DOI: https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-3-45-60

CC BY 4.0

Ретроспективный анализ собственного многолетнего опыта исследования мутационного статуса киназного домена гена *BCR::ABL* у пациентов с хроническим миелолейкозом

Д.В. Кустова[1], Е.В. Мотыко[1], А.Н. Кириенко[1], Т.Н. Герт[1], И.В. Леппянен[1], М.П. Бакай[1], Е.В. Ефремова[1], Е.В. Морозова[2], Е.Г. Ломаиа[3], В.А. Шуваев[4, 5], С.В. Сидоркевич[1], И.С. Мартынкевич[1]

[1]ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства»; Россия, 191024 Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16;
[2]ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России; Россия, 197022 Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8;
[3]ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России; Россия, 197341 Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2;
[4]Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 249031 Обнинск, ул. Королева, 4;
[5]ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; Россия, 125993 Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1

Контакты: Ирина Степановна Мартынкевич *mis2907@mail.ru*

Введение. Большинство пациентов с хроническим миелолейкозом (ХМЛ), получающих терапию ингибиторами тирозинкиназы, достигают стойкого оптимального ответа. У 15–30 % пациентов наблюдается потеря достигнутого молекулярного ответа. Мутации в киназном домене гена *BCR::ABL* – один из наиболее частых механизмов развития резистентности к ингибиторам тирозинкиназы.

Цель исследования – провести ретроспективный анализ мутационного профиля киназного домена гена *BCR::ABL* у пациентов с ХМЛ, наблюдавшихся в РосНИИГТ ФМБА России с 2012 по 2023 г., оценить влияние типа и количества мутаций на частоту достижения большого молекулярного ответа (БМО), а также изучить риск его потери в зависимости от линии терапии и мутационного статуса.

Материалы и методы. Обследован 1831 пациент с ХМЛ. Мутационный статус киназного домена *BCR::ABL* проанализирован путем прямого секвенирования по Сэнгеру. Стандартное цитогенетическое исследование проводилось с использованием технологии GTG-бэндинга и анализом не менее 20 метафазных пластин.

Результаты. Мутации киназного домена *BCR::ABL* выявлены у 27,6 % пациентов из общей выборки. Наиболее часто (6,3 % общей группы или 22,7 % среди пациентов с мутациями) выявлялась мутация T315I. Дополнительные хромосомные аберрации (ДХА) в Ph-позитивных клетках определялись у 20,5 % пациентов, в Ph-негативных клонах – у 3,9 % (p = 0,0001). Частота выявления ДХА статистически значимо (p = 0,25) не различалась у пациентов с мутациями *BCR::ABL* (23,5 %) и отрицательным мутационным статусом (17,7 %). Также наличие мутаций в киназном домене не коррелировало с ДХА в Ph-позитивных клонах (p = 0,73). Однако частота выявления мутации T315I в Ph-позитивных клетках имела значимые различия: 40,9 % в сочетании с ДХА и 21 % без них (p = 0,032). Пациенты с мутацией T315I хуже достигали БМО, чем пациенты с мутациями в других регионах *BCR::ABL* (p = 0,04) и пациенты без мутаций (p = 0,02). Вероятность достижения БМО значимо не различалась у пациентов с различным количеством мутаций *BCR::ABL* (p = 0,14). Потеря БМО происходила чаще у пациентов с мутациями (p = 0,04) и не зависела от линии терапии (p = 0,03).

Заключение. Для полноценного мониторинга и оптимального выбора терапии пациентам с ХМЛ необходим не только мониторинг уровня относительной экспрессии *BCR::ABL,* но и стандартное цитогенетическое исследование и анализ мутационного статуса.

