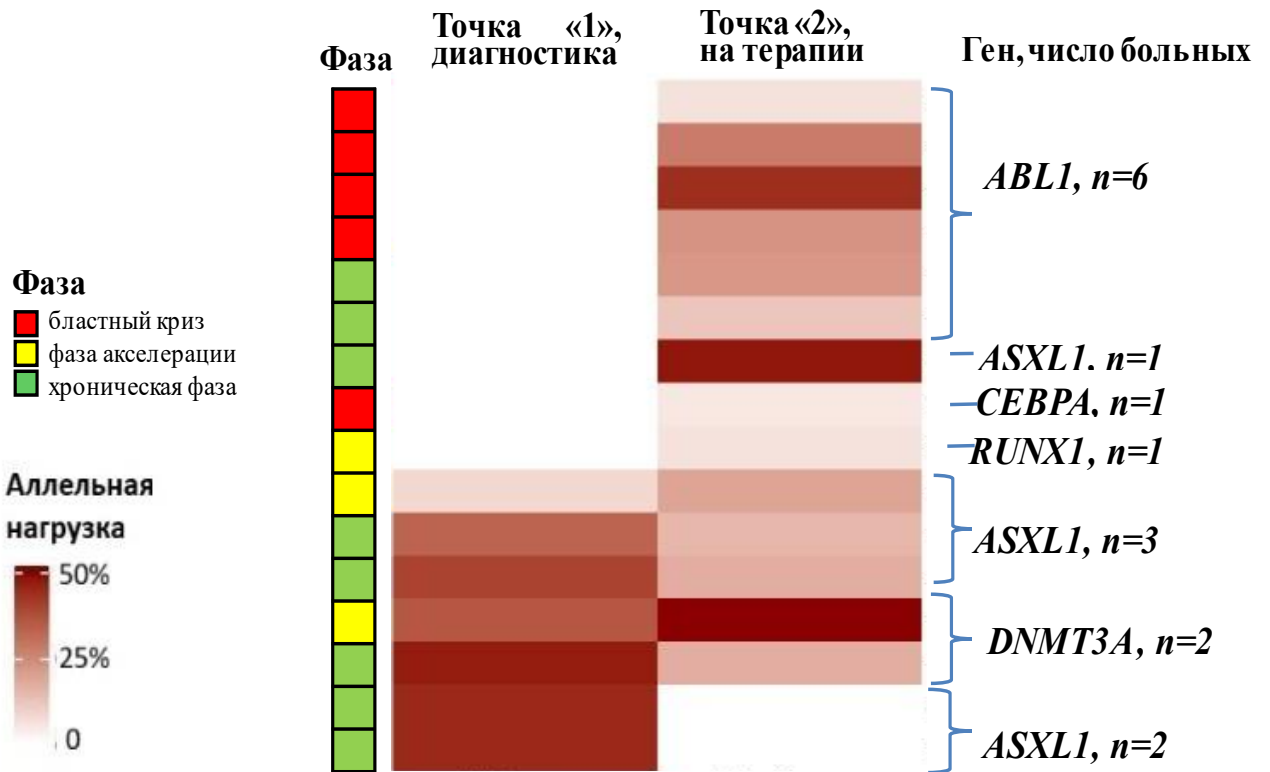


Рисунок 9 – Мутации генов в точке «1» (дебют ХМЛ) и точке «2» у больных из группы «неудача терапии», имеющих биообразцы с этапа первичной диагностики (n=13)

Таким образом, соматические мутации генов преимущественно персистировали или появлялись на фоне лечения у больных с неудачей терапии. Отмечено, что мутации в гене *ABL1* отсутствовали при первичной диагностике ХМЛ и появлялись у больных на фоне лечения. Также при прогрессировании или резистентности ХМЛ появлялись мутации в генах *CEBPA*, *RUNX1* и *WT1*, которые ассоциируются с другими миелоидными новообразованиями, в то время как мутации в генах, связанных с клональным кроветворением (*ASXL1*, *DNMT3A*, *TET2*) персистировали. У 2 больных исчезновение мутаций *ASXL1* может быть связано со слишком низким уровнем экспрессии гена *BCR::ABL1* в точке «2» (0,9%). При прогрессировании в БК ХМЛ все мутации появились в динамике и отсутствовали в точке «1».

Два клинических случая позволили наблюдать клональную эволюцию и последовавшую за ней прогрессию заболевания. У одного больного (P11) с

прогрессией заболевания до ФА (по критериям наличия ДХА в Ph-положительном клоне – моносомии 7 хромосомы) при исследовании на фоне терапии в точке «1» выявлялись мутации генов *DNMT3A* и *ABL1* (T315I). При исследовании спустя 2,5 года терапии асциминибом в точке «2» сохранялась мутация гена *ABL1* (T315I), но мутация гена *DNMT3A* уже не определялась; при этом появились 2 мутации в гене *WT1*. Спустя 4 месяца после анализа у больного произошло прогрессирование заболевания в БК и вскоре он умер (Рисунок 10).

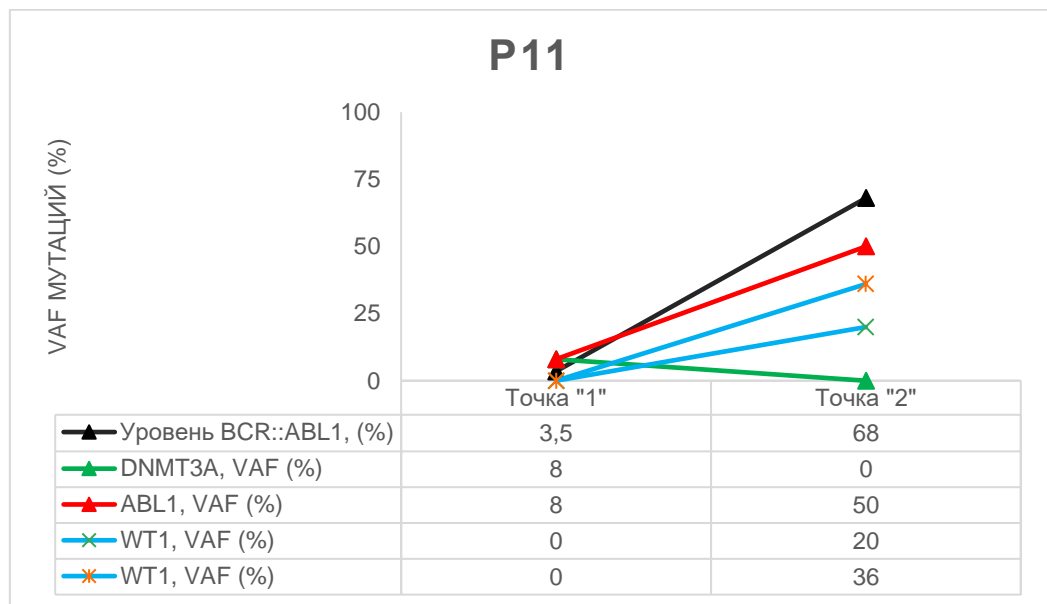


Рисунок 10 – Динамика мутационного статуса у больного P11 из группы неудачи терапии

У второго больного (P18) при исследовании мутационного статуса на момент диагностики ХМЛ в точке «1» выявлялась мутация гена *DNMT3A*. При исследовании спустя 1,5 года лечения ИТК в точке «2» зафиксировано прогрессирование заболевания до ФА (по наличию ДХА и избытка бластных клеток в гемограмме), а также появление мутации гена *RUNX1* при сохранении мутации гена *DNMT3A*. Спустя 10 месяцев после появления мутации *RUNX1* отмечено прогрессирование заболевания в БК, и больной также умер. Полученные данные указывают на то, что у больных с неэффективностью проводимой терапии при сохранении Ph-положительного клона со временем возникают новые

генетические события, которые могут способствовать трансформации заболевания в продвинутые фазы (Рисунок 11).

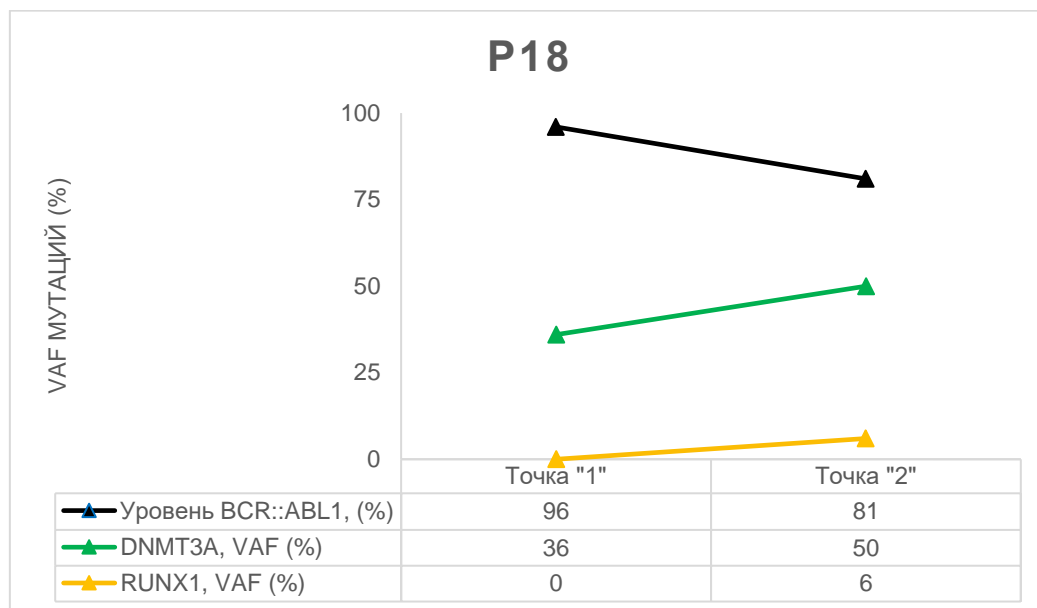


Рисунок 11 – Динамика мутационного статуса у больного P18 из группы неудачи терапии

### 3.1.4 Факторы, ассоциированные с наличием мутаций генов миелоидной панели у больных с неудачей терапии

Проведено сравнение базовых клинико-лабораторных характеристик больных из группы «неудача терапии» в зависимости от наличия соматических мутаций генов миелоидной панели, без учета *ABL1*, в точке «2» (n=29) (Таблица 15). Показано, что наличие соматических мутаций генов у пациентов не связано с группой риска по ELTS, наличием мутаций *BCR::ABL1*, ДХА и фазой заболевания. В то же время соматические мутации чаще выявлялись у больных с уровнем транскрипта *BCR::ABL1*  $\geq 10\%$ , только у одного пациента с уровнем *BCR::ABL1*  $< 10\%$  (*BCR::ABL1<sup>IS</sup>* составил 4%) выявлены мутации генов.

Таблица 15 - Сравнение клинико-лабораторных параметров больных из группы «неудача терапии», в зависимости от наличия или отсутствия мутаций в генах *ASXL1*, *DNMT3A*, *RUNX1*, *CEBPA*, *WT1*, *TET2* и *NPM1* в точке «2» (n=29)

Параметры		Соматические мутации генов миелоидной панели (n=29)		p
		Выявлены (n=15)	Не выявлены (n=14)	
Возраст Me, годы, (мин-макс)		61 (40-81)	53 (40-71)	0,25
Пол, женский, n (%)		8 (53%)	6 (43%)	0,573
Группа риска по ELTS	Низкий	5 (33%)	6 (43%)	0,181
	Промежуточный	4 (27%)	7 (50%)	
	Высокий	3 (20%)	0 (0%)	
	Нет данных	3 (20%)	1 (7%)	
Длительность ХМЛ до анализа, Me, годы, (мин-макс)		5,2 (1,5-22,3)	5,1 (1,8-15,3)	0,85
Мутации <i>BCR::ABL1</i> , n (%)		6 (40%)	4 (29%)	0,518
ДХА в Rh+клетках, n (%)		4 (27%)	3 (21%)	0,742
Число предшествующих линий ИТК, n (%)	≤4	10 (67%)	12 (86%)	0,231
	>4	5 (33%)	2 (14%)	
Наилучший молекулярный ответ на предыдущих линиях терапии, n (%)	<i>BCR::ABL1</i> <1 %	5 (33%)	8 (57%)	0,198
	<i>BCR::ABL1</i> ≥1 %	10 (67%)	6 (43%)	
Молекулярный ответ на момент анализа, n (%)	<i>BCR::ABL1</i> <10 %	1 (0%)	6 (43%)	0,023
	<i>BCR::ABL1</i> ≥10 %	14 (75%)	8 (57%)	
Фаза	ХФ	8 (53%)	10 (72%)	0,59
	ФА	4 (27%)	2 (14%)	
	БК	3 (20%)	2 (14%)	
Me – медиана, ELTS - EUTOS long-term survival, ХМЛ - хронический миелолейкоз, ДХА – дополнительные хромосомные аномалии, ИТК- ингибиторы тирозинкиназ, ХФ - хроническая фаза, ФА – фаза акселерации, БК – бластный криз				

Проведен сравнительный анализ базовых характеристик больных, имеющих только мутации генов клонального кроветворения *ASXL1*, *TET2*, *DNMT3A* (n=9) и больных, у которых выявлены мутации генов, встречающиеся при миелоидных новообразованиях - *CEBPA*, *RUNX1*, *NPM1*, *WT1* (n=6) (Таблица 16). Отмечено, наличие мутаций генов *CEBPA*, *RUNX1*, *NPM1*, *WT1* ассоциируется с продвинутыми фазами (ФА/БК) ХМЛ (p=0,028). Кроме того, у 7 (78%) из 9 больных мутации *ASXL1*, *TET2*, *DNMT3A* определялись с момента диагностики ХМЛ, а мутации генов *CEBPA*, *RUNX1*, *NPM1*, *WT1* у всех больных появились на фоне терапии. Различий в других характеристиках между больными с разными мутациями генов не было.

Таблица 16 - Сравнение клинико-лабораторных параметров больных из группы «неудача терапии» с разными мутациями генов (n=15)

Параметры	Какие мутации генов обнаружены (n=15)		p
	<i>ASXL1</i> , <i>TET2</i> , <i>DNMT3A</i> (n=9)	<i>CEBPA</i> , <i>RUNX1</i> , <i>NPM1</i> , <i>WT1</i> (n=6)	
Возраст Me, годы, (мин-макс)	60 (40-72)	58 (30-81)	0,860
Пол, женский/мужской, n	5/4	3/3	0,833
Группа риска по ELTS, низкий/промежуточный/высокий/нет данных	2/4/1/2	3/0/2/1	0,218
Длительность ХМЛ до анализа, Me, годы, (мин-макс)	4,7 (1,2-22,3)	2,8 (0,6-13)	0,317
Мутации <i>BCR::ABL1</i> , есть/нет, n	3/6	4/2	0,205
ДХА в Ph+клетках, есть/нет, n	2/7	2/4	0,634
Наилучший молекулярный ответ на предыдущих линиях терапии, n (%)	<i>BCR::ABL1</i> <1 %	2 (22%)	0,264
	<i>BCR::ABL1</i> ≥1 %	7 (78%)	
Молекулярный ответ на момент анализа, n (%)	<i>BCR::ABL1</i> <10 %	0	0,205
	<i>BCR::ABL1</i> ≥10 %	9 (100%)	
Фаза, ХФ/ФА/БК, n	7/2/0	1/2/3	0,028
Me – медиана, ELTS - EUTOS long-term survival, ХМЛ - хронический миелолейкоз, ДХА – дополнительные хромосомные аномалии, ИТК- ингибиторы тирозинкиназ, ХФ - хроническая фаза, ФА – фаза акселерации, БК – бластный криз			

### 3.1.5 Спектр и динамика соматических мутаций в группе больных с оптимальным ответом

В группе «контроль», больных с оптимальным ответом, в точке «2» у 7% (2/29) пациентов обнаружены мутации в генах *DNMT3A* и *TP53* (Рисунок 12). В точке «1», на момент диагностики ХМЛ, у обоих больных эти мутации не выявлялись.

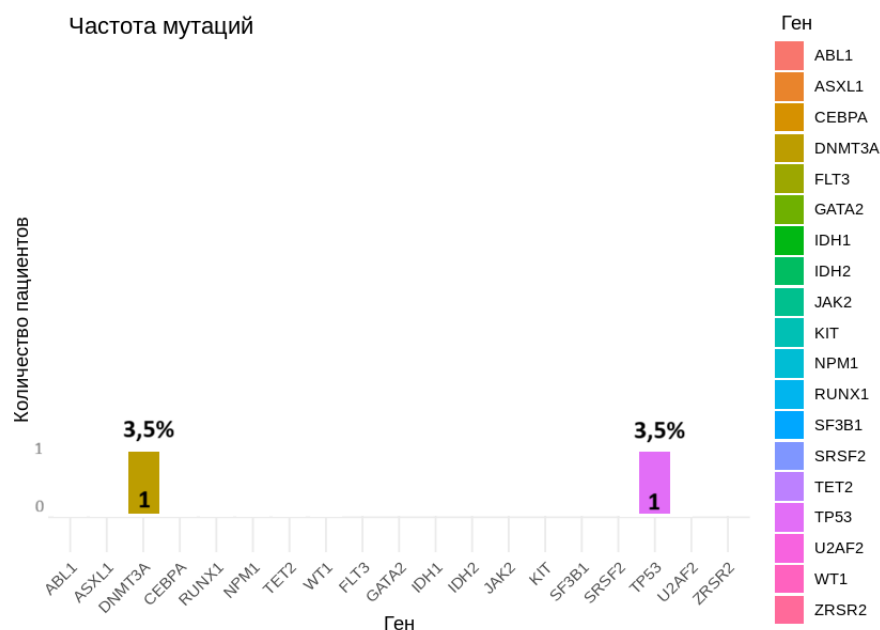


Рисунок 12 – Спектр и частота выявления мутаций в группе больных с оптимальным ответом в точке «2» (n=29)

На момент первичной диагностики ХМЛ, в точке «1», у 7% (1/14) пациентов была выявлена мутация в гене *ASXL1*, при этом в точке «2» на момент оптимального ответа на терапию ИТК у пациента данная мутация не выявлялась (Таблица 14). У двух пациентов из группы оптимального ответа отсутствовал ГМО на момент анализа в точке «2», что связано с его потерей на фоне запланированной отмены терапии ИТК. У остальных больных в группе «контроль» мутации не выявлены.