Ключевые слова: хронический миелолейкоз, мутация, дополнительные хромосомные аберрации, терапия ингибиторами тирозинкиназы, резистентность к таргетной терапии, вариантная транслокация t(9;22)

Для цитирования: Кустова Д.В., Мотыко Е.В., Кириенко А.Н. и др. Ретроспективный анализ собственного многолетнего опыта исследования мутационного статуса киназного домена гена *BCR::ABL* у пациентов с хроническим миелолейкозом. Онкогематология 2024;19(3):45–60.
DOI: https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-3-45-60

Retrospective analysis of own long-term experience in studying the *BCR::ABL* kinase domain mutational status in patients with chronic myeloid leukemia

D.V. Kustova[1], E.V. Motyko[1], A.N. Kirienko[1], T.N. Gert[1], I.V. Leppyanen[1], M.P. Bakay[1], E.V. Efremova[1], E.V. Morozova[2], E.G. Lomaia[3], V.A. Shuvaev[4, 5], S.V. Sidorkevich[1], I.S. Martynkevich[1]

[1]Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Federal Medical and Biological Agency; 16 2nd Sovetskaya St., Saint Petersburg 191024, Russia;
[2]I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Ministry of Health of Russia; 6–8 L'va Tolstogo St., Saint Petersburg 197022, Russia;
[3]V.A. Almazov National Medical Research Centre, Ministry of Health of Russia; 2 Akkuratova St., Saint Petersburg 197341, Russia;
[4]A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia; 4 Koroleva St., Obninsk 249031, Russia;
[5]Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Ministry of Health of Russia; Build. 1, 2/1 Barrikadnaya St., Moscow 125993, Russia

Contacts: Irina Stepanovna Martynkevich *mis2907@mail.ru*

Background. Most patients with chronic myeloid leukemia (CML) treated with tyrosine kinase inhibitors achieve durable optimal responses. Loss of the achieved molecular response is observed in 15–30 % of patients. Mutations in the *BCR::ABL* kinase domain are one of the most common mechanisms for the development of resistance to tyrosine kinase inhibitors.

Aim. To conduct a retrospective analysis of the *BCR::ABL* kinase domain mutational profile in patients with CML observed at the Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology from 2012 to 2023. To assess the impact of mutations type and number on the rate of achieving a major molecular response (MMR). To study the risk of MMR loss depending on the therapy line and existing mutational status.

Materials and methods. 1831 patients with CML were examined at different times. The mutational status of the *BCR::ABL* kinase domain was analyzed by direct Sanger sequencing. A standard cytogenetic study was carried out using GTG banding technology with the analysis of at least 20 metaphase plates.

Results. Mutations in the *BCR::ABL* kinase domain were identified in 27.6 % of the total studied patients. The most common mutation, 6.3 % in the overall group or 22.7 % among patients with mutations, was the T315I mutation. Additional chromosomal aberrations (ACAs) were detected in Ph-positive cells in 20.5 % of patients, in Ph-negative clones in 3.9 % of cases ($p = 0.0001$). The frequency of ACAs detection did not statistically significantly differ ($p = 0.25$) between patients with *BCR::ABL* mutations (23.5 %) and with a negative mutation status (17.7 %), and the presence of mutations in the kinase domain did not correlate with ACAs in Ph-positive clones ($p = 0.73$). However, the frequency of T315I mutation detection in Ph-positive cells had significant differences: 40.9 % in combination with ACAs and 21 % without ACAs ($p = 0.032$). Patients with the T315I mutation had significantly worse MMR than patients with mutations in other *BCR::ABL* regions ($p = 0.04$) and patients without mutations ($p = 0.02$). The probability of MMR achieving did not differ significantly between patients with different numbers of *BCR::ABL* mutations ($p = 0.14$). Loss of MMR occurred more often in patients with mutations ($p = 0.04$) and not depend on the line of therapy ($p = 0.03$).

Conclusion. For complete monitoring and optimal choice of therapy, CML patients require not only monitoring of *BCR::ABL* relative expression level, but also standard cytogenetic and analysis of the mutational status.

Keywords: chronic myeloid leukemia, mutation, additional chromosomal aberrations, therapy with tyrosine kinase inhibitors, resistance to targeted therapy, variant translocation t(9;22)

For citation: Kustova D.V., Motyko E.V., Kirienko A.N. et al. Retrospective analysis of own long-term experience in studying the *BCR::ABL* kinase domain mutational status in patients with chronic myeloid leukemia. Onkogematologiya = Oncohematology 2024;19(3):45–60. (In Russ.).
DOI: https://doi.org/10.17650/1818-8346-2024-19-3-45-60

Введение

Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) – гемопоэтическое миелопролиферативное новообразование, характеризующееся клональной пролиферацией зрелых гранулоцитов (нейтрофилы, эозинофилы и базофилы) и их предшественников [1]. ХМЛ ассоциирован с реципрокной транслокацией t(9;22)(q34;q11), приводящей к слиянию части гена *BCR* с протоонкогеном *ABL* и образованию химерного гена *BCR::ABL*. Данный ген кодирует конститутивно активную киназу, нарушающую терминальную дифференцировку в клетках миелоидного ряда [1].

В зависимости от положения точки разрыва *BCR* синтезируются различные изоформы белка BCR::ABL. Транскрипты e13a2/e14a2 или b2a2/b3a2, возникающие в результате слияния экзона 13 или 14 *BCR* с экзоном 2 *ABL*, продуцируют белок P210 массой 210 кДа, который встречается у 90 % пациентов с ХМЛ [2]. Транскрипт e1a2/e1a3 кодирует белок P190 массой 190 кДа [2]. Данный белок редко встречается при ХМЛ, но в 70 % случаев ассоциирован с острым лимфобластным лейкозом. Транскрипты e19a2/e19a3 кодируют белок P230 массой 230 кДа и относятся к редким, также отмечены редкие случаи транскриптов e6a2 (P195), e8a2 (P200) и e18a2 (P225) [3].

Регион BCR белка BCR::ABL регулирует ферментативную активность [4, 5]. Домен спираль-спираль N-концевой части BCR отвечает за олигомеризацию и конститутивную активацию BCR::ABL1. Белок ABL содержит домены SH2, SH3 и киназный домен, а также миристоилированный N-конец, ответственный за аутоинактивацию киназной активности [6]. Однако в процессе слияния с BCR миристоилированный N-конец ABL теряется. Киназный домен BCR::ABL состоит из ключевых мотивов: фосфатсвязывающей петли (p-петля), сайта связывания АТФ, каталитического домена (c-петля) и петли активации (a-петля) [7]. Активация BCR::ABL происходит при связывании АТФ с активным сайтом киназного домена.

Согласно классификации ELN2020, в течении ХМЛ выделяют 3 фазы: хроническую, фазу акселерации и бластную [8]. У 85 % пациентов ХМЛ диагностируется в хронической фазе [9]. На этой стадии заболевание успешно лечится ингибиторами тирозинкиназы (ИТК) [10].

На сегодняшний день в России зарегистрировано 3 поколения ИТК, действующих на АТФ-связывающий сайт: иматиниб (1-е поколение), дазатиниб, нилотиниб и бозутиниб (2-е поколение), понатиниб (3-е поколение) и препарат нового класса – STAMP-ингибитор асциминиб, действующий на миристоил-связывающий карман BCR::ABL [1]. Выбор ИТК для конкретного пациента определяется фазой заболевания, группой риска, сопутствующей патологией, переносимостью и эффективностью предыдущих линий терапии [11]. Механизм действия ИТК 1-го и 2-го поколений основан на конкурирующем связывании с активным центром химерного белка, что ингибирует активность тирозинкиназы [12]. Понатиниб ингибирует кластерный регион точечного разрыва *BCR::ABL*. Данный препарат одобрен в качестве 3-й линии терапии, когда 2 и более ИТК неэффективны, а также для пациентов с мутацией T315I в киназном домене *BCR::ABL* [13]. В январе 2023 г. в России зарегистрирован аллостерический ингибитор асциминиб для пациентов, ранее получавших 2 или более ИТК, а также для лечения мутации T315I [1]. Асциминиб деактивирует белок BCR::ABL за счет взаимодействия с миристоиловым карманом [14].

Несмотря на то что применение ИТК привело к увеличению выживаемости пациентов с 20 до 80 % и более, значительная часть из них не достигает стабильного молекулярного ответа на терапию по причине резистентности к ИТК [15, 16]. Более чем у 50 % пациентов с хронической фазой, получавших иматиниб, со временем развивается резистентность к терапии [17]. При применении ингибиторов 2-го поколения в качестве 1-й линии терапии примерно у 30–40 % пациентов требуется изменение терапии через 5 лет [17]. При этом через 5 лет 30 % пациентов, получавших ИТК 1-го поколения, и 30–55 % пациентов, получавших ИТК 2-го поколения, достигали глубокого молекулярного ответа (MO4, 5; *BCR::ABL* ≤0,0032 %) [17].