Таблица 14 - Мутации в генах *TP53*, *ASXL1* и *DNMT3A*, выявленные у больных в группе «оптимальный ответ» в точке «1» и точке «2» (n=3)

Паци-ент	Ген	Мутации	Диагностика ХМЛ		На фоне терапии		Патоген-ность (AMP)
			VAF (%)	<i>BCR::ABL1</i> (%)	VAF (%)	<i>BCR::ABL1</i> (%)	
1	<i>TP53</i>	c.1111T>C: p.S371P	0	42	9	0	Tier 2
2	<i>DNMT3A</i>	c.2185C>T: p.R729W	0	78	5	0,129	Tier 1
3	<i>ASXL1</i>	c.2089del: p.L697Cfs*6	5	149	0	0,011	Tier 1

ХМЛ - хронический миелолейкоз, VAF – variant allele frequency (аллельная нагрузка), AMP - Association for Molecular Pathology (ассоциация молекулярной патологии), Tier 1 – высокая клиническая значимость, Tier 2 – потенциальная клиническая значимость. Синим цветом обозначено наличие мутации в каждой точке. Представлены только больные, у которых выявлены мутации генов (n=3)

### 3.2 Результаты терапии аллостерическим ингибитором тирозинкиназ в программе управляемого доступа

#### 3.2.1 Выживаемость больных хроническим миелолейкозом при терапии асциминибом

Медиана наблюдения за больными, участвующими в программе управляемого доступа к асциминибу MAP (n=68) составила 37 месяцев (диапазон 9-61 мес.), медиана длительности лечения асциминибом – 31 месяц (диапазон 3-57 мес.). Общая 3-летняя выживаемость среди всех пациентов составила 93% (Рисунок 13). Всего умерло 4 больных после прекращения лечения асциминибом от прогрессирования ХМЛ: 3 в дозовой группе 40 мг 2 р/сут (Т315I-), 1 – в дозовой группе 200 мг 2 р/сут (Т315I+). У всех умерших больных до включения в программу на предыдущих линиях не был достигнут ПЦО/МО2, у 3 из 4 больных на момент начала терапии асциминибом присутствовали ДХА высокого риска и отсутствовал гематологический ответ.

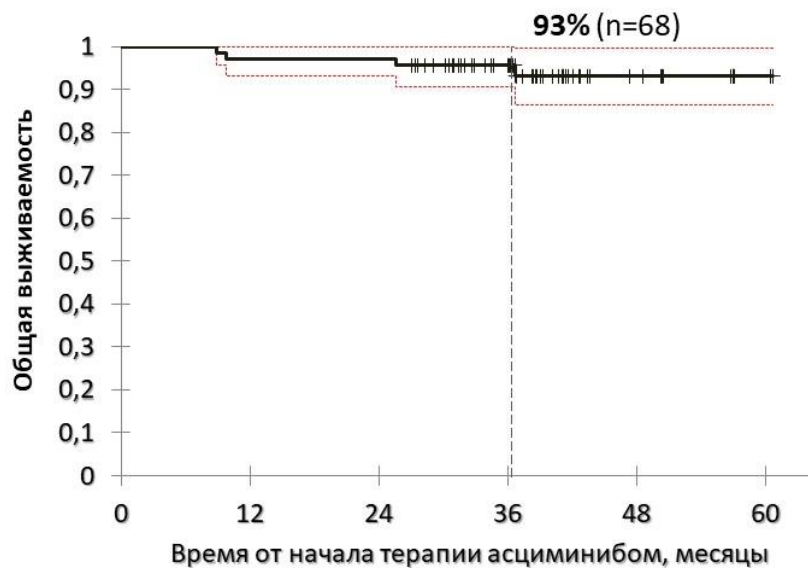


Рисунок 13 – Трехлетняя общая выживаемость больных, получающих терапию асциминибом в программе MAP (n=68)

Трехлетняя ВБП среди всех больных составила 90% (Рисунок 14). Прогрессирование до ФА произошло у 3 больных: один больной из дозовой группы 40 мг 2 р/сут в результате умер, второй больной из дозовой группы 200 мг 2 р/сут переведен на экспериментальную комбинированную терапию понатинибом с венетоклаксом. Третий больной получал асциминиб в дозе 40 мг 2 р/сут, однако имел мутацию Т315I на момент начала терапии, о чем стало известно спустя 4 месяца после начала терапии асциминибом. После прекращения участия в программе больному выполнена алло-ТГСК, после чего был достигнут ГМО.

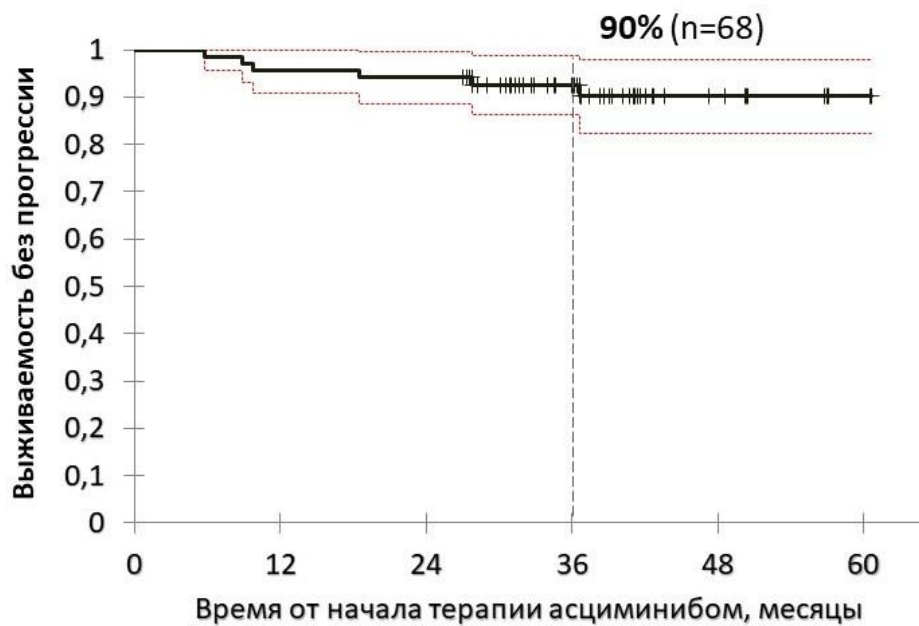


Рисунок 14 – Трехлетняя выживаемость без прогрессии больных, получающих терапию асциминибом в программе MAP (n=68)

Трехлетняя выживаемость без смены терапии асциминибом составила 58% (Рисунок 15). Терапия асциминибом прекращена у 30 (44%) из 68 больных: 18 из дозовой группы 40 мг 2 р/сут и 12 больных из группы 200 мг 2 р/сут.

Для 11 из 30 прекративших лечение больных асциминиб являлся предшествующим алло-ТГСК этапом терапии. У 4 из них на фоне лечения асциминибом был достигнут как минимум ПЦО/МО2, у остальных 7 больных молекулярный ответ перед алло-ТГСК достигнут не был. Все больные, которым выполнена алло-ТГСК, живы на момент проведения анализа.

По причине резистентности лечение асциминибом прекратили 19 пациентов, алло-ТГСК им не выполнялась. Четверо из 19 больных умерли на момент анализа. Семи больным (4 из группы 40 мг 2 р/сут и 3 из группы 200 мг 2 р/сут) после неудачи монотерапии асциминибом была начата комбинированная терапия асциминибом в сочетании с другим ИТК (иматиниб 400 мг/сут, дазатиниб 50-100 мг/сут, бозутиниб 300 мг/сут). На фоне комбинированной терапии у двоих пациентов достигнут ГМО, у 1 – ПЦО, у 1 пациента – частичный цитогенетический ответ впервые за всю историю болезни, и у 1 пациента – только ПГО. У двоих больных комбинированная терапия оказалась неэффективной, впоследствии они умерли от прогрессирования болезни. Остальные 8 пациентов после прекращения терапии асциминибом переведены на альтернативную терапию.

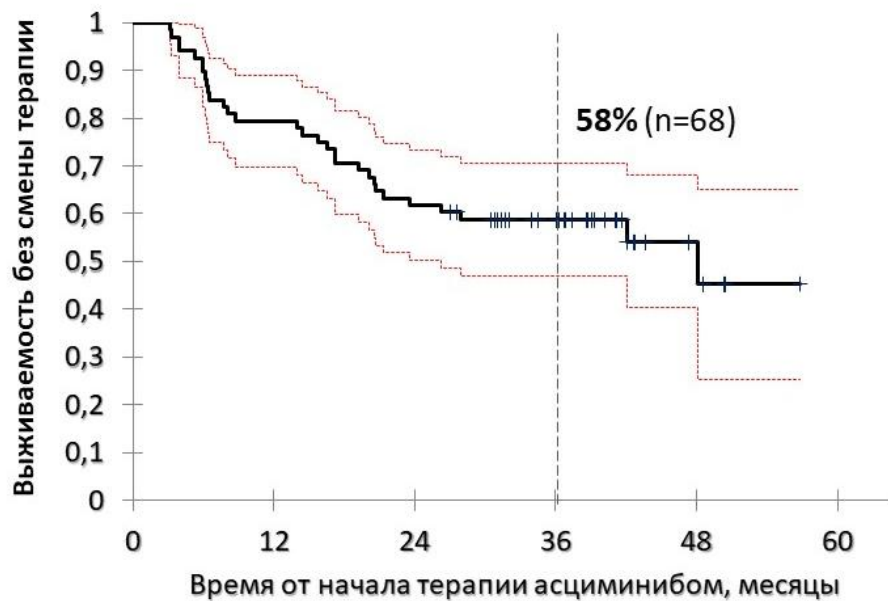


Рисунок 15 – Трехлетняя выживаемость без смены терапии больных, получающих терапию асциминибом в программе MAP (n=68)

Проведен анализ влияния ряда потенциально неблагоприятных факторов на трехлетнюю ВБП на фоне терапии асциминибом. Такие факторы, как наличие мутаций гена *BCR::ABL1* (T315I или других), наилучший молекулярный ответ в анамнезе (*BCR::ABL1*<sup>IS</sup> < 1%, 1-10%, > 10%) и принадлежность к разным дозовым группам (200 мг 2 р/сут – больные с мутацией T315I, и 40 мг 2 р/сут – больные без

мутации T315I), не оказали влияния на ВБП. Однако наличие ДХА в любое время в анамнезе оказало неблагоприятное влияние на ВБП ( $p=0,0474$ ) (Рисунок 16).

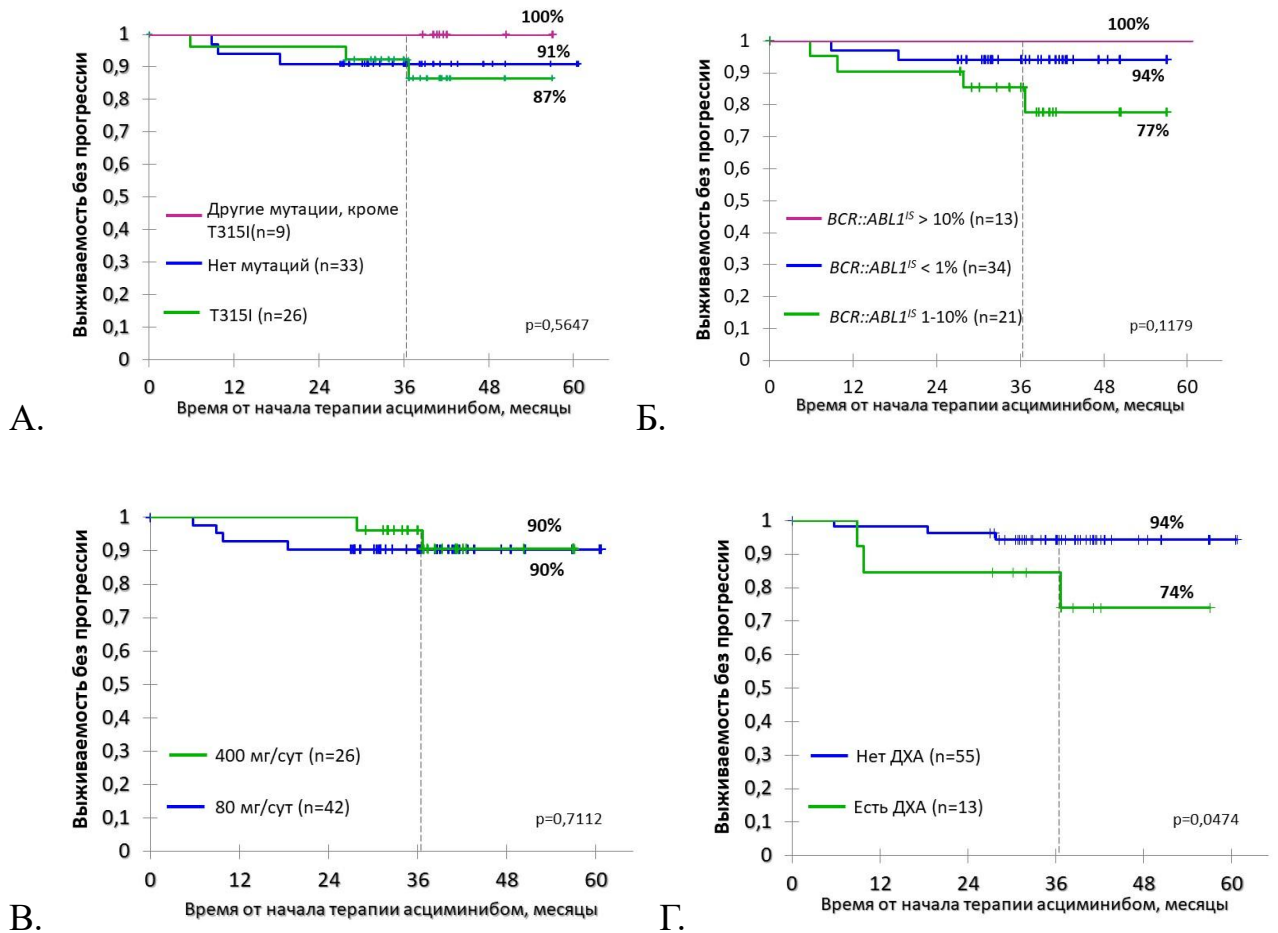


Рисунок 16 – Трехлетняя выживаемость без прогрессии в зависимости от различных факторов: А. Мутации *BCR::ABL1*. Б. Лучший уровень *BCR::ABL1<sup>IS</sup>* в анамнезе. В.

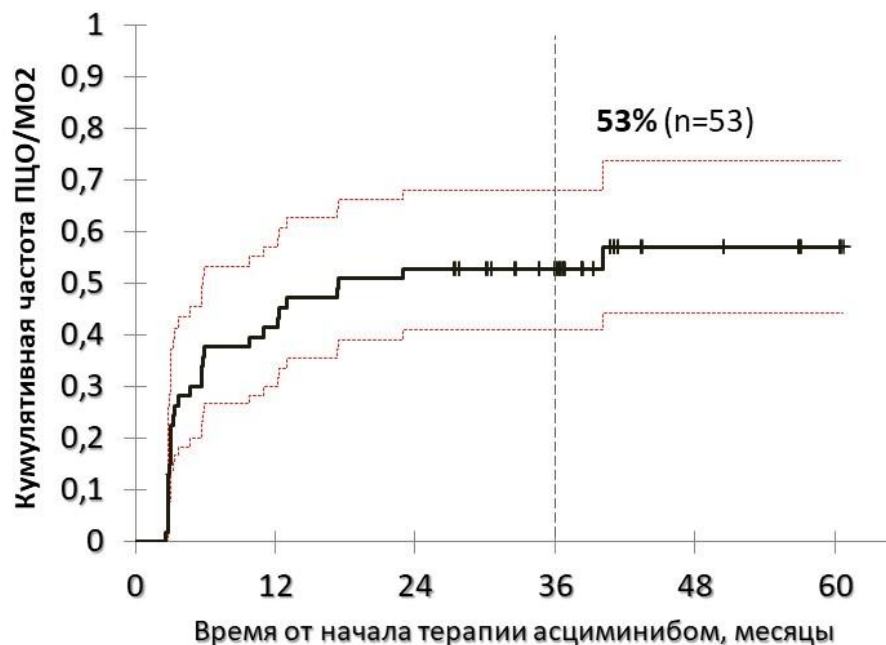
Принадлежность к дозовой группе. Г. Наличие ДХА в анамнезе

### 3.2.2 Эффективность терапии аллостерическим ингибитором тирозинкиназ асциманибom

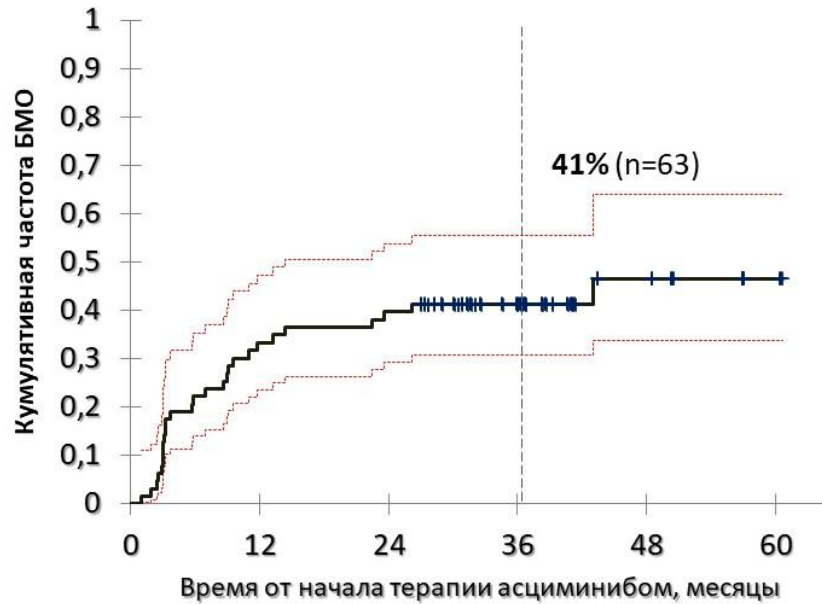
У 21 (31%) из 68 больных отсутствовал ПГО на момент включения в программу управляемого доступа. На фоне терапии асциманибom ПГО был достигнут у 86% (18/21) больных. Медиана времени достижения ПГО составила 2

мес. (диапазон 1-12 мес.). У 6 из 18 больных ПГО был потерян на фоне терапии асциминибом, все эти больные прекратили лечение в рамках программы.

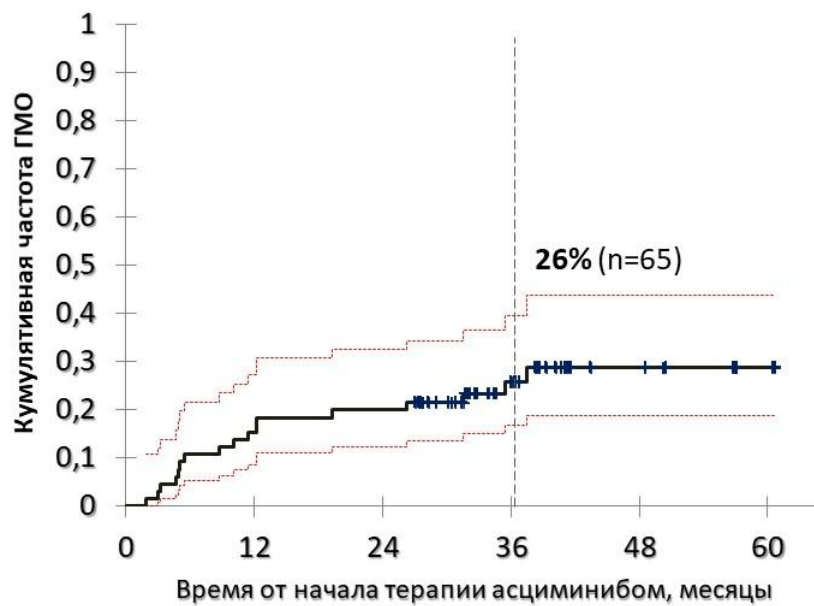
Вероятность достижения ответов (ПЦО/МО2, БМО, ГМО) у больных, не имеющих соответствующих ответов на момент включения в программу, оценивалась к трем годам терапии асциминибом и рассчитывалась отдельно для каждой дозовой группы и для всех пациентов в совокупности. На момент начала терапии асциминибом ПЦО отсутствовал у 53 (78%) из 68 больных, БМО – у 63 (93%) из 68 больных, ГМО - у 65 (96%) из 68 больных. Число больных, у которых был достигнут ПЦО, БМО и ГМО на фоне терапии асциминибом, составило 29 из 53 (55%), 27 из 63 (43%) и 17 из 65 (26%) соответственно. Среди всех больных, участвующих в программе, кумулятивная частота достижения ПЦО/МО2, БМО и ГМО к 3 годам составила 53%, 41% и 26% соответственно (Рисунок 17). Медиана достижения ПЦО/МО2 составила 3,7 месяцев, БМО - 5,8 месяцев, ГМО – 10 месяцев.