С резистентностью к ИТК связано несколько механизмов, включая мутации и сверхэкспрессию *BCR::ABL*, активацию альтернативных сигнальных путей, репарацию ДНК и геномную нестабильность. Сверхэкспрессия *BCR::ABL* и мутации в киназном домене гена классифицируются как *BCR::ABL*-зависимая резистентность [18].

Возникновение точечных мутаций в киназном домене *BCR::ABL* – наиболее распространенный механизм *BCR::ABL*-зависимой резистентности и связано с более высоким риском прогрессирования заболевания [18]. У 50 % пациентов, принимавших иматиниб, развитие резистентности связано с наличием мутаций в киназном домене [17]. На данный момент описано более 100 различных мутаций, затрагивающих более 50 аминокислот [19]. Мутации приводят к снижению аффинности ИТК к сайту связывания или изменению конформации BCR::ABL [20]. Частота мутаций увеличивается по мере прогрессирования заболевания, они встречаются примерно в 75 % случаев в бластной фазе [21, 22]. Точечные мутации киназного домена гена *BCR::ABL* можно разделить на 4 категории: мутации в p-петле, сайте связывания ИТК, c-петле, a-петле [23, 24]. Наиболее часто (до 20 %) встречается мутация T315I в сайте связывания ИТК [18]. Она приводит к устойчивости к 1-му и 2-му поколению ИТК [19]. Наряду с T315I часто встречаются мутации в p-петле (M244, L248, G250, Q252, Y253, E255), которые вызывают дестабилизацию конформации BCR::ABL и ассоциированы с более высоким риском прогрессирования заболевания [25].

У пациента могут быть поликлональные точечные мутации гена *BCR::ABL*, однако более актуальная проблема в лечении ХМЛ – наличие 2 и более мутаций в одном и том же Ph-позитивном клоне [23]. Хотя отдельные мутации могут быть чувствительными к ИТК, взаимодействие между ними может привести к резистентности [23]. Один из примеров – сочетание мутаций T315I/E255V, в результате которого наблюдается повышенная устойчивость к понатинибу [13].

Не только точечные мутации в киназном домене гена *BCR::ABL* могут вызывать развитие резистентности к ИТК. Конститутивная активация киназы *BCR::ABL* вызывает геномную нестабильность, приводящую к возникновению дополнительных хромосомных аберраций (ДХА). Их наличие связано с развитием *BCR::ABL*-независимой резистентности. К ДХА высокого риска относят: трисомию хромосомы 8, дополнительную Ph-хромосому der(22)t(9;22)(q34;q11), изохромосому 17(i(17)(q10)), трисомию 19, изохромосому Ph-хромосомы ider(22)(q10)t(9;22)(q34; q11) [1]. К прогностически неблагоприятным относят также моносомию или частичную делецию хромосомы 7 (-7/del7q) и перестройки 3q26.2, комплексные аберрации, включающие 2 ДХА и более [1].

Мутации киназного домена *BCR::ABL* обусловливают специфическую устойчивость к ИТК, что преимущественно влияет на достижение пациентами молекулярного ответа. Сочетание мутаций с ДХА также является фактором неблагоприятного прогноза и негативно влияет на общую выживаемость [26].

Своевременное выявление мутаций киназного домена и наличия ДХА позволяет выбрать верную тактику терапии для достижения оптимального ответа в короткие сроки и обеспечить продолжительность жизни пациента, не ограниченную ХМЛ.

Цель исследования – провести ретроспективный анализ мутационного профиля пациентов с ХМЛ, наблюдавшихся в РосНИИГТ ФМБА России с 2012 по 2023 г., оценить влияние типа и количества мутаций на частоту достижения большого молекулярного ответа (БМО), а также изучить риск его потери в зависимости от линии терапии и мутационного статуса киназного домена гена *BCR::ABL*.

Материалы и методы

В ретроспективное исследование включен 1831 пациент с ранее установленным диагнозом ХМЛ, направленный в Научно-исследовательский центр клеточной и молекулярной патологии РосНИИГТ ФМБА России в период с сентября 2012 по декабрь 2023 г. для исследования мутационного статуса киназного домена гена *BCR::ABL*. Из них 29 получали 1-ю линию терапии, 4 – 2-ю, 10 – 3-ю, 5 – 4-ю и 3 – 5-ю.

Цитогенетическое исследование клеток костного мозга

Стандартное цитогенетическое исследование проводили с использованием технологии GTG-бэндинга минимум 20 метафазных пластин. Полученные данные интерпретировали в соответствии с международной системой цитогеномной номенклатуры [27].

Молекулярно-генетические исследования

Для качественного определения транслокации t(9;22)(q34;q11), количественного анализа относительной экспрессии гена *BCR::ABL* и мутационного статуса его киназного домена использовали тотальную РНК из периферической крови. Для качественного и количественного определения *BCR::ABL* тотальную РНК выделяли с использованием набора «АмплиСенс Лейкоз Квант» («Интерлабсервис», Россия). Качественное определение выполняли методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени по [28]. Для определения мутационного статуса киназного домена тотальную РНК выделяли с использованием набора Triz Reagent Column Kit (Inogene, Россия). Анализ проводили методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией с дальнейшим прямым секвенированием амплифицированного фрагмента по [29]. Секвенирование выполняли с прямого и обратного праймеров.

Сбор данных

Анализируемые данные для каждого пациента включали: возраст, пол, фазу заболевания, линию терапии, географическое положение, результаты цитогенетического исследования, качественного анализа методом полимеразной цепной реакции гена *BCR::ABL*, количественного определения его относительной экспрессии (если доступны), а также секвенирования по Сэнгеру киназного домена данного гена.

Статистический анализ

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения StatPlus и Microsoft Excel. Результаты выражали в виде медиан и частот. Для оценки статистической значимости качественных признаков использовали χ^2-критерий или критерий Фишера для малых выборок. Кумулятивную частоту достижения БМО или потери ответа оценивали с помощью метода Каплана–Майера. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0{,}05$.

Результаты

За период с сентября 2012 г. по декабрь 2023 г. проведено 2066 исследований мутационного статуса *BCR::ABL* у 1831 пациента. География исследования включала Российскую Федерацию, Республику Казахстан и Республику Узбекистан и охватывала 85 городов (табл. 1).

Таблица 1. *География пациентов, направленных на исследование мутационного статуса киназного домена гена BCR::ABL*

Table 1. *Geography of patients referred for BCR::ABL kinase domain mutational status analysis*

Город City	*n*
Российская Федерация Russian Federation	
Абакан Abakan	3
Армавир Armavir	4
Архангельск Arkhangelsk	6
Астрахань Astrakhan	5
Барнаул Barnaul	12
Белгород Belgorod	14
Благовещенск Blagoveshchensk	4
Брянск Bryansk	10
Великий Новгород Velikiy Novgorod	17

Продолжение табл. 1
Continuation of table 1

Город City	*n*
Владивосток Vladivostok	38
Владикавказ Vladikavkaz	9
Владимир Vladimir	14
Волгоград Volgograd	8
Волжский Volzhsky	6
Вологда Vologda	7
Воронеж Voronezh	11
Екатеринбург Yekaterinburg	3
Иваново Ivanovo	8
Ижевск Izhevsk	4
Иркутск Irkutsk	23
Йошкар-Ола Yoshkar-Ola	5
Казань Kazan	31
Калининград Kaliningrad	10
Калуга Kaluga	4
Киров Kirov	20
Кострома Kostroma	30
Краснодар Krasnodar	2
Красноярск Krasnoyarsk	49
Курск Kursk	3
Кызыл Kyzyl	3
Липецк Lipetsk	9
Магас Magas	6
Майкоп Maykop	2
Москва Moscow	270
Мурманск Murmansk	5