А.



Б.

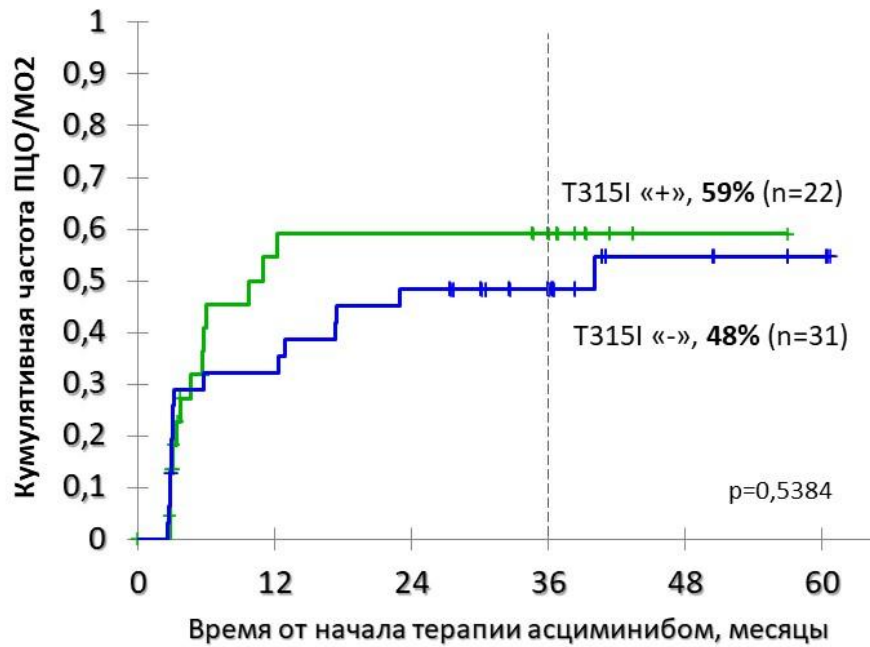


В.

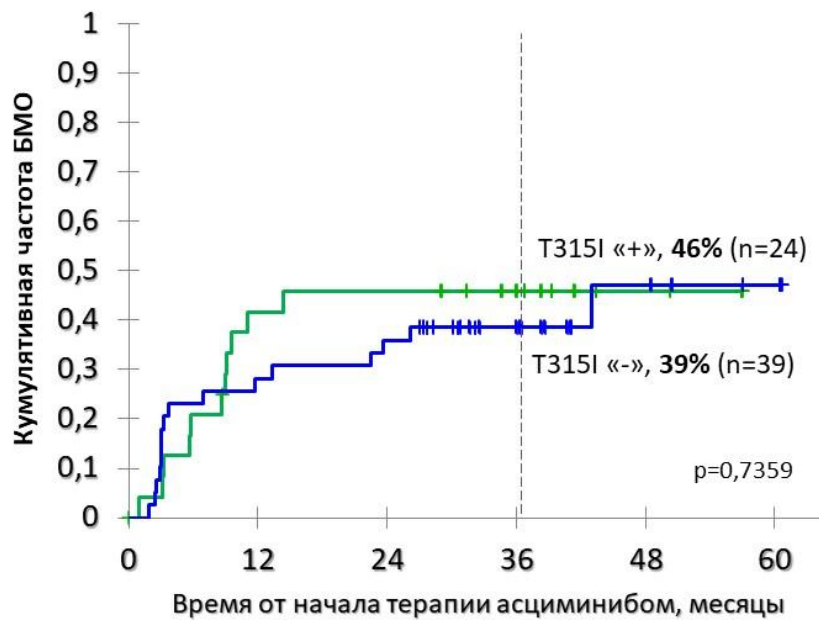
Рисунок 17 – Кумулятивная частота достижения ПЦО/МО2 (А), БМО (Б) и ГМО (В) среди всех больных, получающих терапию асциминибом

Кумулятивная частота достижения ПЦО/МО2, БМО и ГМО к 3 годам терапии для больных, получающих терапию асциминибом в дозе 200 мг 2 р/сут, составила 59%, 46%, 29%, а для больных, получающих асциминиб в дозе 40 мг 2 р/сут составила 48%, 39%, 24% соответственно (Рисунок 18). Несмотря на то, что группы больных, получающих терапию асциминибом в разных дозах, отличаются между собой по принципиально важному параметру (наличию мутации Т315I), а значит

не подлежат прямому сравнению, обращает на себя внимание тот факт, что терапия асциминибом больных ХМЛ одинаково эффективна независимо от наличия мутации T315I при соблюдении адекватного дозового режима.



А.



Б.

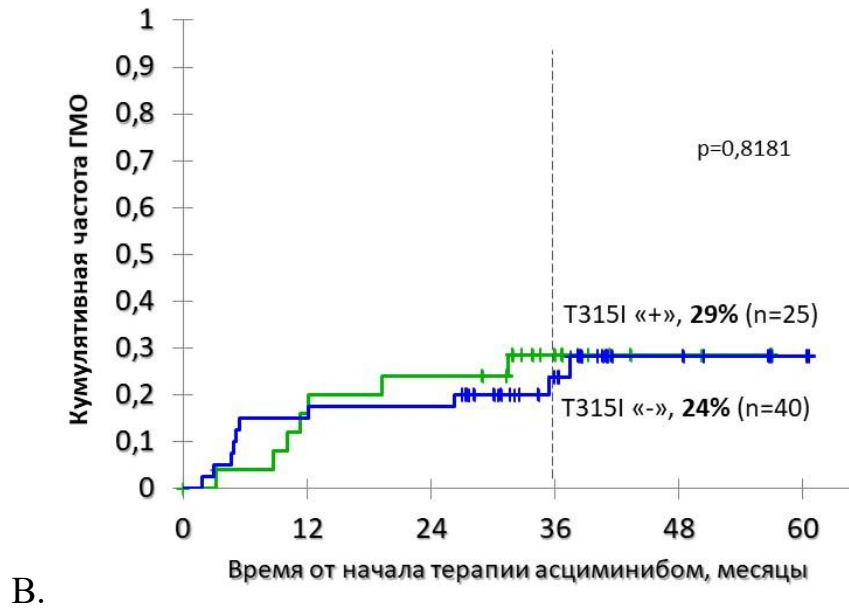


Рисунок 18 – Кумулятивная частота достижения ПЦО/МО2 (А), БМО (Б), ГМО (В) в дозовых группах 200 мг 2 р/сут (Т315I+) и 40 мг 2 р/сут (Т315I-)

ПЦО/МО2 был потерян у 7 (16%) больных, БМО – у 3 (9%) больных из обеих дозовых групп. Кумулятивная частота потери ПЦО/МО2 не различалась в разных дозовых группах и составила 18% к 3 годам во всей объединённой группе пациентов (Рисунок 19).

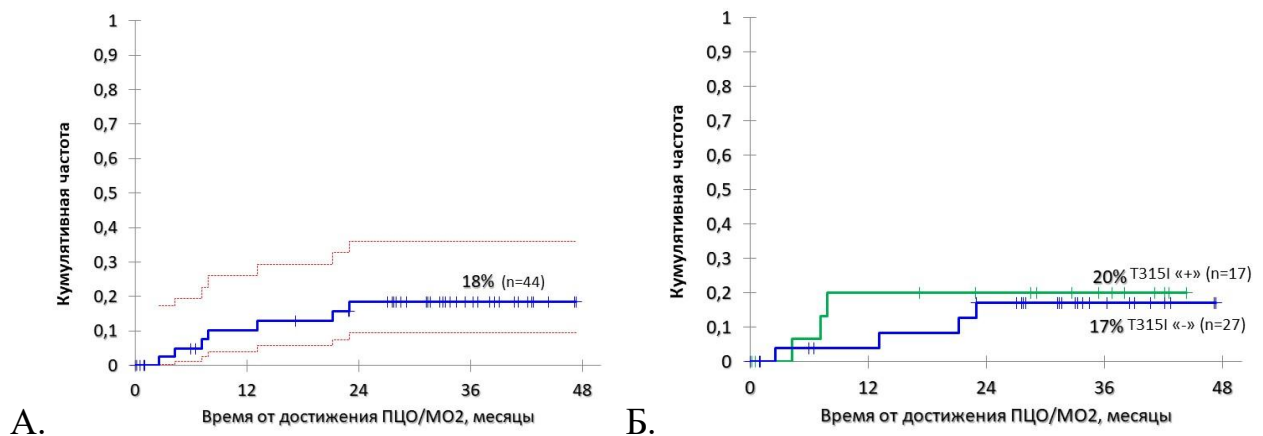


Рисунок 19 - Вероятность потери ПЦО/МО2 на фоне терапии асциминибом во всей объединенной группе пациентов (А) и в дозовых группах 200 мг 2 р/сут (Т315I+) и 40 мг 2 р/сут (Т315I-) (Б)

### 3.2.3 Факторы, влияющие на эффективность терапии асциминибом

Так как в основном достижение БМО происходило до 28 месяцев после начала терапии асциминибом (только у 1 одного больного отмечено достижение БМО после 36 месяца терапии), проведен однофакторный частотный анализ ассоциации клинических и лабораторных показателей с достижением БМО на сроке 28 месяцев от начала терапии асциминибом на объединенной группе пациентов. Значимыми факторами риска для недостижения БМО во всей группе больных, участвующих в программе, являются 3 фактора: уровень экспрессии *BCR::ABL1<sup>IS</sup>* на момент начала терапии асциминибом  $\geq 10\%$ , наилучший уровень экспрессии *BCR::ABL1<sup>IS</sup>* в анамнезе  $\geq 1\%$  и предлеченность понатинибом (неудача терапии понатинибом в анамнезе) (Рисунок 20).

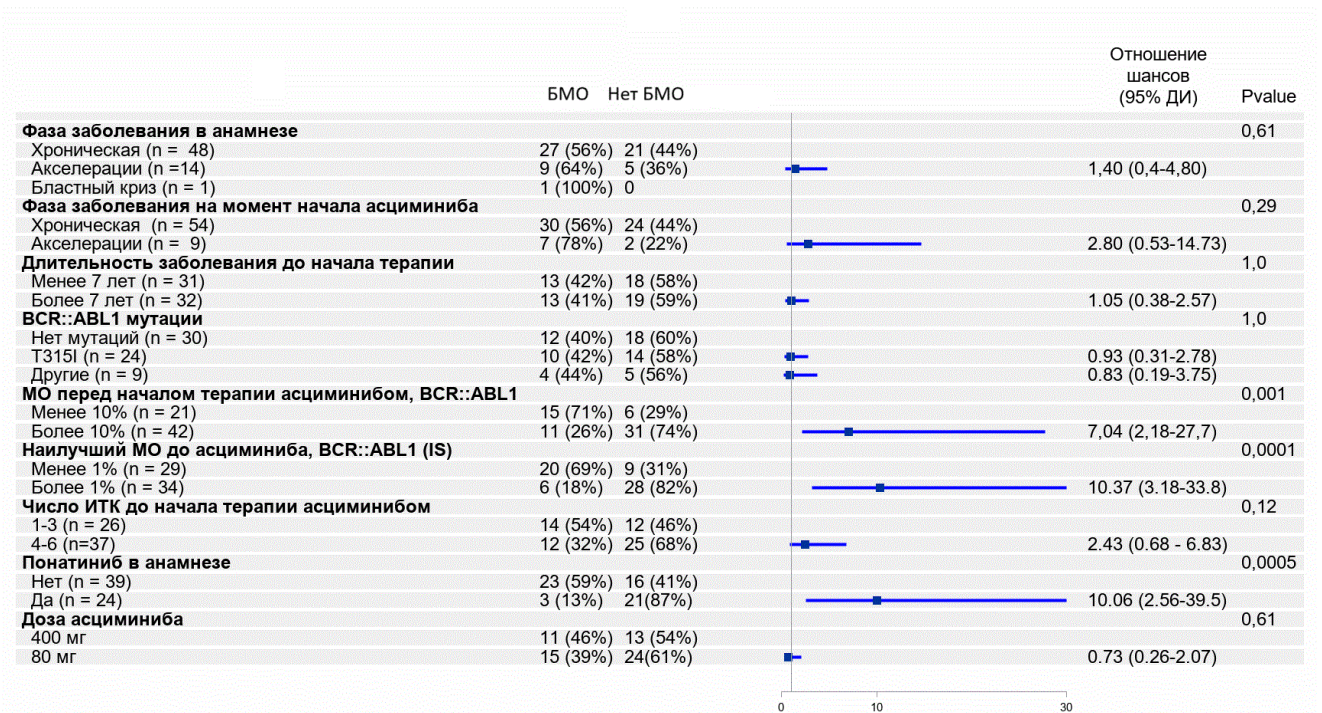


Рисунок 20 – Результаты однофакторного анализа вероятности достижения БМО среди всех больных, получающих терапию асциминибом

Указанные 3 фактора, показавшие свою значимость при однофакторном анализе, были включены в многофакторный анализ, по результатам которого они

также продемонстрировали независимое неблагоприятное влияние на вероятность достижения БМО (Таблица 17).

Таблица 17 - Многофакторный анализ вероятности достижения БМО на фоне терапии асциминибом

Фактор	p	Отношение рисков	Нижняя граница 95% ДИ	Верхняя граница 95% ДИ
Уровень экспрессии <i>BCR::ABL1<sup>IS</sup></i> на момент начала терапии асциминибом: <i>BCR::ABL1</i> <10 % против $\geq$ 10%	0,0266	2,6666	1,1204	6,3465
Наилучший уровень экспрессии <i>BCR::ABL1<sup>IS</sup></i> в анамнезе до терапии асциминибом: <i>BCR::ABL1</i> <1% против $\geq$ 1%	0,0148	3,2991	1,2639	8,6116
Терапия понатинибом в анамнезе	0,0017	7,1700	2,0981	24,5030
ДИ – доверительный интервал				

Дополнительно был проанализирован статус ответа на сроке 28 месяцев терапии с учетом числа независимых факторов риска у пациента. В группе без факторов риска БМО не получил 1 (8%) пациент из 12, в группе с одним фактором риска БМО не получили 7 (41 %) пациентов из 17 (ОШ = 7.7 (ДИ 95% 0.80-74.1)), в группе с 2 факторами риска БМО не получили 14 (73%) пациентов из 19 (ОШ = 30.8 (ДИ 95% 3.1 – 303.4)), в группе с 3 факторами риска БМО не получили 15 (100%) пациентов из 15 (Рисунок 21). Кумулятивная частота достижения БМО в 3 годам терапии составила 59%, 26% и 0% при наличии одного, двух и трех неблагоприятных факторов риска соответственно (Рисунок 22).

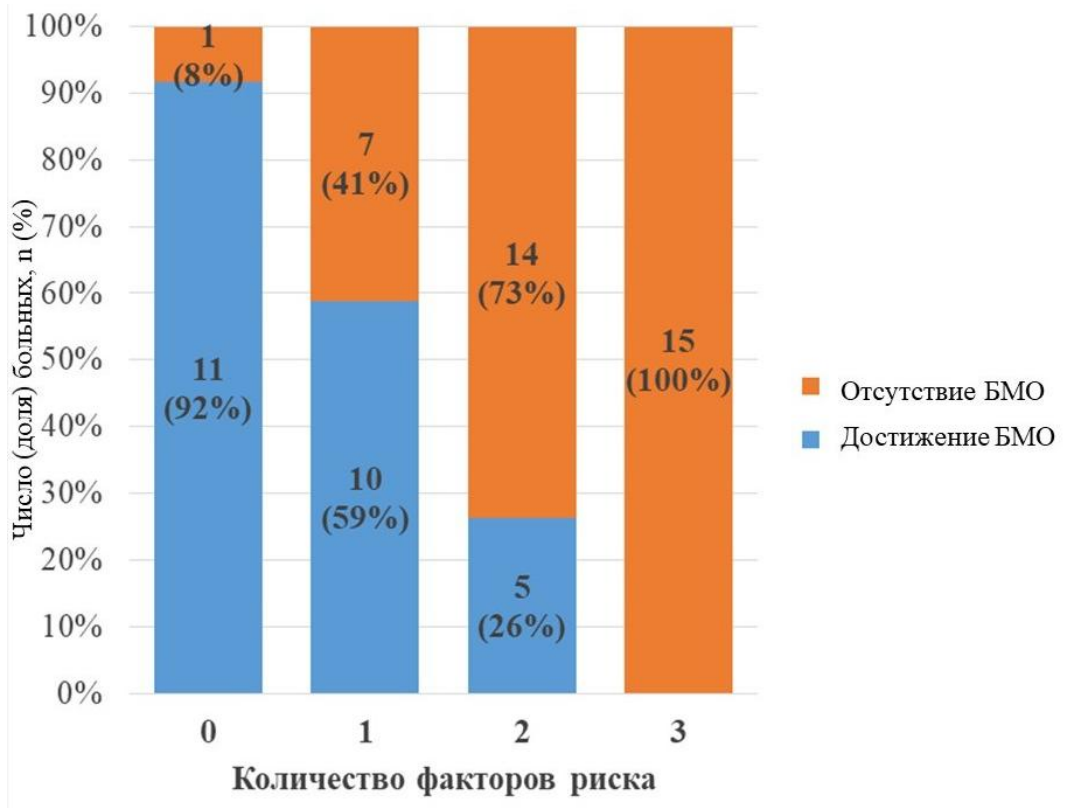


Рисунок 21 – Частотный анализ получения БМО в зависимости от количества независимых факторов риска у пациента на сроке терапии 28 месяцев

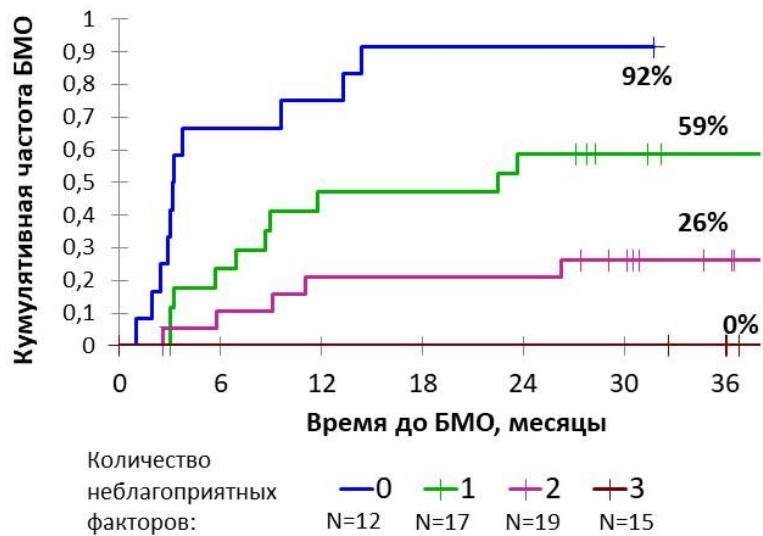


Рисунок 22 – Кумулятивная частота достижения БМО к 3 годам терапии в зависимости от числа неблагоприятных факторов риска

Вероятность достижения БМО не различалась в зависимости от наличия ДХА. В то же время отмечено, что стабильный БМО без последующей потери был достигнут только у 1 из 9 больных с ДХА. В таблице 18 представлены больные, у которых выявлялись ДХА на момент начала терапии асциминибом.