Город City	*n*
Надым Nadym	1
Назрань Nazran	8
Нижний Новгород Nizhniy Novgorod	36
Новокузнецк Novokuznetsk	5
Новосибирск Novosibirsk	39
Новый Уренгой Novy Urengoy	2
Омск Omsk	33
Орел Orel	11
Оренбург Orenburg	25
Пенза Penza	19
Пермь Perm	22
Петрозаводск Petrozavodsk	16
Петропавловск-Камчатский Petropavlovsk-Kamchatsky	1
Псков Pskov	17
Пятигорск Pyatigorsk	1
Реутов Reutov	2
Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	10
Рязань Ryazan	41
Салехард Salekhard	2
Самара Samara	20
Санкт-Петербург Saint Petersburg	507
Саранск Saransk	9
Саратов Saratov	31
Севастополь Sevastopol	1
Симферополь Simferopol	21
Смоленск Smolensk	15

Окончание табл. 1
End of table 1

Город City	*n*
Сочи Sochi	7
Ставрополь Stavropol	31
Сыктывкар Syktyvkar	2
Тамбов Tambov	6
Тверь Tver	28
Тольятти Tolyatti	2
Томск Tomsk	3
Тула Tula	3
Улан-Удэ Ulan-Ude	13
Ульяновск Ulyanovsk	5
Уфа Ufa	49
Хабаровск Khabarovsk	2
Ханты-Мансийск Khanty-Mansiysk	1
Чебоксары Cheboksary	5
Челябинск Chelyabinsk	17
Череповец Cherepovets	4
Черкесск Cherkessk	3
Чита Chita	7
Южно-Сахалинск Yuzhno-Sakhalinsk	4
Якутск Yakutsk	7
Ярославль Yaroslavl	5
Республика Казахстан The Republic of Kazakhstan	
Астана Astana	10
Усть-Каменогорск Ust-Kamenogorsk	65
Республика Узбекистан The Republic of Uzbekistan	
Ташкент Tashkent	2

В динамике на фоне терапии ИТК регулярно наблюдались 220 (12 %) из 1831 пациента. Мутации в киназном домене обнаружены у 506 (27,6 %) пациентов (табл. 2).

Таблица 2. *Характеристика когорты пациентов по полу и возрасту*
Table 2. *Characteristics of the patient cohort by gender and age*

Характеристика Characteristic	Мутации обнаружены (*n* = 506) Mutations detected (*n* = 506)	Мутации не обнаружены (*n* = 1325) Mutations not detected (*n* = 1325)
Пол, *n*: Gender, *n*:		
мужской male	256	613
женский female	250	712
Возраст (медиана), лет: Age (median), years:		
мужчины men	16–82 (53)	14–82 (50)
женщины women	18–87 (58)	8–87 (56)

У 506 пациентов выявлено 98 мутаций в 70 различных позициях гена, приводящих к замене аминокислоты (табл. 3). Наиболее часто в киназном домене гена *BCR::ABL* встречались мутации: T315I (20,7 %), G250E (10,9 %), F317C/I/L/V (8,3 %), Y253F/H (7,2 %), F359C/I/V/S (6,8 %), E255K/V (6,3 %), M244V (6,1 %), V299L/M (3,2 %), M351T (3,1 %), Q252E/H/R (2,9 %), D276G (2,3 %), H396P/R (2,2 %). У 55 (10,8 %) из 506 пациентов определялось сочетание 2 мутаций, а у 10 (1,98 %) – 3 мутаций. Наиболее часто с другими сочеталась мутация T315I – у 19 (29,2 %) из 65 пациентов с выявленными мутациями в киназном домене, в том числе среди данной группы у 13 (68,4 %) выявлялось сочетание T315I с 1 мутацией (табл. 4) и у 6 (31,6 %) – с 2 мутациями (табл. 5) ($p = 0,03$).

Таблица 3. *Частота встречаемости мутаций в киназном домене гена BCR::ABL (n = 555)*
Table 3. *Frequency of mutations in the BCR::ABL kinase domain (n = 555)*

Мутация Mutation	*n* (%)
M237T	1 (0,18)
E238G	1 (0,18)
T240M	1 (0,18)
T243A	1 (0,18)
M244V	**34 (6,12)**
K245T	2 (0,36)
K247R	4 (0,72)