Таблица 18 – Характеристика ответов у больных с ДХА, получающих асциминиб

№	ДХА	Мутации <i>BCR::ABL1</i>	Доза асциминиба, мг/сут	ПЦО	БМО
1	+Y, +8	T315I	400	нет	нет
2	der(9); der(17), der(22), complex	F317L	400	да*	да*
3	trisomy 8	T315I, F317L	400	да	да
4	-7, del(7p), del(16q)	T315I	400	да*	смерть
5	-Y, +8, der(22)	нет	80	нет	нет
6	+8, der(22)	нет	80	нет	нет
7	-7; +8	нет	80	нет	нет
8	+8, der(22), t(2;21), t(3;12)	нет	80	смерть	смерть
9	der(22), der(17)	нет	80	смерть	смерть

\*Достигнутый ответ был потерян при дальнейшем наблюдении

### 3.2.4 Клональная эволюция на фоне терапии асциминибом

На фоне терапии асциминибом у больных отмечались разные варианты изменения мутационного статуса гена *BCR::ABL1* к 2 годам терапии (Таблица 19). У 15 больных с резистентностью к терапии асциминибом сохранялись мутации *BCR::ABL1* (T315I, F359V, G250A, F317L, M244V, F311L), что не позволяет исключить роль этих мутаций в устойчивости к терапии аллостерическим ИТК. У 2 (3%) из 68 больных на фоне лечения асциминибом появились новые мутации *BCR::ABL1*: мутация A337T в области миристоилового кармана и мутация M244V в области АТФ-связывающего сайта. У обоих больных ПЦО/МО2 не был достигнут на фоне терапии асциминибом.

Таблица 19 - Изменение мутационного статуса гена *BCR::ABL1* на фоне терапии асциманибom

Ответ на терапию асциманибom	Варианты изменения мутационного статуса <i>BCR::ABL1</i> к 2 годам терапии асциманибom (n=36)	Мутации <i>BCR::ABL1</i>
Оптимальный	Исчезновение мутаций (n=13)	T315I, G250E, V299L, L248V, E255V/K, S348L, F317L
Неудача терапии	Исчезновение мутаций (n=6)	T315I, D363Y, L248V, F311I, G250E
	Сохранение мутаций (n=15)	<b>T315I, F359V, G250A, F317L, M244V, F311L</b>
	Появление новых мутаций (n=2)	<b>A337T, M244V</b>

У 3 (4%) из 68 больных отмечалось появление новых ДХА в Ph-положительном клоне на фоне терапии асциманибom. У одного больного появились трисомия 8 хромосомы и изохромосома 17, при этом отмечено нарастание бластемии и констатировано прогрессирование в ФА. У второго больного отмечалось появление трисомии 19 хромосомы, у третьего - потери X хромосомы – оба пациента прекратили терапию асциманибom в связи с резистентностью.

### 3.2.5 Нежелательные явления терапии асциманибom

Ассоциированные с терапией асциманибom НЯ выявлены у 26 (62%) из 42 больных в дозовой группе 40 мг 2 р/сут и у 14 (54%) из 26 больных в дозовой группе 200 мг 2 р/сут. Никто из больных не прекратил терапию асциманибom в связи с лекарственной токсичностью. Наиболее частыми НЯ любой степени (частота >10%) в дозовой группе 40 мг 2 р/сут были: тромбоцитопения (36%), нейтропения (21%), гиперхолестеринемия (12%), анемия (10%) и гипергликемия (10%). В дозовой группе 200 мг 2 р/сут наиболее часто отмечались такие НЯ, как тромбоцитопения (15%), нейтропения (15%), повышение уровня холестерина (15%), кожная сыпь (12%). НЯ 3-4 степени отмечались в обеих дозовых группах: в группе 40 мг 2 р/сут чаще всего представлены тромбоцитопенией (14%), нейтропенией (12%), в группе 200 мг 2 р/сут – нейтропенией (12%). Таким образом,

спектр, частота всех НЯ и НЯ 3-4 степени значимо не различались у больных в разных дозовых группах.

### *Коррекция дозы асциминиба*

Всего у 13 больных выполнялось снижение дозы асциминиба. Двум больным в дозовой группе 40 мг 2 р/сут выполнялось временное снижение дозы асциминиба в связи с НЯ 3-4 степени (тромбоцитопения, нейтропения), с эффектом в виде уменьшения степени токсичности и возвращения к терапии в прежней дозе. Двум больным в группе 200 мг 2 р/сут и 3 больным в группе 40 мг 2 р/сут доза асциминиба снижена на постоянной основе в связи с НЯ 3-4 степени (тромбоцитопения, нейтропения): двое больных после этого были сняты с терапии, двое продолжили терапию, имея ГМО, и один больной, не достигший ПЦО/МО2, продолжил терапию при отсутствии альтернативных терапевтических опций.

Кроме того, снижение дозы асциминиба проводилось у 6 больных, у которых сохранялся стабильный МО4,5 в течение минимум 1 года. Одному больному доза была снижена с 80 мг/сут до 40 мг/сут, и 5 больным доза была снижена с 400 мг/сут до 200 мг/сут. При медиане наблюдения 27 месяцев (диапазон 12-37 мес.) не отмечено потери МО4,5 на фоне терапии асциминибом в сниженных дозах.

Девяти из 42 больных в дозовой группе 40 мг 2 р/сут проводилось повышение дозы асциминиба до 160-200 мг/сут с целью улучшения ответа на терапию. На этом фоне у 2 из 9 больных был достигнут БМО, у 1 – ПЦО/МО2, у 6 из 9 больных отмечена неудача терапии в повышенных дозах, трое из них прекратили участие в программе, двоим доза была снижена до 80 мг/сут в связи с ограничением в обеспечении препаратом.

### 3.3 Эффективность терапии асциминибом больных хроническим миелолейкозом в зависимости от наличия соматических мутаций генов

Большинство пациентов, включенных в исследование по определению молекулярно-генетического профиля клеток крови в группу «неудача терапии», (20 из 28) получали асциминиб в рамках программы управляемого доступа (МАР). Секвенирование мутаций генов в точке «2» (n=15) и в точке «1» (n=5) им проводилось на момент начала терапии асциминибом. Остальные пациенты (8 из 28) получали следующие опции терапии: понатиниб, терапию по протоколу ОЛЛ-2012 с дазатинибом, терапия по программе «7+3» с дазатинибом; 1 больной в БК умер до попытки смены лечения. Шести больным из группы «неудача терапии» при дальнейшем наблюдении выполняли алло-ТГСК.

Среди больных, участвующих в программе управляемого доступа (n=20), соматические мутации генов, кроме *ABL1*, обнаружены у 10 (50%) из 20 пациентов на момент начала терапии асциминибом: *ASXL1* (35%, n=7), *DNMT3A* (20%, n=4), *RUNX1* (5%, n=1), *CEBPA* (5%, n=1) и *TET2* (5%, n=1).

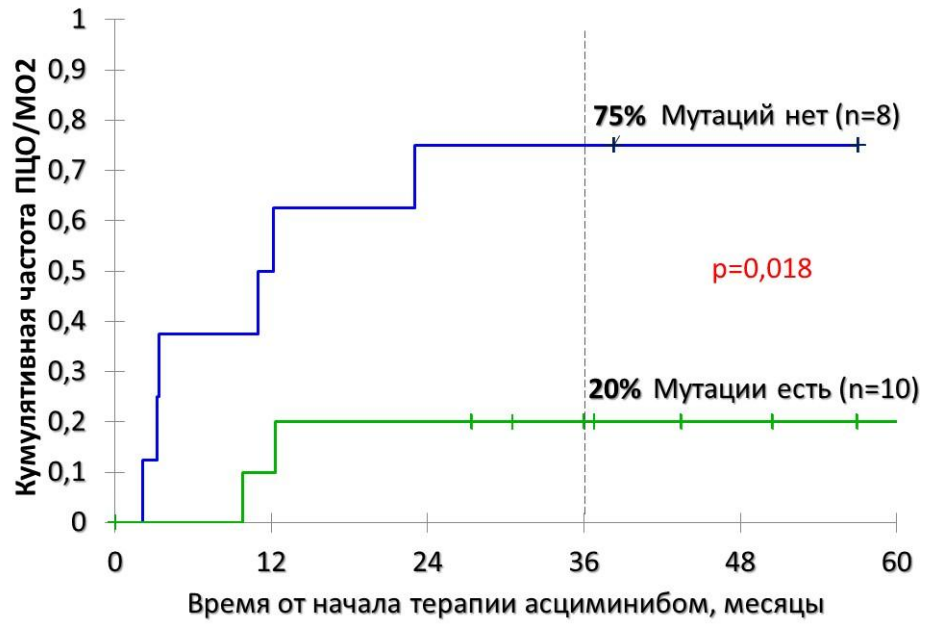
Проведено сравнение базовых клинико-лабораторных и демографических характеристик в зависимости от наличия соматических мутаций генов миелоидной панели, без учета *ABL1*, среди всех пациентов, получающих на асциминиб (n=20) (Таблица 20). Показано, что соматические мутации генов достоверно чаще выявлялись у больных с уровнем транскрипта *BCR::ABL1*  $\geq 10\%$ , по остальным параметрам пациенты не различались, что может быть связано с недостаточной численностью больных в группах.

Таблица 20 - Сравнение характеристик больных из группы «неудача терапии», участвующих в программе управляемого доступа к асциминибу, в зависимости от наличия или отсутствия мутаций в генах *ASXL1*, *DNMT3A*, *RUNX1*, *CEBPA*, *WT1* и *TET2* (n=20)

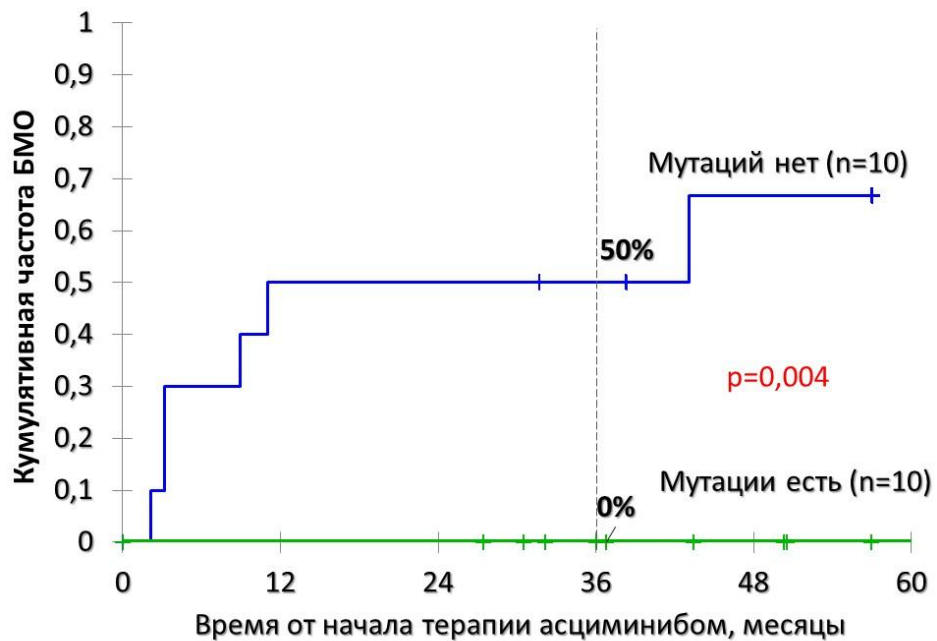
Параметры		Соматические мутации генов миелоидной панели (n=20)		p
		Выявлены (n=10)	Не выявлены (n=10)	
Возраст Me, годы, (мин-макс)		61 (40-81)	53 (40-71)	0,25
Пол, женский, n (%)		6 (60%)	5 (50%)	0,654
Группа риска по ELTS	Низкий	1 (10%)	4 (40%)	0,155
	Промежуточный	4 (40%)	5 (50%)	
	Высокий	3 (30%)	0 (0%)	
	Нет данных	2 (20%)	1 (10%)	
Длительность ХМЛ до анализа, Me, годы, (мин-макс)		5 (1,5-22,3)	5,1 (1,8-15,3)	0,85
Мутации <i>BCR::ABL1</i> , n (%)		5 (50%)	3 (30%)	0,362
ДХА в Ph+клетках (ФА), n (%)		4 (40%)	2 (20%)	0,33
Число предшествующих линий ИТК, n (%)	≤4	5 (50%)	8 (80%)	0,16
	>4	5 (50%)	2 (20%)	
Наилучший молекулярный ответ на предыдущих линиях терапии, n (%)	<i>BCR::ABL1</i> <1 %	1 (10%)	5 (50%)	0,051
	<i>BCR::ABL1</i> ≥1 %	9 (90%)	5 (50%)	
Терапия понатинибом в анамнезе		6 (60%)	2 (20%)	0,068
Молекулярный ответ на момент анализа, n (%)	<i>BCR::ABL1</i> <10 %	0 (0%)	4 (40%)	0,026
	<i>BCR::ABL1</i> ≥10 %	10 (100%)	6 (60%)	
Me – медиана, ELTS - EUTOS long-term survival, ХМЛ - хронический миелолейкоз, ДХА – дополнительные хромосомные аномалии, ИТК- ингибиторы тирозинкиназ, ФА – фаза акселерации				

Медиана времени наблюдения за пациентами, переведенными на терапию асциминибом после проведения мутационного анализа (n=20), составила 3,5 года (диапазон 0,8-5 лет). Кумулятивная частота достижения ПЦО/МО2 и БМО к 3 годам терапии асциминибом была достоверно ниже у больных с мутациями, чем у больных без мутаций: 20% против 75% (p=0,018), 0% против 50% (p=0,004); вероятность достижения ГМО также была ниже: 0% против 30% (p=0,067) (Рисунок 23). Показано, что ни у одного больного с мутациями в генах *ASXL1*, *DNMT3A*, *RUNX1*, *CEBPA* и *TET2* не достигнуты БМО и ГМО на фоне терапии асциминибом. У двоих пациентов, имеющих мутации *DNMT3A* и *ASXL1*, у которых был достигнут

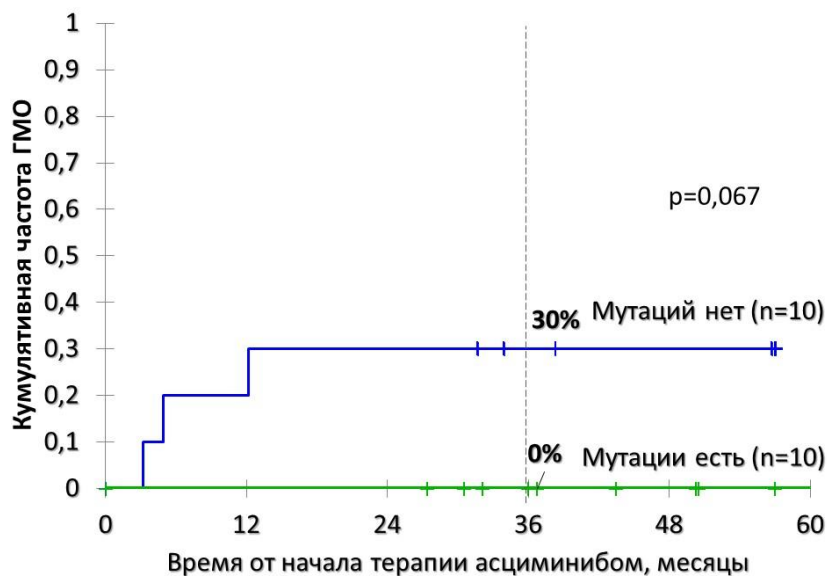
ПЦО, он был потерян через 2 и 7 месяцев соответственно, и пациенты погибли в связи с прогрессией ХМЛ.



А.



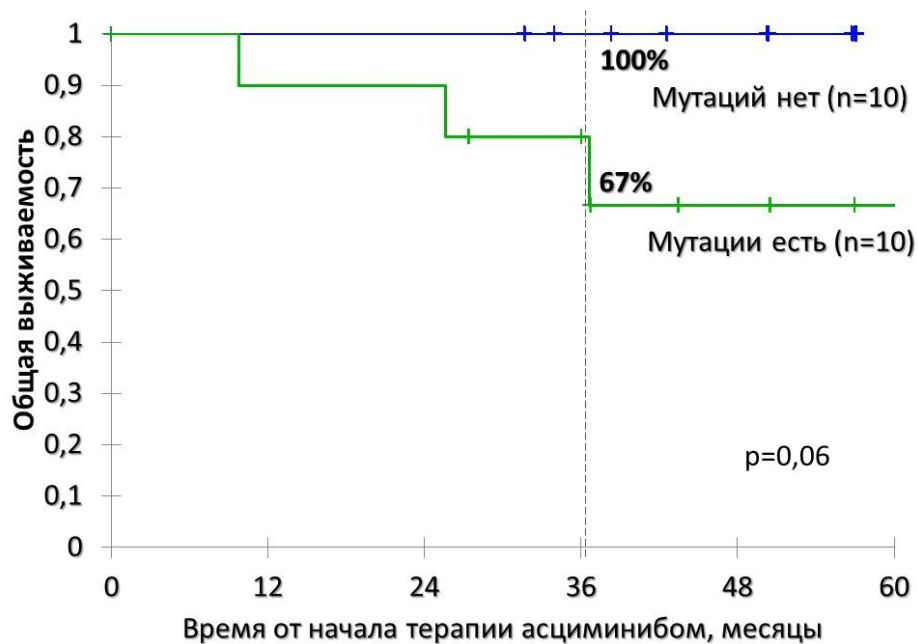
Б.



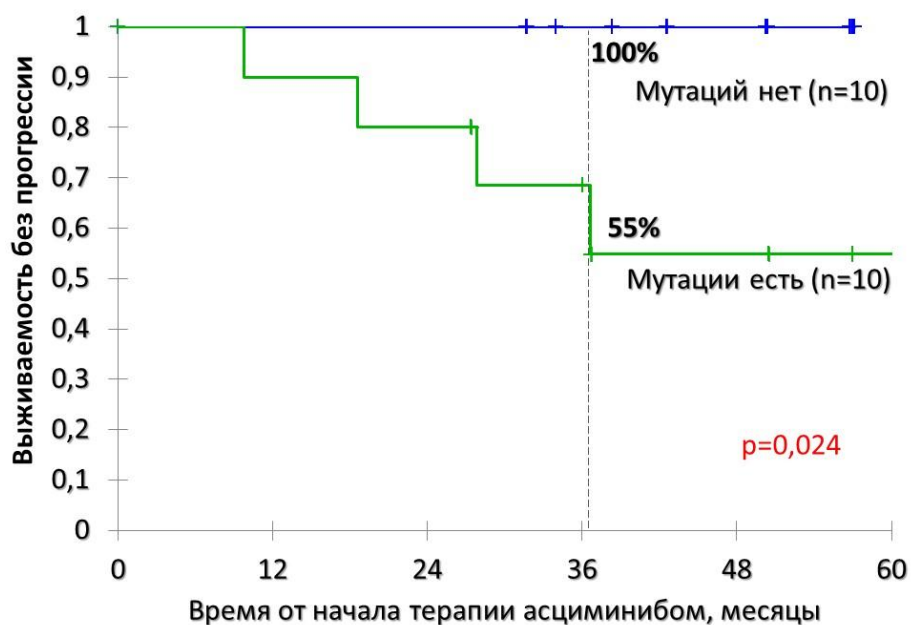
В.

Рисунок 23 – Кумулятивная частота достижения ПЦО (А), БМО (Б) и ГМО (В) к 3 годам у больных с неудачей терапии, получающих асцимидиниб ( $n=20$ ), в зависимости от наличия мутаций в генах *ASXL1*, *DNMT3A*, *RUNX1*, *CEBPA*, *TET2*

Общая трехлетняя выживаемость у больных с соматическими мутациями в генах *ASXL1*, *DNMT3A*, *RUNX1*, *CEBPA* и *TET2* была ниже, чем у больных без мутаций (68% против 100%,  $p=0,06$ ). Беспрогрессивная трехлетняя выживаемость у больных с соматическими мутациями генов была значимо ниже, чем у больных без мутаций: 55% против 100% ( $p=0,024$ ) (Рисунок 24).



А.



Б.

Рисунок 24 - Общая (А) и беспрогрессивная (Б) трехлетняя выживаемость у больных с неудачей терапии, получающих асциминиб (n=20), в зависимости от наличия мутаций в генах *ASXL1*, *DNMT3A*, *RUNX1*, *CEBPA*, *TET2*

## Глава 4 ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на успехи в лечении больных ХМЛ, прогноз у пациентов с неудачей терапии несколькими ИТК и с прогрессированием заболевания остается крайне неудовлетворительным, а причины и механизмы резистентности до конца не изучены [112]. Соматические мутации различных генов могут быть дополнительными факторами резистентности к терапии, однако в связи с недостаточной доказательной базой молекулярные маркеры все еще не учитываются при стратификации больных по группам риска и при принятии клинических решений. Проведенное нами исследование позволило сконцентрировать в одной выборке пациентов с неблагоприятным течением заболевания и продемонстрировать ассоциацию между наличием соматических мутаций генов и резистентным течением ХМЛ. Это было показано не только при сравнении с группой контроля, представленной больными с Rh-негативным кроветворением, но и при сравнении мутационного профиля больных из групп неудачи терапии и оптимального ответа на момент установления диагноза ХМЛ.

Подобная тенденция была продемонстрирована в исследовании Branford S. – частота выявления мутаций разных генов на момент диагностики ХМЛ была выше у больных с неблагоприятным исходом по сравнению с теми, у кого достигнут оптимальный ответ (70% против 21%,  $p=0,002$ ) [105]. По результатам другого проспективного исследования, соматические мутации генов *ASXL1* и *DNMT3A* при диагностике ассоциируются с неудачей терапии ИТК [10]. Таким образом, уже на момент диагностики ХМЛ возможно выявить маркеры, ассоциированные с повышенным риском развития неудачи терапии ИТК и прогрессирования ХМЛ. Однако следует признать, что частота обнаружения мутаций у больных ХМЛ в ХФ относительно низкая, и у большинства больных их не будет выявлено. По данным международных исследований, частота встречаемости соматических мутаций в различных генах среди всех пациентов с ХФ ХМЛ на момент первичной диагностики составляет около 15-25% [40]. Сравнительно более высокие и низкие

показатели в нашем исследовании обусловлены подбором групп больных с известным исходом заболевания (с неудачей терапии - 46%, и с оптимальным ответом на лечение - 5%) в соответствии с дизайном исследования.

Частота встречаемости соматических мутаций генов миелоидной панели (*ASXL1*, *DNMT3A*, *RUNX1*, *CEBPA*, *WT1*, *NPM1*, *TET2*) у больных ХМЛ с неудачей терапии несколькими ИТК или с прогрессированием заболевания в нашем исследовании была достаточно высокой - 52%. По данным исследования Branford S. и соавт., частота встречаемости соматических мутаций в группе больных с неудачей терапии, получающих асциминиб в исследовании ASCSEMBL, составляла 63% [104].

В нашем исследовании наиболее часто определялись мутации в генах *ASXL1* (31%) и *DNMT3A* (10%), что согласуется с данными других исследований, где мутации в гене *ASXL1* чаще других встречаются у больных ХМЛ в ХФ [22, 34, 87, 105, 123]. Однако большая часть исследований посвящена частоте определения мутаций гена *ASXL1* на момент диагностики, которая составляет 9-10% [40]. Установлено, что белок ASXL1 участвует в эпигенетической регуляции экспрессии генов, а мутации *ASXL1* могут приводить к развитию миелоидных неоплазий [8]. Фермент DNMT3A участвует в метилировании ДНК de novo, а мутации гена *DNMT3A* приводят к снижению его активности и обнаруживаются у больных с миелоидными и лимфоидными новообразованиями. В то же время, мутации обоих этих генов ассоциированы с ККНП [8]. Следует отметить, что прогностическое значение наличия мутаций в гене *ASXL1* на этапе диагностики и на фоне лечения к настоящему времени окончательно не установлено. В некоторых работах наличие мутаций в гене *ASXL1* у больных на этапе первичной диагностики ХМЛ было ассоциировано со сниженной вероятностью достижения оптимального ответа на фоне терапии иматинибом [10, 22, 104]. С целью накопления данных о клиническом значении мутаций гена *ASXL1* в обновленных лабораторных рекомендациях ELN 2023 рекомендуется включать этот ген в панели всех исследовательских протоколов для больных ХМЛ [83].

По нашим данным, с частотой 7% в группе больных с неудачей терапии определялись мутации генов *RUNX1* и *CEBPA*. Мутации этих генов ассоциируются с другими миелоидными неоплазиями, в частности с ОМЛ [118]. Мутации гена *RUNX1* определялись только у больных с продвинутыми фазами заболевания (БК с неизвестным фенотипом и ФА) и могут быть дополнительными маркерами прогрессирования заболевания.

Единичные больные в группе неудачи терапии (с частотой 3,5%) имели мутации генов *NPM1*, *WT1* и *TET2*. Мутации в гене *NPM1* выявлены у больного с лимфоидным БК. При этом мутации *NPM1* являются маркерами для стратификации больных ОМЛ по группам риска [118]. Мутации гена *WT1* редко встречаются у больных с гематологическими заболеваниями, в основном с миелоидными неоплазиями [118]. В нашем исследовании две мутации *WT1* были выявлены у одного больного в ФА. Мутации *TET2* характерны для ККНП, а также могут быть ранним генетическим событием лейкемогенеза, приводя к миелоидной гиперплазии с нарушением дифференцировки клеток крови [146]. В нашем исследовании мутация гена *TET2* выявлена у одного пациента в ХФ.

По результатам анализа небольшой группы больных в ФА/БК (n=11), частота выявления соматических мутаций составила 73% (включая *ABL1*) и оказалась схожей с частотой мутаций у больных в БК по данным различных исследований (77-79%) [19, 105]. При этом спектр соматических мутаций в продвинутых фазах ХМЛ несколько отличался: только у данной категории больных выявлены мутации в генах *WT1*, *NPM1*, *RUNX1*, что соответствует литературным данным, согласно которым мутации в этих генах характерны именно для больных в продвинутых фазах ХМЛ и для больных ОМЛ [19, 73, 156]. У двух пациентов с БК ХМЛ выявлено по 2 и 3 мутации *ABL1*, у обоих в сочетании с другой соматической мутацией (*CEBPA / RUNX1*), что могло быть ассоциировано с более агрессивным течением заболевания.

У 31% больных с неудачей терапии выявлено более одной мутации: наиболее часто мутации в гене *ABL1* сочетались с мутациями в других генах - у 24%

пациентов. Отмечена высокая частота сочетания мутаций в генах *ABL1* и *ASXL1* – 14%, что сопоставимо с данными Branford S. и соавт., которые указывали такую 10% у больных ХМЛ в ХФ с неудачей терапии [104]. Таким образом, наличие мутации *ASXL1* при диагностике ХМЛ может быть ассоциировано с приобретением мутаций *BCR::ABL1* на фоне лечения.

В нашем исследовании наличие соматических мутации генов миелоидной панели не коррелировало с фазой заболевания и другими клинико-лабораторными параметрами, кроме уровня *BCR::ABL1*: мутации чаще выявлялись при *BCR::ABL1<sup>IS</sup>* >10% на момент анализа на фоне терапии ( $p=0,023$ ). Это может быть связано с чувствительностью метода: по данным литературы, обнаружить мутации в Ph-положительном клоне методом ВПС на основе ДНК возможно при уровне экспрессии *BCR::ABL1* от 2 до 5% [40]. Но также нельзя исключить ассоциацию соматических мутаций генов с более высоким уровнем экспрессии *BCR::ABL1* как проявлением резистентности ХМЛ, особенно учитывая, что геномная нестабильность персистирующего Ph-положительного клона может приводить к появлению мутаций в различных генах. В связи с этим детекция соматических мутаций в различных генах может быть полезна не только на этапе первичной диагностики, так и на фоне терапии, особенно у больных с высоким уровнем *BCR::ABL1* для выявления дополнительных маркеров агрессивного течения ХМЛ и, возможно, принятия решения об интенсификации терапии, выполнении алло-ТГСК.

Данные литературы демонстрируют, что персистенция и приобретение соматических мутаций генов в течение болезни могут быть ассоциированы с резистентным течением или прогрессированием ХМЛ [122]. Для оценки динамики мутантных клонов мы проводили секвенирование генов в ретроспективной точке у больных с неудачей терапии, имеющих парные образцы ( $n=21$ ). У большинства больных с резистентным течением ХМЛ мутации преимущественно персистировали или появлялись в динамике. Мутации, связанные с КК (*ASXL1*, *DNMT3A* и *TET2*) преимущественно персистировали у больных ХМЛ и реже

ассоциировались с прогрессированием заболевания до продвинутых фаз, чем другие мутации генов миелоидной панели (*NPM1*, *CEBPA*, *WT1* и *RUNX1*). Мутации, которые появились у больных с прогрессированием заболевания, могли сыграть роль в трансформации заболевания в ФА или БК, однако установить точные причинно-следственные связи, время от появления мутаций до прогрессирования ХМЛ в нашей работе мы не можем.

В контрольной группе больных с оптимальным ответом на терапию мутации генов миелоидной панели выявлены всего у двух больных на фоне терапии и у одного при диагностике ХМЛ, при этом у всех трех больных мутации не выявлялись в динамике в парном образце. Отличительной чертой была низкая аллельная нагрузка мутаций (5-9%). Примечательно, что у всех трех больных были попытки отмены терапии ИТК, которые привели к молекулярному рецидиву заболевания и возврату к терапии. В мире продолжают изучать молекулярно-генетические маркеры, которые могут быть предикторами молекулярного рецидива после отмены терапии у больных ХМЛ, однако на настоящий момент связь с наличием соматических мутаций в различных генах не установлена [14]. Соматические мутации генов, выявленные у пациентов с оптимальным ответом на терапию, достигших ГМО или имеющих по крайней мере МО2 (*BCR::ABL1* < 1%), по-видимому, находятся в Ph-отрицательном клоне и могут быть проявлением ККНП. Влияние таких клонов на прогноз ХМЛ в настоящее время не установлено.

В нашем исследовании не проводилась селекция опухолевых клеток, в связи с чем мы не можем говорить о принадлежности выявленных мутаций генов миелоидной панели к опухолевому (Ph-положительному) клону в группе больных с неудачей терапии. Однако учитывая, что у большинства больных отмечалась большая опухолевая масса, а также принимая во внимание низкую частоту обнаружения мутаций в группе больных без Ph-положительного клона, можно предположить, что большая часть мутаций у больных с неудачей терапии может находиться в опухолевом клоне. В исследованиях, в которых тем или иным способом проводился сортирование клеток опухолевого клона и остальных, отмечалась

низкая частота обнаружения мутаций различных генов в Ph-отрицательных клетках [168]. Остается неизвестным, являются ли соматические мутации генов «свидетелями» или инициирующими событиями резистентности и трансформации ХМЛ на фоне терапии ИТК. Можно предположить, что мутации генов, ассоциированные с ККНП (*ASXL1*, *DNMT3A* и *TET2*) могут быть плацдармом для появления новых генетических событий и драйверных мутаций прогрессирования заболевания.

Влияние соматических мутаций генов на эффективность терапии аллостерическими ИТК в мире только начинает изучаться. По данным исследования австралийских авторов, у больных, получающих терапию нилотинибом, дазатинибом или асциминибом (n=315) наличие соматических мутаций генов на момент диагностики было ассоциировано со сниженной вероятностью достижения БМО к 1 году терапии (63% против 82%, p=0.002) и повышенной вероятностью неудачи терапии и появления мутаций *BCR::ABL1* (p<0,001) [170]. Эти различия наблюдались независимо от того, лечились ли пациенты нилотинибом/дазатинибом или асциминибом. Наличие мутаций гена *ASXL1* являлось неблагоприятным фактором, по данным этого исследования. В другом исследовании наличие соматических мутаций генов в группе больных, получающих терапию асциминибом или бозутинибом (n=162) было ассоциировано с неудачей терапии (p=0,0019) [104].

В нашем исследовании больные из группы неудачи терапии получали терапию асциминибом после  $\geq 3$  линий лечения (n=20), и оценка мутационного профиля им проводилась на момент начала терапии асциминибом. У 7 из 10 больных с соматическими мутациями генов миелоидной панели определялись мутации в гене *ASXL1*. У больных с соматическими мутациями отмечено снижение трехлетней ОБ и ВБП. Трехлетняя вероятность достижения ПЦО, БМО и ГМО была ниже у больных с мутациями. Таким образом, наличие соматических мутаций генов может быть дополнительным фактором риска неудачи терапии асциминибом. Интересно отметить, что группы больных с соматическими мутациями и без них

достоверно различались только по уровню  $BCR::ABL1$  на момент начала терапии асциминибом ( $\geq$  или  $< 10\%$ ). Этот фактор был одним из независимых факторов риска неудачи терапии асциминибом у всех больных в программе MAP. При этом по двум другим факторам (наилучший уровень  $BCR::ABL1 \geq 1\%$  и неудача терапии понатинибом в анамнезе) различия были близки к статистически значимым ( $p=0,068$  и  $p=0,051$ ) на небольшой выборке больных ( $n=20$ ). Для изучения изолированного влияния соматических мутаций генов на эффективность терапии асциминибом целесообразно проведение проспективных исследований в более многочисленной группе пациентов.

Для изучения роли нового аллостерического ИТК в терапии больных ХМЛ проводилась оценка эффективности лечения асциминибом в группе резистентных к  $\geq 2$  ИТК и больных с мутацией T315I ( $n=68$ ). Терапия асциминибом проводилась в рамках программы управляемого доступа MAP в 3 центрах России и продемонстрировала многообещающие результаты лечения больных. Терапия асциминибом проводилась в разных дозовых режимах в зависимости от наличия мутации T315I. Выбор рекомендуемой дозы первоначально был обусловлен результатами эффективности применения асциминиба *in vitro*, а затем и в рамках клинических исследований 1 фазы [31, 174]. Общая и беспрогрессивная 3-летняя выживаемость на фоне терапии асциминибом составила 93% и 90% соответственно. Переносимость препарата была удовлетворительной, никто из больных не прекратил лечение в связи с токсичностью. Вероятность достижения ПЦО/МО2 к 3 годам в дозовых группах 200 мг 2 р/сут и 40 мг 2 р/сут составила 59% и 48% соответственно. По данным исследования 1 фазы, у больных с мутацией T315I вероятность достижения МО2 к 2 годам лечения составила 62%, а в исследовании ASCEMBL, в которое были включены больные без мутации T315I, вероятность достижения МО2 к 2 годам терапии составила 54% [31, 32]. Таким образом, результаты терапии в рамках программы MAP оказались сопоставимы с данными клинических исследований. Стоит отметить, что в отличие от групп пациентов, включенных в клинические исследования, в MAP в России были

включены сильно предлеченные больные – 54% больных получили более 4 линий ИТК, у 84% больных неудача терапии последним ИТК была связана с резистентностью, а не токсичностью терапии.

Вероятность достижения БМО для больных, получающих терапию в дозе 200 мг 2 р/сут и 40 мг 2 р/сут составила 46% и 39% соответственно. В исследовании ASCSEMBL вероятность достижения БМО к 2 годам составила 41% [32]. В нашей работе вероятность достижения ГМО в группе 200 мг 2 р/сут составила 29%, а в группе 40 мг 2 р/сут - 24%. Отмечено, что эффективность лечения пациентов была достаточно высокой вне зависимости от наличия мутации T315I при соблюдении рекомендуемого дозового режима.

У больных с длительно сохраняющимся ГМО на фоне терапии асциминибом проводились попытки снижения дозы препарата, при этом никто из больных не потерял ответ при медиане наблюдения 37 месяцев. Это свидетельствует о безопасности редукции доз асциминиба у больных со стабильным ГМО и возможности снижения токсичности терапии без повышенного риска потери ответа. В то же время повышение дозы асциминиба с 80 мг/сут до 160-200 мг/сут показало ограниченную эффективность среди пациентов без мутации T315I - у большинства пациентов (6 из 9) оптимальный ответ не был достигнут при терапии в повышенных дозах.

Для анализа неблагоприятных факторов достижения БМО у больных, получающих асциминиб, проведены однофакторный и многофакторный анализы, по данным которых неблагоприятное влияние на вероятность достижения БМО оказали 3 фактора: уровень  $BCR::ABL1 \geq 10\%$  на момент начала терапии асциминибом, наилучший уровень  $BCR::ABL1$  в анамнезе  $\geq 1\%$  и неудача терапии понатинибом в анамнезе. На основании полученных данных построена прогностическая модель, учитывающая количество неблагоприятных факторов у больных. Это позволяет определить наиболее прогностически благоприятную группу больных для терапии асциминибом, но в то же время демонстрирует, что устойчивый к терапии несколькими ИТК опухолевый клон, вероятно, будет

устойчивым и к терапии асциминибом. Примечательно, что наличие ДХА не повлияло на вероятность достижения БМО, однако ассоциировались со снижением 3-летней выживаемости без прогрессии. Кроме того, стабильный ПЦО и БМО был достигнут только у 1 из 9 больных с ДХА.

Оценка изменения мутационного статуса гена *BCR::ABL1* в динамике на фоне терапии асциминибом позволила выявить персистирующие мутации в гене *BCR::ABL1*: T315I, F359V, G250A, F317L, M244V, F311L, а у 2 (3%) из 68 больных появились новые мутации *BCR::ABL1*: A337T и M244V. По данным литературы, у больных с устойчивостью к терапии асциминибом выявляли мутации G109D, Y115N, M244V, V289I, A337V/T, E355G, F359V, E462K, G463D/S, P465S, V468F, S501R, I502L [30, 31, 32, 60]. В нашем исследовании у двух больных, имеющих мутацию F359V, оптимальный ответ на терапию не был достигнут. Следовательно, мутации гена *BCR::ABL1* A337T, M244V и F359V, которые определялись в программе MAP, ассоциируются с устойчивостью к терапии асциминибом. Низкая частота появления новых мутаций *BCR::ABL1* устойчивости в асциминибу на фоне терапии согласуется с литературными данными [30, 31, 32]. В то же время у большинства пациентов отмечалась редукция опухолевого клона с мутацией *BCR::ABL1*, что подтверждает данные об эффективности асциминиба при наличии большинства мутаций АТФ-связывающего сайта *BCR::ABL1*.

### Заключение

Соматические мутации генов миелоидной панели ассоциируются с резистентным течением и прогрессированием ХМЛ, при этом роль мутаций каждого конкретного гена пока не установлена. Мутации генов могут определяться в начале заболевания, в основном это мутации клонального кроветворения, а также могут появляться на фоне терапии, что ассоциируется с трансформацией ХМЛ в продвинутые фазы. Период времени, которое проходит у разных больных от момента появления мутаций до прогрессирования заболевания четко не

установлен. Вероятнее всего, кинетика клонов в зависимости от разных факторов имеет индивидуальный характер, в связи с чем использование метода ВПС может быть полезно для динамической оценки мутационного профиля у больных ХМЛ с отсутствием оптимального ответа на терапию ИТК, в особенности с высоким уровнем экспрессии химерного гена ( $BCR::ABL^{IS} > 10\%$ ). Своевременное определение неблагоприятных молекулярных маркеров в дебюте заболевания и при неудаче терапии ИТК может способствовать улучшению терапевтических подходов у больных, в том числе путем применения таргетной терапии, направленной на альтернативные генетические мишени, а также более раннему выполнению алло-ТГСК до прогрессирования заболевания. Появление нового аллостерического ИТК в терапии больных ХМЛ подарило надежду на достижение ответа у больных с неудачей терапии стандартным ИТК, однако при резистентности, связанной с соматическими мутациями генов и некоторыми мутациями  $BCR::ABL1$ , возможности монотерапии асциминибом ограничены. Необходимо продолжить изучение роли и клинической значимости соматических мутаций различных генов у больных ХМЛ в рамках проспективных исследований для разработки новых подходов к диагностике и преодолению резистентности заболевания.

## Выводы

1. Установлено, что соматические мутации генов миелоидной панели достоверно чаще определялись у больных хроническим миелолейкозом с неудачей терапии ингибиторами тирозинкиназ, чем у больных с оптимальным ответом: 52% против 7% ( $p=0,0002$ ), в том числе на момент диагностики заболевания: 46% против 5% ( $p=0,0037$ ).

2. У больных с неудачей терапии наиболее часто выявлялись мутации в гене *ASXL1* (31%); также выявлены мутации в генах *DNMT3A*, *RUNX1*, *CEBPA*, *WT1*, *NPM1* и *TET2*. Мутации чаще определялись у больных с уровнем *BCR::ABL1*  $\geq 10\%$  ( $p=0,023$ ), другие факторы были не значимы. Наличие мутаций в генах *CEBPA*, *RUNX1*, *NPM1* и *WT1* ассоциировалось с прогрессированием хронического миелолейкоза.

3. У большинства больных с резистентным течением хронического миелолейкоза соматические мутации генов миелоидной панели появляются (46%) или персистируют (31%) на фоне терапии. У единичных больных с оптимальным ответом на лечение соматические мутации генов выявлялись только на момент диагностики хронического миелолейкоза (5%) или появлялись на фоне терапии (7%) с низкой аллельной нагрузкой.

4. Факторами риска неудачи терапии асциминибом являются уровень *BCR::ABL1*  $\geq 10\%$  на момент начала терапии асциминибом, наилучший уровень *BCR::ABL1* в анамнезе  $\geq 1\%$  и неудача терапии понатинибом в анамнезе. Мутации устойчивости к асциминibu в гене *BCR::ABL1* (A337T и M244V) появились у 3% больных на фоне лечения.

5. У больных с соматическими мутациями генов, преимущественно *ASXL1*, при терапии асциминибом в третьей и последующих линиях выживаемость без прогрессии ( $p=0,024$ ), вероятность достижения полного

цитогенетического ответа ( $p=0,018$ ) и большого молекулярного ответа ( $p=0,004$ ) значительно ниже по сравнению с больными без мутаций.

### Список сокращений

- AMP - Association for Molecular Pathology (ассоциация молекулярной патологии)
- ELN - European LeukemiaNet
- FISH - флуоресцентная in situ гибридизация
- IC50 - концентрация полумаксимального ингибирования
- IRIS - International randomized study of interferon and sti57
- IS - International scale (международная шкала оценки уровня транскрипта *BCR::ABL1*)
- MAP – Managed Access Program
- NGS – next generation sequencing
- Ph-хромосома - филадельфийская хромосома
- STAMP - Specifically Targeting the ABL Myristoyl Pocket
- VAF – variant allele frequency (аллельная нагрузка)
- Алло-ТГСК - трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток
- БК - бластный криз
- БМО - большой молекулярный ответ
- ВБП – беспрогрессивная выживаемость
- ВПС – высокопроизводительное секвенирование
- ГМО – глубокий молекулярный ответ
- ДГА – дополнительные генетические аномалии
- ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ДХА - дополнительные хромосомные аномалии

ИТК - ингибиторы тирозинкиназ

КД - киназный домен

КК – клональное кроветворение

ККНП – клональное кроветворение неясного потенциала

МДС – миелодиспластический синдром

МПН- миелопролиферативное заболевание

МО2, МО4, МО4,5 - молекулярный ответ со снижением *BCR::ABL1* на 2, 4 или 4,5  
log

ОВ – общая выживаемость

ОМЛ – острый миелоидный лейкоз

ОШ - отношение шансов

ПЦР - полимеразная цепная реакция

ПГО - полный гематологический ответ

ПЦО - полный цитогенетический ответ

РНК - рибонуклеиновая кислота

ФА - фаза акселерации

ХМЛ - хронический миелоидный лейкоз

ХФ - хроническая фаза

### Список литературы

1. Асциминиб у больных хроническим миелолейкозом, не имеющих альтернативных методов лечения: результаты исследования в рамках программы расширенного доступа MAP (Managed Access Program, NCT04360005) в России / А. Г. Туркина, А. В. Кохно, Н. Н. Цыба [et al.] // Клиническая онкогематология. – 2023. – Vol. 16. – № 1. – P. 54-68.
2. Влияние различных хромосомных аномалий в Ph-позитивных клетках костного мозга на течение хронического миелолейкоза при терапии ингибиторами тирозинкиназ / О. Ю. Виноградова, Е. А. Асеева, А. В. Воронцова [et al.] // Онкогематология. – 2014. – Vol. 7. – № 4. – P. 24-34.
3. Заболеваемость хроническим миелолейкозом в 6 регионах России по данным популяционного исследования 2009-2012 гг. / С. М. Куликов, О. Ю. Виноградова, Е. Ю. Челышева [et al.] // Терапевтический архив. – 2014. – Vol. 86. – № 7. – P. 24-30.
4. Изменения в клетках-предшественницах стромального микроокружения костного мозга больных хроническим миелолейкозом в дебюте заболевания и в ходе лечения / Н. А. Петинати, И. Н. Шипунова, А. Е. Бигильдеев [et al.] // Гематология и трансфузиология. — 2019. — Vol. 64, № 4. — P. 424–435.
5. Кашлакова А. И. Клональное кроветворение и острые миелоидные лейкозы / А. И. Кашлакова, Б. В. Бидерман, Е. Н. Паровичникова // Онкогематология. – 2023. – Vol. 18. – № 3. – P. 92-101.
6. Клинические рекомендации по диагностике и лечению хронического миелолейкоза / А. Г. Туркина, А. Ю. Зарицкий, В. А. Зарицкий [et al.] // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2017. – Vol. 10. – № 3. – P. 294-316.
7. Куцев, С. И. Значение анализа мутаций гена Bcr-Abl в оптимизации таргетной терапии хронического миелолейкоза / С. И. Куцев, М. В. Вельченко. // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2008. – Vol. 1. – № 3. – P. 190-199.

8. Меликян, А. Л. Биология миелопролиферативных новообразований / А. Л. Меликян, И. Н. Суборцева // Клиническая онкогематология. – 2016. – Vol. 9. – № 3. – P. 314-325.
9. Мисюрин, А. В. Цитогенетические и молекулярно-генетические факторы прогноза острых миелоидных лейкозов / А. В. Мисюрин // Клиническая онкогематология. – 2017. – Vol. 10. – № 2. – P. 227-234.
10. Молекулярно-генетические предикторы первичной резистентности хронического миелоидного лейкоза к терапии ингибиторами тирозинкиназ / Э.П. Адильгереева, А.Г. Никитин, Д.Г. Жегло [et al.] // Вестник гематологии. – 2021. – Vol. 17. – № 2. – P. 45-46.
11. Мутации киназного домена гена Bcr-Abl при хроническом миелолейкозе / Чельшева Е. Ю., Шухов О. А., Лазарева О. В., Туркина А. Г. // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2012. – Vol. 5. – № 1. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/mutatsii-kinaznogo-domena-gena-bcr-abl-pri-hronicheskom-mieloleykoze> (дата обращения: 23.02.2024).
12. Отдалённые результаты наблюдения больных хроническим миелолейкозом в ремиссии без лечения / А. Н. Петрова, Е. Ю. Чельшева, И. С. Немченко [et al.] // Гематология и трансфузиология. — 2023. — Vol. 68, № 1. — P. 21–34.
13. Отдаленные результаты терапии хронического миелолейкоза: 20-летний анализ применения ингибиторов тирозинкиназ в России / О. А. Шухов, О. Ю. Виноградова, Е. Ю. Чельшева [et al.] // Гематология и трансфузиология. – 2023. – Vol. 68. – № 4. – P. 472-484.
14. Прогностические генетические маркеры рецидивов хронического миелолейкоза у пациентов после отмены ингибиторов тирозинкиназ / С. А. Смирнихина, Е. Ю. Чельшева, А. В. Лавров [et al.] // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2017. – Vol. 10. – № 4. – P. 580-581.

15. Результаты терапии больных хроническим миелолейкозом по данным российской части международного многоцентрового популяционного исследования EUTOS Population-based Study (EUTOS-PBS) / А. Г. Туркина, О. В. Лазарева, Е. Ю. Чельшева [et al.] // Гематология и трансфузиология. – 2019. – Vol. 64. – № 2. – P. 1029-121.

16. Роль соматических мутаций в различных генах и проблема резистентности к ингибиторам тирозинкиназ у пациентов с хроническим миелолейкозом (обзор литературы) / Кузьмина Е. А., Чельшева Е. Ю., Бидерман Б. В., Туркина А. Г. // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2025. – Т. 18, № 1. – P. 10-20.

17. Соматические мутации генов, ассоциированные с миелоидными неоплазиями, у больных хроническим миелолейкозом и их влияние на эффективность терапии ингибиторами тирозинкиназ / Е. А. Кузьмина, Е. Ю. Чельшева, Б. В. Бидерман [и др.] // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2025. – Т. 18, № S2. – С. 62-63.

18. 2025 European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia / J. F. Apperley, D. Milojkovic, N. C. P. Cross [et al.] // Leukemia. – 2025. – Vol. 39. – № 8. – P. 1797-1813.

19. A deep-sequencing study of chronic myeloid leukemia patients in blast crisis (BC-CML) detects mutations in 76.9% of cases / V. Grossmann, A. Kohlmann, M. Zenger [et al.] // Leukemia. – 2011. – Vol. 25. – № 3. – P. 557-560.

20. ABL001, a Potent, Allosteric Inhibitor of BCR-ABL, Exhibits Safety and Promising Single-Agent Activity in a Phase I Study of Patients with CML with Failure of Prior TKI Therapy / O. G. Ottmann, G. Alimena, D. J. Deangelo [et al.] // Blood. – 2015. – Vol. 126. – № 23. – P. 138.

21. Activity of bosutinib, dasatinib, and nilotinib against 18 imatinib-resistant BCR/ABL mutants / S. Redaelli, R. Piazza, R. Rostagno [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2009. – Vol. 27. – № 3. – P. 469-471.

22. Additional Mutational Events at Diagnosis of CML Confer Inferior Failure-Free Survival and Molecular Response for Patients Treated with Frontline Imatinib but Not for Patients Treated with Frontline Second-Generation Tyrosine Kinase Inhibitors / N. Shanmuganathan, D. T. Yeung, C. Wadham [et al.] // *Blood*. – 2022. – Vol. 140. – № Supplement 1. – P. 805-806.

23. Aging, clonal hematopoiesis and preleukemia: not just bad luck? / L. I. Shlush, S. Zandi, S. Itzkovitz, A. C. Schuh // *International Journal of Hematology*. – 2015. – Vol. 102. – № 5. – P. 513-522.

24. AHI-1 interacts with BCR-ABL and modulates BCR-ABL transforming activity and imatinib response of CML stem/progenitor cells / L. L. Zhou, Y. Zhao, A. Ringrose [et al.] // *The Journal of Experimental Medicine*. – 2008. – Vol. 205. – № 11. – P. 2657-2671.

25. AML-1 is required for megakaryocytic maturation and lymphocytic differentiation, but not for maintenance of hematopoietic stem cells in adult hematopoiesis / M. Ichikawa, T. Asai, T. Saito [et al.] // *Nature Medicine* 2004 10:3. – 2004. – Vol. 10. – № 3. – P. 299-304.

26. Amplification of BCR-ABL and t(3;21) in a patient with blast crisis of chronic myelogenous leukemia / C. L. Phan, P. J. N. B. Megat Baharuddin, L. P. Chin [et al.] // *Cancer Genetics and Cytogenetics*. – 2008. – Vol. 180. – № 1. – P. 60-64.

27. An integrative model of pathway convergence in genetically heterogeneous blast crisis chronic myeloid leukemia / T. K. Ko, A. Javed, K. L. Lee [et al.] // *Blood*. – 2020. – Vol. 135. – № 26. – P. 2337-2353.

28. Andrews, C. The role of ponatinib in chronic myeloid leukemia in the era of treatment free remission / C. Andrews, J. Lipton. // *Leukemia and Lymphoma*. – 2019. – Vol. 60. – № 13. – P. 3099-3101.

29. Apperley, J. F. Part I: Mechanisms of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia / J. F. Apperley. // *Lancet Oncology*. – 2007. – Vol. 8. – № 11. – P. 1018-1029.

30. Asciminib in Chronic Myeloid Leukemia after ABL Kinase Inhibitor Failure / T. P. Hughes, M. J. Mauro, J. E. Cortes [et al.] // *The New England journal of medicine*. – 2019. – Vol. 381. – № 24. – P. 2315-2326.
31. Asciminib monotherapy in patients with CML-CP without BCR::ABL1 T315I mutations treated with at least two prior TKIs: 4-year phase 1 safety and efficacy results / M. J. Mauro, T. P. Hughes, D. W. Kim [et al.] // *Leukemia*. – 2023. – Vol. 37. – № 5. – P. 1048-1059.
32. Asciminib vs bosutinib in chronic-phase chronic myeloid leukemia previously treated with at least two tyrosine kinase inhibitors: longer-term follow-up of ASCSEMBL / A. Hochhaus, D. Réa, C. Boquimpani [et al.] // *Leukemia*. – 2023. – Vol. 37. – № 3. – P. 617-626.
33. Assessment of imatinib as first-line treatment of chronic myeloid leukemia: 10-year survival results of the randomized CML study IV and impact of non-CML determinants / R. Hehlmann, M. Lauseker, S. Saußebe [et al.] // *Leukemia*. – 2017. – Vol. 31. – № 11. – P. 2398-2406.
34. ASXL1 mutations predict inferior molecular response to nilotinib treatment in chronic myeloid leukemia / L. Schönfeld, J. Rinke, A. Hinze [et al.] // *Leukemia*. – 2022. – Vol. 36. – № 9. – P. 2242-2249.
35. Bcr-Abl expression levels determine the rate of development of resistance to imatinib mesylate in chronic myeloid leukemia / D. J. Barnes, D. Palaiologou, E. Panousopoulou [et al.] // *Cancer Research*. – 2005. – Vol. 65. – № 19. – P. 8912-8919.
36. BCR-ABL kinase domain mutation analysis in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors: recommendations from an expert panel on behalf of European LeukemiaNet / S. Soverini, A. Hochhaus, F. E. Nicolini [et al.] // *Blood*. – 2011. – Vol. 118. – № 5. – P. 1208-1215.
37. BCR-ABL1 compound mutants: prevalence, spectrum and correlation with tyrosine kinase inhibitor resistance in a consecutive series of Philadelphia chromosome-positive leukemia patients analyzed by NGS / S. Soverini, M. Martelli, L. Bavaro [et al.] // *Leukemia*. – 2021. – Vol. 35. – P. 2102-2107.

38. BCR–ABL1 lymphoblastic leukaemia is characterized by the deletion of Ikaros / C. G. Mullighan, C. B. Miller, I. Radtke [et al.] // Nature 2008 453:7191. – 2008. – Vol. 453. – № 7191. – P. 110-114.
39. Bcr-Abl-independent imatinib-resistant K562 cells show aberrant protein acetylation and increased sensitivity to histone deacetylase inhibitors / M. L. Sang, H. B. Jae, J. K. Mi [et al.] // The Journal of pharmacology and experimental therapeutics. – 2007. – Vol. 322. – № 3. – P. 1084-1092.
40. Beyond BCR::ABL1-The Role of Genomic Analyses in the Management of CML / S. Branford, A. Fernandes, N. H. Shahrin [et al.] // Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN. – 2024. – Vol. 22. – № 1. – e237335. DOI:10.6004/jnccn.2023.7335
41. Biological implications of clonal hematopoiesis / T. C. Luis, A. C. Wilkinson, I. Beerman [et al.] // Experimental Hematology. – 2019. – Vol. 77. – P. 1-5.
42. BLAST: Basic Local Alignment Search Tool // NCBI : [сайт]. – URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (дата обращения: 17.07.2024). – Текст : электронный.
43. Bolger, A. M. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data / A. M. Bolger, M. Lohse, B. Usadel. // Bioinformatics. – 2014. – Vol. 30. – № 15. – P. 2114-2120.
44. Bosutinib efficacy and safety in chronic phase chronic myeloid leukemia after imatinib resistance or intolerance: Minimum 24-month follow-up / C. Gambacorti-Passerini, T. H. Brümmendorf, D. W. Kim [et al.] // American Journal of Hematology. – 2014. – Vol. 89. – № 7. – P. 732-742.
45. Bosutinib Versus Imatinib for Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia: Results From the Randomized BFORE Trial / J. E. Cortes, C. Gambacorti-Passerini, M. W. Deininger [et al.] // J Clin Oncol. – 2017. – Vol. 36. – P. 231-237.
46. Branford, S. Chronic Myeloid Leukemia: Molecular Monitoring in Clinical Practice / S. Branford. // Hematology. – 2007. – Vol. 2007. – № 1. – P. 376-383.
47. Branford, S. Selecting optimal second-line tyrosine kinase inhibitor therapy for chronic myeloid leukemia patients after imatinib failure: does the BCR-ABL mutation

status really matter? / S. Branford, J. V. Melo, T. P. Hughes. // *Blood*. – 2009. – Vol. 114. – № 27. – P. 5426-5435.

48. C. G. Geary. The story of chronic myeloid leukaemia / C. G. Geary. // *British Journal of Haematology*. – 2001. – Vol. 110. – № 1. – P. 2-11.

49. Cancer Cell Article Nilotinib and MEK Inhibitors Induce Synthetic Lethality through Paradoxical Activation of RAF in Drug-Resistant Chronic Myeloid Leukemia / L. M. Packer, S. Rana, R. Hayward [et al.] // *Cancer cell*. – 2011. – Vol. 20. – № 6. – P. 715–727.

50. Cancer Statistics, 2008 / A. Jemal, R. Siegel, E. Ward [et al.] // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 2008. – Vol. 58. – № 2. – P. 71-96.

51. Cancer statistics, 2023 / R. L. Siegel, K. D. Miller, N. S. Wagle, A. Jemal. // *CA: A Cancer Journal For Clinicians*. – 2023. – Vol. 73. – № 1. – P. 17-48.

52. Chomczynski, P. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction / P. Chomczynski, N. Sacchi // *Analytical Biochemistry*. – 1987. – Vol. 162. – № 1. – P. 156-159.

53. ClinVar // NCBI : [сайт]. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/> (дата обращения: 17.07.2024). – Текст : электронный.

54. Clonal evolution and clinical implications of genetic abnormalities in blastic transformation of chronic myeloid leukaemia / Y. Ochi, K. Yoshida, Y. J. Huang [et al.] // *Nature Communications*. – 2021. – Vol. 12. – № 1. – P. 2833.

55. Clonal haematopoiesis harbouring AML-associated mutations is ubiquitous in healthy adults / A. L. Young, G. A. Challen, B. M. Birmann, T. E. Druley // *Nature Communications*. – 2016. – Vol. 7. – P. 12484. DOI: 10.1038/NCOMMS12484

56. Clonal Hematopoiesis and Blood-Cancer Risk Inferred from Blood DNA Sequence / G. Genovese, A. K. Kähler, R. E. Handsaker [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2014. – Vol. 371. – № 26. – P. 2477-2487.

57. CML-1: Understanding the clonal hierarchy in Chronic Myeloid Leukemia to help improve patient outcomes // HARMONY Alliance : [сайт]. – URL: <https://www.harmony-alliance.eu/projects/research-project/cml-understanding-the->

clonal-hierarchy-in-chronic-myeloid-leukemia-to-help-improve-patient-outcomes-1655723411 (дата обращения: 18.07.2024). – Текст : электронный.

58. Coexistence of AML1/RUNX1 and BCR-ABL point mutations in an imatinib-resistant form of CML / S. Corm, V. Biggio, C. Roche-Lestienne et al. // *Leukemia* 2005 19:11. – 2005. – Vol. 19. – № 11. – P. 1991-1992.

59. Combination of asciminib plus nilotinib (nil) or dasatinib (das) in patients (pts) with chronic myeloid leukemia (cml): results from a phase 1 study. Abstract S884 / M. Mauro, D. Kim, J. Cortes [et al.] // *HemaSphere*. – 2019. – Vol. 3. – № S1. – P. 397-398.

60. Combining the Allosteric Inhibitor Asciminib with Ponatinib Suppresses Emergence of and Restores Efficacy Against Highly Resistant BCR-ABL1 Mutants / C. A. Eide, M. S. Zabriskie, S. L. Savage Stevens [et al.] // *Cancer cell*. – 2019. – Vol. 36. – № 4. – P. 431.

61. Connections between Clonal Hematopoiesis, Cardiovascular Disease, and Cancer: A Review / O. Calvillo-Argüelles, S. Jaiswal, L. I. Shlush [et al.] // *JAMA Cardiology*. – 2019. – Vol. 4. – № 4. – P. 380-387.

62. Contribution of ABL Kinase Domain Mutations to Imatinib Resistance in Different Subsets of Philadelphia-Positive Patients: By the GIMEMA Working Party on Chronic Myeloid Leukemia / S. Soverini, S. Colarossi, A. Gnani [et al.] // *Clinical Cancer Research*. – 2006. – Vol. 12. – № 24. – P. 7374-7379.

63. Copland, M. Treatment of blast phase chronic myeloid leukaemia: A rare and challenging entity / M. Copland // *British Journal of Haematology*. – 2022. – Vol. 199. – № 5. – P. 665-678.

64. Corces-Zimmerman, M. R. Pre-leukemic evolution of hematopoietic stem cells: The importance of early mutations in leukemogenesis / M. R. Corces-Zimmerman, R. Majeti // *Leukemia*. – 2014. – Vol. 28. – № 12. – P. 2276-2282.

65. Cortes, J. Chronic myeloid leukaemia / J. Cortes, C. Pavlovsky, S. Saübele. // *The Lancet*. – 2021. – Vol. 398. – № 10314. – P. 1914-1926.

66. Cortes, J. Third-line therapy for chronic myeloid leukemia: current status and future directions / J. Cortes, F. Lang. // *Journal of Hematology and Oncology*. – 2021. – Vol. 14. – № 1. – P. 1-18.
67. COSMIC: Somatic cancer genetics at high-resolution / S. A. Forbes, D. Beare, H. Boutselakis [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2017. – Vol. 45. – № D1. – P. D777-D783.
68. Dasatinib in imatinib-resistant or -intolerant chronic-phase, chronic myeloid leukemia patients: 7-year follow-up of study CA180-034 / N. P. Shah, P. Rousselot, C. Schiffer [et al.] // *American Journal of Hematology*. – 2016. – Vol. 91. – № 9. – P. 869-874.
69. Dasatinib induces complete hematologic and cytogenetic responses in patients with imatinib-resistant or -intolerant chronic myeloid leukemia in blast crisis / J. Cortes, P. Rousselot, D. W. Kim [et al.] // *Blood*. – 2007. – Vol. 109. – № 8. – P. 3207-3213.
70. De novo UBE2A mutations are recurrently acquired during chronic myeloid leukemia progression and interfere with myeloid differentiation pathways / V. Magistroni, M. Mauri, D. D'Aliberti [et al.] // *Haematologica*. – 2019. – Vol. 104. – № 9. – P. 1789-1797.
71. Deep sequencing of BCR-ABL1 kinase domain mutations in chronic myeloid leukemia patients with resistance to tyrosine kinase inhibitors / Y. Erbilgin, A. E. Eskazan, O. Hatirnaz Ng [et al.] // *Leukemia & lymphoma*. – 2019. – Vol. 60. – № 1. – P. 200-207.
72. Deininger, M. W. Diagnosing and Managing Advanced Chronic Myeloid Leukemia / M. W. Deininger. // *American Society of Clinical Oncology Educational Book*. – 2015. – № 35. – P. e381-e388.
73. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel / H. Döhner, E. Estey, D. Grimwade [et al.] // *Blood*. – 2017. – Vol. 129. – № 4. – P. 424-447.
74. Discontinuation of tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukaemia (EURO-SKI): a prespecified interim analysis of a prospective, multicentre,

non-randomised, trial / S. Saussele, J. Richter, J. Guilhot [et al.] // *The Lancet Oncology*. – 2018. – Vol. 19. – № 6. – P. 747-757.

75. Discovery of Asciminib (ABL001), an Allosteric Inhibitor of the Tyrosine Kinase Activity of BCR-ABL1 / J. Schoepfer, W. Jahnke, G. Berellini [et al.] // *Journal of medicinal chemistry*. – 2018. – Vol. 61. – № 18. – P. 8120-8135.

76. dna prep for eukaryotic cells (macrophages)? // Bio.net : [сайт]. – URL: <http://www.bio.net/bionet/mm/methods-and-reagents/1995-July/031231.html> (дата обращения: 17.07.2024). – Текст : электронный.

77. Dynamics of the emergence of dasatinib and nilotinib resistance in imatinib-resistant CML patients / F. X. Gruber, T. Ernst, K. Porkka [et al.] // *Leukemia*. – 2012. – Vol. 26. – № 1. – P. 172-177.

78. Effective therapy for AML with RUNX1 mutation by cotreatment with inhibitors of protein translation and BCL2 / C. P. Mill, W. Fiskus, C. D. DiNardo [et al.] // *Blood*. – 2022. – Vol. 139. – № 6. – P. 907-921. ..

79. Efficacy of Retinoids in IKZF1-Mutated BCR-ABL1 Acute Lymphoblastic Leukemia / M. L. Churchman, J. Low, C. Qu [et al.] // *Cancer cell*. – 2015. – Vol. 28. – № 3. – P. 343-356.

80. Epigenetic down-regulation of BIM expression is associated with reduced optimal responses to imatinib treatment in chronic myeloid leukaemia / E. San José-Eneriz, X. Agirre, A. Jiménez-Velasco [et al.] // *European Journal of Cancer*. – 2009. – Vol. 45. – № 10. – P. 1877-1889.

81. Epigenetic targeted therapy of stabilized BAP1 in ASXL1 gain-of-function mutated leukemia / L. Wang, N. W. Birch, Z. Zhao [et al.] // *Nature cancer*. – 2021. – Vol. 2. – № 5. – P. 515-526.

82. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia / A. Hochhaus, M. Baccarani, R. T. Silver [et al.] // *Leukemia* 2020 34:4. – 2020. – Vol. 34. – № 4. – P. 966-984.

83. European LeukemiaNet laboratory recommendations for the diagnosis and management of chronic myeloid leukemia / N. C. P. Cross, T. Ernst, S. Branford [et al.] // *Leukemia*. – 2023. – Vol. 37. – № 11. – P. 2150-2167.

84. Final 5-Year Study Results of DASISION: The Dasatinib Versus Imatinib Study in Treatment-Naïve Chronic Myeloid Leukemia Patients Trial / J. E. Cortes, G. Saglio, H. M. Kantarjian [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2016. – Vol. 34. – № 20. – P. 2333.
85. Franklin // Genoox : [сайт]. – URL: <https://franklin.genoox.com/clinical-db/home> (дата обращения: 17.07.2024). – Текст : электронный.
86. Frequency and clinical significance of BCR-ABL mutations in patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib mesylate / E. Jabbour, H. Kantarjian, D. Jones [et al.] // *Leukemia*. – 2006. – Vol. 20. – P. 1767-1773.
87. Frequent ASXL1 mutations in children and young adults with chronic myeloid leukemia / T. Ernst, M. Busch, J. Rinke [et al.] // *Leukemia* 2018 32:9. – 2018. – Vol. 32. – № 9. – P. 2046-2049.
88. Frequent somatic mutations in epigenetic regulators in newly diagnosed chronic myeloid leukemia / E. Togasaki, J. Takeda, K. Yoshida [et al.] // *Blood Cancer Journal*. – 2017. – Vol. 7. – № 4. – P. e559. DOI: 10.1038/BCJ.2017.36
89. Fromentel, C. C. De. TP53 tumor suppressor gene: a model for investigating human mutagenesis / C. C. De Fromentel, T. Soussi. // *Genes, chromosomes & cancer*. – 1992. – Vol. 4. – № 1. – P. 1-15.
90. Fused transcript of abl and bcr genes in chronic myelogenous leukaemia / E. Shtivelman, B. Lifshitz, R. P. Gale, E. Canaani. // *Nature*. – 1985. – Vol. 315. – № 6020. – P. 550-554.
91. Gain of function of ASXL1 truncating protein in the pathogenesis of myeloid malignancies / H. Yang, S. Kurtenbach, Y. Guo [et al.] // *Blood*. – 2018. – Vol. 131. – № 3. – P. 328-341.
92. Gain-of-function mutation of GATA-2 in acute myeloid transformation of chronic myeloid leukemia / S. J. Zhang, L. Y. Ma, Q. H. Huang [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2008. – Vol. 105. – № 6. – P. 2076-2081.

93. Ganguly, B. B. Mutations of myelodysplastic syndromes (MDS): An update / B. B. Ganguly, N. N. Kadam. // Mutation research. Reviews in mutation research. – 2016. – Vol. 769. – P. 47-62.
94. Genetic Heterogeneity in Chronic Myeloid Leukemia: How Clonal Hematopoiesis and Clonal Evolution May Influence Prognosis, Treatment Outcome, and Risk of Cardiovascular Events / E. Sant'Antonio, C. Camerini, V. Rizzo [et al.] // Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia. – 2021. – Vol. 21. – № 9. – P. 573-579.
95. Hehlmann, R. Chronic Myeloid Leukemia in 2020 / R. Hehlmann // HemaSphere. – 2020. – Vol. 4. – № 5. – P. E468. DOI: 10.1097/HS9.0000000000000468
96. Hehlmann, R. Clinical Medicine The New ELN Recommendations for Treating CML / R. Hehlmann. // Journal of clinical medicine. – 2020. – Vol. 9. – № 11. – P. 3671.
97. High STAT5 levels mediate imatinib resistance and indicate disease progression in chronic myeloid leukemia / W. Warsch, K. Kollmann, E. Eckelhart [et al.] // Blood. – 2011. – Vol. 117. – № 12. – P. 3409-3420.
98. Hoemberger, M. Cumulative mechanism of several major imatinib-resistant mutations in Abl kinase / M. Hoemberger, W. Pitsawong, D. Kern. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2020. – Vol. 117. – № 32. – P. 19221-19227.
99. Holyoake, T. L. Review Series The chronic myeloid leukemia stem cell: stemming the tide of persistence / T. L. Holyoake, D. Vetrie. // Blood. – 2017. – Vol. 129. – № 12. – P. 1595-1606.
100. igv.js: an embeddable JavaScript implementation of the Integrative Genomics Viewer (IGV) / J. T. Robinson, H. Thorvaldsdottir, D. Turner, J. P. Mesirov. // Bioinformatics (Oxford, England). – 2023. – Vol. 39. – № 1. – P. btac830. DOI: 10.1093/BIOINFORMATICS/BTAC830
101. Imatinib Long-Term Effects Study: Global Independent Assessment of Imatinib in Chronic Myeloid Leukemia: Results At 8 Years, / C. Gambacorti-Passerini, L. Antolini, R. Piazza [et al.] // Blood. – 2011. – Vol. 118. – № 21. – P. 3766-3766.

102. Impact of additional cytogenetic aberrations at diagnosis on prognosis of CML: long-term observation of 1151 patients from the randomized CML Study IV / A. Fabarius, A. Leitner, A. Hochhaus [et al.] // *Blood*. – 2011. – Vol. 118. – № 26. – P. 6760-6768.

103. Impact of additional genetic abnormalities at diagnosis of chronic myeloid leukemia for first-line imatinib-treated patients receiving proactive treatment intervention / N. Shanmuganathan, C. Wadham, N. H. Shahrin [et al.] // *Haematologica*. – 2023. – Vol. 108. – № 9. – P. 2380-2395.

104. Impact of Mutations in Blood Cancer-Related Genes on Clinical Outcomes in Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase (CML-CP) after  $\geq 2$  Tyrosine Kinase Inhibitors (TKIs) in the Ascembl Trial / S. Branford, A. Hochhaus, M. Mauro [et al.] // *Blood*. – 2023. – Vol. 142. – № Supplement 1. – P. 449.

105. Integrative genomic analysis reveals cancer-associated mutations at diagnosis of CML in patients with high-risk disease / S. Branford, P. Wang, D. T. Yeung [et al.] // *Blood*. – 2018. – Vol. 132. – № 9. – P. 948-961.

106. Jabbour, E. Chronic myeloid leukemia: 2022 update on diagnosis, therapy, and monitoring / E. Jabbour, H. Kantarjian // *American Journal of Hematology*. – 2022. – Vol. 97. – № 9. – P. 1236-1256.

107. Jaiswal, S. Clonal hematopoiesis in human aging and disease / S. Jaiswal, B. L. Ebert // *Science*. – 2019. – Vol. 366. – № 6465. – P. ean4673. DOI:10.1126/science.aan4673

108. Laying the foundation for genomically-based risk assessment in chronic myeloid leukemia behalf of the International CML Foundation Genomics Alliance / S. Branford, D. Dong, H. Kim [et al.] // *Leukemia*. – 2019. – Vol. 33. – P. 1835-1850.

109. Li, H. Fast and accurate long-read alignment with Burrows-Wheeler transform / H. Li, R. Durbin. // *Bioinformatics (Oxford, England)*. – 2010. – Vol. 26. – № 5. – P. 589-595.

110. Life Expectancy of Patients With Chronic Myeloid Leukemia Approaches the Life Expectancy of the General Population / H. Bower, M. Björkholm, P. W. Dickman

[et al.] // Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. – 2016. – Vol. 34. – № 24. – P. 2851-2857.

111. Lineage Involvement of Stem Cells Bearing the Philadelphia Chromosome in Chronic Myeloid Leukemia in the Chronic Phase as Shown by a Combination of Fluorescence-Activated Cell Sorting and Fluorescence In Situ Hybridization / N. Takahashi, I. Miura, K. Saitoh, A. B. Miura // Blood. – 1998. – Vol. 92. – № 12. – P. 4758-4763.

112. Long-term benefits and risks of frontline nilotinib vs imatinib for chronic myeloid leukemia in chronic phase: 5-year update of the randomized ENESTnd trial / A. Hochhaus, G. Saglio, T. P. Hughes [et al.] // Leukemia. – 2016. – Vol. 30. – № 5. – P. 1044-1054.

113. Long-term bosutinib for chronic phase chronic myeloid leukemia after failure of imatinib plus dasatinib and/or nilotinib / J. E. Cortes, H. J. Khoury, H. M. Kantarjian [et al.] // American Journal of Hematology. – 2016. – Vol. 91. – № 12. – P. 1206-1214.

114. Long-Term Outcomes of Imatinib Treatment for Chronic Myeloid Leukemia / A. Hochhaus, R. A. Larson, F. Guilhot [et al.] // The New England journal of medicine. – 2017. – Vol. 376. – № 10. – P. 472

115. Loss of p53 impedes the antileukemic response to BCR-ABL inhibition / H. G. Wendel, E. De Stanchina, E. Cepero [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2006. – Vol. 103. – № 19. – P. 7444-7449.

116. Luque Paz, D. Genetic basis and molecular profiling in myeloproliferative neoplasms / D. Luque Paz, R. Kralovics, R. C. Skoda. // Blood. – 2023. – Vol. 141. – № 16. – P. 1909-1921.

117. Manley, P. W. The specificity of asciminib, a potential treatment for chronic myeloid leukemia, as a myristate-pocket binding ABL inhibitor and analysis of its interactions with mutant forms of BCR-ABL1 kinase / P. W. Manley, L. Barys, S. W. Cowan-Jacob. // Leukemia Research. – 2020. – Vol. 98. – P. 106458.

118. Molecular Landscape and Validation of New Genomic Classification in 2668 Adult AML Patients: Real Life Data from the PETHEMA Registry / C. Sargas, R. Ayala,

M. J. Larráyo [et al.] // *Cancers*. – 2023. – Vol. 15. – № 2. – P. 438. DOI: 10.3390/CANCERS15020438

119. Molecular Minimal Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia / M. Jongen-Lavrencic, T. Grob, D. Hanekamp [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2018. – Vol. 378. – № 13. – P. 1189-1199.

120. Molecular-defined clonal evolution in patients with chronic myeloid leukemia independent of the BCR-ABL status / M. Schmidt, J. Rinke, V. Schäfer [et al.] // *Leukemia*. – 2014. – Vol. 28. – № 12. – P. 2292-2299.

121. Multipotent Mesenchymal Stromal Cells in Patients with Chronic Myeloid Leukemia before Discontinuation of Tyrosine Kinase Inhibitors / N. A. Petinati, A. N. Petrova, E. Y. Chelysheva [et al.] // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2019. – Vol. 167. – № 4. – P. 580–583.

122. Mutation accumulation in cancer genes relates to nonoptimal outcome in chronic myeloid leukemia / S. A. Awad, M. Kankainen, T. Ojala [et al.] // *Blood Advances*. – 2020. – Vol. 4. – № 3. – P. 546.

123. Mutation analysis of TET2, IDH1, IDH2 and ASXL1 in chronic myeloid leukemia / C. Roche-Lestienne, A. Marceau, E. Labis [et al.] // *Leukemia*. – 2011. – Vol. 25. – № 10. – P. 1661-1664.

124. Mutation status and clinical outcome of 89 imatinib mesylate-resistant chronic myelogenous leukemia patients: a retrospective analysis from the French intergroup of CML (Fi(u)-LMC GROUP) / F. E. Nicolini, S. Corm, Q.-H. Lê [et al.] // *Leukemia*. – 2006. – Vol. 20. – P. 1061-1066.

125. Mutations in the BCR-ABL1 Kinase Domain and Elsewhere in Chronic Myeloid Leukemia / S. Soverini, C. De Benedittis, M. Mancini, G. Martinelli // *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*. – 2015. – Vol. 15. – № S. – P. S120-S128.

126. Myeloid neoplasms with concurrent BCR-ABL1 and CFBF rearrangements: A series of 10 cases of a clinically aggressive neoplasm / A. Salem, S. Loghavi, G. Tang [et al.] // *American journal of hematology*. – 2017. – Vol. 92. – № 6. – P. 520-528.

127. National Cancer Institute. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v5.0. – 2017. – URL: <https://dctd.cancer.gov/research/ctep-trials/trial-development/ctcae-v5.0.xlsx> (дата обращения: 28.09.2025).

128. New mechanisms of AML1 gene alteration in hematological malignancies / C. Roumier, P. Fenaux, M. Lafage [et al.] // *Leukemia*. – 2003. – Vol. 17. – № 1. – P. 9-16.

129. Next-generation sequencing for BCR-ABL1 kinase domain mutation testing in patients with chronic myeloid leukemia: a position paper / S. Soverini, E. Abruzzese, M. Bocchia [et al.] // *Journal of hematology & oncology*. – 2019. – Vol. 12. – № 1. – P. 131. DOI: 10.1186/S13045-019-0815-5

130. Nilotinib in imatinib-resistant or imatinib-intolerant patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase: 48-month follow-up results of a phase II study / F. Giles, P. le Coutre, J. Pinilla-Ibarz [et al.] // *Leukemia*. – 2013. – Vol. 27. – P. 107-112.

131. Nilotinib is effective in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase after imatinib resistance or intolerance: 24-month follow-up results / H. M. Kantarjian, F. J. Giles, K. N. Bhalla [et al.] // *Blood*. – 2011. – Vol. 117. – № 4. – P. 1141-1145.

132. Olverembatinib After Failure of Tyrosine Kinase Inhibitors, Including Ponatinib or Asciminib: A Phase 1b Randomized Clinical Trial / E. Jabbour, V. G. Oehler, P. B. Koller [et al.] // *JAMA Oncology*. – 2025. – Vol. 11. – № 1. – P. 28-35.

133. Omacetaxine mepesuccinate for patients with accelerated phase chronic myeloid leukemia with resistance or intolerance to two or more tyrosine kinase inhibitors / F. E. Nicolini, H. J. Khoury, L. Akard [et al.] // *Haematologica*. – 2013. – Vol. 98. – № 7. – P. e78–e79.

134. p53 in chronic myelogenous leukemia in acute phase / E. Feinstein, G. Cimino, R. P. Gale [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1991. – Vol. 88. – № 14. – P. 6293-6297.

135. P660: Next-generation sequencing (NGS) for detecting BCR::ABL-independent mutations in patients with chronic myeloid leukemia with resistance to

tyrosine kinase inhibitor treatment / D. Kustova, A. Kirienko, E. Motyko [et al.] // *HemaSphere*. – 2023. – Vol. 7. – № S3. – P. e8616465.

136. Phase II study of low-dose decitabine in patients with chronic myelogenous leukemia resistant to imatinib mesylate / J. Issa, V. Gharibyan, J. Cortes [et al.] // *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. – 2005. – Vol. 23. – № 17. – P. 3948-3956.

137. Phase-1 study of vamtinib (PF-114), a 3rd generation BCR::ABL1 tyrosine kinase-inhibitor, in chronic myeloid leukaemia / A. Turkina, O. Vinogradova, E. Lomaia [et al.] // *Annals of hematology*. – 2025. – Vol. 104. – № 5. – P. 2707-2715.

138. Ponatinib efficacy and safety in Philadelphia chromosome-positive leukemia: final 5-year results of the phase 2 PACE trial / J. E. Cortes, D.-W. Kim, J. Pinilla-Ibarz [et al.] // *Blood*. – 2018. – Vol. 132. – № 4. – P. 393–404.

139. Potential mechanisms of disease progression and management of advanced-phase chronic myeloid leukemia / E. J. Jabbour, T. P. Hughes, J. E. Cortés [et al.] // *Leukemia & lymphoma*. – 2014. – Vol. 55. – № 7. – P. 1451-1462.

140. Predicting complete cytogenetic response and subsequent progression-free survival in 2060 patients with CML on imatinib treatment: the EUTOS score / J. Hasford, M. Baccarani, V. Hoffmann [et al.] // *Blood*. – 2011. – Vol. 118. – № 3. – P. 686-692.

141. Prognosis of long-term survival considering disease-specific death in patients with chronic myeloid leukemia / M. Pffirmann, M. Baccarani, S. Saussele [et al.] // *Leukemia*. – 2016. – Vol. 30. – № 1. – P. 48-56.

142. Prognostic Discrimination in “Good-Risk” Chronic Granulocytic Leukemia / J. Sokal, E. Cox, M. Baccarani [et al.] // *Blood*. – 1984. – Vol. 63. – № 4. – P. 789-799.

143. Prognostic factors and survival outcomes in patients with chronic myeloid leukemia in blast phase in the tyrosine kinase inhibitor era: Cohort study of 477 patients / P. Jain, H. M. Kantarjian, A. Ghorab [et al.] // *Cancer*. – 2017. – Vol. 123. – № 22. – P. 4391-4402.

144. Prognostic significance of cytogenetic clonal evolution in patients with chronic myelogenous leukemia on imatinib mesylate therapy / J. E. Cortes, M. Talpaz, F. Giles [et al.] // *Blood*. – 2003. – Vol. 101. – № 10. – P. 3794-3800.

145. Prospective assessment of NGS-detectable mutations in CML patients with nonoptimal response: the NEXT-in-CML study / S. Soverini, L. Bavaro, C. de Benedittis [et al.] // *Blood*. – 2020. – Vol. 135. – № 8. – P. 534-541.
146. Puyan, F. Ö. The Progress of Next Generation Sequencing in the Assessment of Myeloid Malignancies / F. Ö. Puyan, S. Alkan. // *Balkan medical journal*. – 2019. – Vol. 36. – № 2. – P. 78-87.
147. Quantitative phosphoproteomics revealed interplay between Syk and Lyn in the resistance to nilotinib in chronic myeloid leukemia cells / R. Gioia, C. Leroy, C. Drullion [et al.] // *Blood*. – 2011. – Vol. 118. – № 8. – P. 2211-2221.
148. Quintá S-Cardama, A. Molecular biology of bcr-abl1-positive chronic myeloid leukemia / A. Quintá S-Cardama, J. Cortes. // *Blood*. – 2009. – Vol. 113. – № 8. – P. 1619-30.
149. Réa, D. Development of asciminib, a novel allosteric inhibitor of BCR-ABL1 / D. Réa, T. P. Hughes. // *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. – 2022. – Vol. 171. – P. 103580.
150. Rea, D. Treatment-free remission in patients with chronic myeloid leukemia / D. Rea, J.-M. Cayuela. // *Int J Hematol*. – 2018. – Vol. 108. – № 4. – P. 355-364.
151. Ren, R. Mechanisms of BCR-ABL in the pathogenesis of chronic myelogenous leukaemia / R. Ren. // *Nature Reviews Cancer*. – 2005. – Vol. 5. – № 3. – P. 172-183.
152. Response and resistance in 300 patients with BCR-ABL-positive leukemias treated with imatinib in a single center: a 4.5-year follow-up / T. Lahaye, B. Riehm, U. Berger [et al.] // *Cancer*. – 2005. – Vol. 103. – № 8. – P. 1659-1669.
153. Risk stratification of chromosomal abnormalities in chronic myelogenous leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitor therapy / W. Wang, J. E. Cortes, G. Tang [et al.] // *Blood*. – 2016. – Vol. 127. – № 22. – P. 2742-2750.
154. Rosée, P. La. Resistance to imatinib: mutations and beyond / P. La Rosée, M. W. Deininger. // *Seminars in hematology*. – 2010. – Vol. 47. – № 4. – P. 335-343.

155. Roskoski, R. Targeting BCR-Abl in the treatment of Philadelphia-chromosome positive chronic myelogenous leukemia / R. Roskoski // *Pharmacological Research*. – 2022. – Vol. 178. – P. 106156. DOI: 10.1016/j.phrs.2022.106156

156. RUNX1 DNA-binding mutations and RUNX1-PRDM16 cryptic fusions in BCR-ABL+ leukemias are frequently associated with secondary trisomy 21 and may contribute to clonal evolution and imatinib resistance / C. Roehle-Lestienne, L. Deluche, S. Corm [et al.] // *Blood*. – 2008. – Vol. 111. – № 7. – P. 3735-3741.

157. RUNX1 mutations in blast-phase chronic myeloid leukemia associate with distinct phenotypes, transcriptional profiles, and drug responses / S. Adnan Awad, O. Dufva, A. Ianevski [et al.] // *Leukemia*. – 2021. – Vol. 35. – № 4. – P. 1087-1099.

158. S883 combination therapy using asciminib plus imatinib (IMA) in patients (PTS) with chronic myeloid leukemia (CML): results from a phase 1 study / J. Cortes, F. Lang, D. Kim [et al.] // *HemaSphere*. – 2019. – URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1097/01.HS9.0000561812.22500.d8> (date accessed: 23.02.2024).

159. Safety and efficacy of imatinib cessation for CML patients with stable undetectable minimal residual disease: results from the TWISTER study / D. M. Ross, S. Branford, J. F. Seymour [et al.] // *Blood*. – 2013. – Vol. 122. – № 4. – P. 515-522.

160. Sawyers, C. L. Chronic Myeloid Leukemia / C. L. Sawyers. // *N Engl J Med*. – 1999. – Vol. 340. – № 17. – P. 1330-1340.

161. Sensitive Detection of Pre-Existing BCR-ABL Kinase Domain Mutations in CD34+ Cells of Newly Diagnosed Chronic-Phase Chronic Myeloid Leukemia Patients Is Associated with Imatinib Resistance: Implications in the Post-Imatinib Era / Z. Iqbal, A. Aleem, I. Naqvi [et al.] // *Plos one*. – 2013. – Vol. 8. – № 2. – P. e55717. DOI: 10.1371/journal.pone.0055717

162. Shanmuganathan, N. Early Management of CML / N. Shanmuganathan, T. P. Hughes. // *Current hematologic malignancy reports*. – 2019. – Vol. 14. – № 6. – P. 480-491.

163. Single-Molecule Sequencing Reveals Patterns of Preexisting Drug Resistance That Suggest Treatment Strategies in Philadelphia-Positive Leukemias / M.

W. Schmitt, J. R. Pritchard, S. M. Leighow [et al.] // *Clin Cancer Res.* – 2018. – Vol. 24. – № 21. – P. 5321-5334.

164. Somatic mosaicism in chronic myeloid leukemia in remission / K. Mitani, Y. Nagata, K. Sasaki [et al.] // *Blood.* – 2016. – Vol. 128. – № 24. – P. 2863-2866.

165. Somatic mutations identified at diagnosis by exome sequencing can predict response to imatinib in chronic phase chronic myeloid leukemia (CML) patients / L. Mologni, R. Piazza, P. Khandelwal [et al.] // *American Journal of Hematology.* – 2017. – Vol. 92. – № 10. – P. E623-E625.

166. Somatic Mutations in Myeloid Transcription Factors and in Activated Signaling Pathway, but Not in Epigenetic Modifier Pathway, Predict the Risk of Treatment Failure and Progression to Advanced Phase in Chronic Myeloid Leukemia / T. Kim, D. Žácková, I. Ježíšková [et al.] // *Blood.* – 2022. – Vol. 140. – № Supplement 1. – P. 812-814.

167. Somatic variants in epigenetic modifiers can predict failure of response to imatinib but not to second-generation tyrosine kinase inhibitors / G. Nteliopoulos, A. Bazeos, S. Claudiani [et al.] // *Haematologica.* – 2019. – Vol. 104. – № 12. – P. 2400-2409.

168. Spectrum of somatic mutation dynamics in chronic myeloid leukemia following tyrosine kinase inhibitor therapy / T. H. Kim, M. S. Tyndel, H. J. Kim [et al.] // *Blood.* – 2017. – Vol. 129. – № 1. – P. 38-47.

169. Steensma, D. P. Clinical consequences of clonal hematopoiesis of indeterminate potential / D. P. Steensma. // *Blood advances.* – 2018. – Vol. 2. – № 22. – P. 3404-3410.

170. Strong Association between Cancer Gene Variants at Diagnosis, Especially ASXL1, and Emergence of Kinase Domain Mutation-Driven Resistance in CML Patients Despite Frontline Treatment with More Potent BCR::ABL1 Inhibitors / N. Shanmuganathan, C. Wadham, D. T. Yeung [et al.] // *Blood.* – 2024. – Vol. 144. – № Supplement 1. – P. 991-991.

171. Subcutaneous omacetaxine mepesuccinate in patients with chronic-phase chronic myeloid leukemia previously treated with 2 or more tyrosine kinase inhibitors

including imatinib / J. E. Cortes, F. E. Nicolini, M. Wetzler [et al.] // *Clinical lymphoma, myeloma & leukemia*. – 2013. – Vol. 13. – № 5. – P. 584-591.

172. Subtype-specific patterns of molecular mutations in acute myeloid leukemia / D. Rose, T. Haferlach, S. Schnittger [et al.] // *Leukemia*. – 2017. – Vol. 31. – № 1. – P. 11-17.

173. The 5th edition of the World Health Organization classification of haematolymphoid tumours: myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms / J. D. Khoury, E. Solary, O. Abla [et al.] // *Leukemia*. – 2022. – Vol. 36. – № 7. – P. 1703-1719.

174. The allosteric inhibitor ABL001 enables dual targeting of BCR–ABL1 / A. A. Wylie, J. Schoepfer, W. Jahnke [et al.] // *Nature* 2017 543:7647. – 2017. – Vol. 543. – № 7647. – P. 733-737.

175. The COSMIC Cancer Gene Census: describing genetic dysfunction across all human cancers / Z. Sondka, S. Bamford, C. G. Cole [et al.] // *Nature reviews. Cancer*. – 2018. – Vol. 18. – № 11. – P. 696-705.

176. The e13a2 BCR-ABL transcript negatively affects sustained deep molecular response and the achievement of treatment-free remission in patients with chronic myeloid leukemia who receive tyrosine kinase inhibitors / M. D’Adda, M. Farina, F. Schieppati [et al.] // *Cancer*. – 2019. – Vol. 125. – № 10. – P. 1674-1682.

177. The EUTOS population-based registry: incidence and clinical characteristics of 2904 CML patients in 20 European Countries / V. S. Hoffmann, M. Baccarani, J. Hasford [et al.] // *Leukemia*. – 2015. – Vol. 29. – № 6. – P. 1336-1343.

178. The MLL recombinome of acute leukemias in 2017 / C. Meyer, T. Burmeister, D. Gröger [et al.] // *Leukemia* 2018 32:2. – 2017. – Vol. 32. – № 2. – P. 273-284.

179. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools / H. Li, B. Handsaker, A. Wysoker [et al.] // *Bioinformatics*. – 2009. – Vol. 25. – № 16. – P. 2078.

180. The spectrum of molecular alterations in the evolution of chronic myelocytic leukemia. / H. Ahuja, M. Bar-Eli, Z. Arlin [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 1991. – Vol. 87. – № 6. – P. 2042.

181. Treatment and Disease Characteristics of Chronic Myeloid Leukemia in Blast Crisis: The European Leukemianet Blast Crisis Registry / A. Brioli, E. Lomaia, C. Fabisch [et al.] // *Blood*. – 2022. – Vol. 140. – № Supplement 1. – P. 818-820.
182. Tyrosine kinase inhibitor resistance in chronic myeloid leukemia cell lines: investigating resistance pathways / C. Tang, L. Schafranek, D. B. Watkins [et al.] // *Leukemia & lymphoma*. – 2011. – Vol. 52. – № 11. – P. 2139-2147.
183. Unified classification and risk-stratification in Acute Myeloid Leukemia / Y. Tazi, J. E. Arango-Ossa, Y. Zhou [et al.] // *Nature Communications*. – 2022. – Vol. 13. – № 1. – P. 4622. DOI: 10.1038/S41467-022-32103-8
184. VarDict: a novel and versatile variant caller for next-generation sequencing in cancer research / Z. Lai, A. Markovets, M. Ahdesmaki [et al.] // *Nucleic acids research*. – 2016. – Vol. 44. – № 11. – P. e108. DOI: 10.1093/nar/gkw227
185. Walter, M. J. Antecedent CHIP in CML? / M. J. Walter. // *Blood*. – 2017. – Vol. 129. – № 1. – P. 3-4.
186. Wang, K. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data / K. Wang, M. Li, H. Hakonarson. // *Nucleic acids research*. – 2010. – Vol. 38. – № 16. – P. e164. DOI: 10.1093/NAR/GKQ603
187. Yohe, S. Review Articles Review of Clinical Next-Generation Sequencing / S. Yohe, B. Thyagarajan // *Arch Pathol Lab Med*. – 2017. – Vol. 141. – № 11. – P. 1544-1557.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

(справочное)

Критерии гематологического, цитогенетического и молекулярного ответов на терапию ингибиторами тирозинкиназ у больных хроническим миелолейкозом.

Вид ответа		Определение
Полный гематологический ответ (ПГО)		Лейкоциты менее $10 \times 10^9/\text{л}$ Базофилы менее 5 % В гемограмме нет миелоцитов, промиелоцитов, миелобластов Тромбоциты менее $450 \times 10^9/\text{л}$ Селезенка не пальпируется
Полный цитогенетический ответ (ПЦО)		Ph-хромосома не определяется при цитогенетическом исследовании
Молекулярный ответ МО2		Уровень экспрессии <i>BCR::ABL1</i> <1 % и >0,1%
Большой молекулярный ответ (БМО, МО3)		Уровень экспрессии <i>BCR::ABL1</i> ≤0,1 % и >0,01%
Глубокий молекулярный ответ (ГМО)	МО4	Уровень экспрессии <i>BCR::ABL1</i> ≤0,01 % и >0,0032%
	МО4,5	Уровень экспрессии <i>BCR::ABL1</i> ≤0,0032 % и >0,001%
	МО5	Уровень экспрессии <i>BCR::ABL1</i> ≤0,001% или неопределяемый уровень <i>BCR::ABL1</i> при количестве <i>ABL1</i> ≥100000 копий