Окончание табл. 3
End of table 3

Мутация Mutation	*n* (%)
L248V	6 (1,08)
G250E	**61 (10,97)**
Q252E/H/R	**16 (2,88)**
Y253F/H	**40 (7,19)**
E255K/V	**35 (6,29)**
V256M	2 (0,36)
K262R	1 (0,18)
L273M	1 (0,18)
E275G	1 (0,18)
D276G	**13 (2,34)**
T277A	1 (0,18)
E279K	5 (0,9)
E281K/G	4 (0,72)
F283S/Y	3 (0,54)
K285N	2 (0,36)
E286K	1 (0,18)
A287T	1 (0,18)
V289I	1 (0,18)
E292L	1 (0,18)
K294*/G	2 (0,36)
H295R	1 (0,18)
N297S/I	2 (0,36)
L298V/P	2 (0,36)
V299L/M	**18 (3,24)**
Q300R	1 (0,18)
L301F	1 (0,18)
G303E/R	4 (0,72)
T306A	1 (0,18)
E308G	1 (0,18)
F311I/V/L	9 (1,62)
I314V	1 (0,18)
T315I	**115 (20,72)**
F317C/I/L/V	**46 (8,27)**
M318V	1 (0,18)
T319A	1 (0,18)
L323I	1 (0,18)
L324Q	3 (0,54)
Y326C	1 (0,18)
E329D	1 (0,18)
C330S	1 (0,18)
R332Q	1 (0,18)
Q333L	1 (0,18)
A337D/V	2 (0,36)
M343I	1 (0,18)
A344T	1 (0,18)
Q346L	1 (0,18)
M351T	**17 (3,06)**
E355A/G/V	8 (1,44)
F359C/I/V/S	**38 (6,83)**
R362K/T	2 (0,36)
D363Y	1 (0,18)
L364I	1 (0,18)
C369G	1 (0,18)
V371I	2 (0,36)
E373G	1 (0,18)
K378E	1 (0,18)
L384M	1 (0,18)
R386G	1 (0,18)
L387F/M	5 (0,9)
M388L	1 (0,18)
T389S	1 (0,18)
T392A	2 (0,36)
H396P/R	**12 (2,16)**

Примечание. *Синим выделены мутации в p-петле; красным — в c-петле; зеленым — в сайте связывания; жирным — мутации с частотой встречаемости >2 %.*
Note. *Mutations in the p-loop are highlighted in blue; in the c-loop — in red; at the binding site — in green; mutations with occurrence frequency of >2 % — in bold.*

Таблица 4. *Число пациентов с сочетанием T315I и 1 мутации в киназном домене гена BCR::ABL (n = 13)*

Table 4. *Number of patients with the combination of T315I and one mutation in the BCR::ABL kinase domain (n = 13)*

Мутация Mutation	*n*
M244V	3
G250E	4
Y253F/H	2
E255K	1
D276G	1
F317L	1
F359C	1

Таблица 5. *Число пациентов с сочетанием T315I и 2 мутаций в киназном домене гена BCR::ABL (n = 6)*

Table 5. *Number of patients with the combination of T315I and two mutations in the BCR::ABL kinase domain (n = 6)*

Мутация Mutation	*n*
G250E, F359V	1
G250E, F317L	2
V299L, E255K	1
F317L, D276G	1
F317L, V299L	1

При обследовании 12 пациентов в фазе бластного криза мутации были обнаружены у 9 (75 %): T315I – у 2 (22,2 %), E255K – у 2 (22,2 %), V299L – у 2 (22,2 %), E255V – у 1 (11,1 %), H295R – у 1 (11,1 %). У 1 (11,1 %) пациента обнаружено сочетание мутаций F359V, F317L и Y253H.

С течением времени у 14 (2,8 %) пациентов из общей выборки наблюдалась клональная эволюция мутационного профиля киназного домена гена *BCR::ABL*: либо выявлены дополнительные мутации к ранее обнаруженным, либо происходила смена мутаций с ранее выявленных на вновь обнаруженные.

Цитогенетическое исследование

Цитогенетическое исследование выполнено у 254 пациентов, направленных для изучения мутационного статуса: у 119 пациентов положительный мутационный статус гена *BCR::ABL*, у 135 – отрицательный. При диагностике у 24 (9,4 %) пациентов обнаруживались вариантные транслокации t(9;22) с участием различных дополнительных партнеров к хромосомам 9 и 22 (рис. 1).

В группе с положительным мутационным статусом вариантные транслокации t(9;22) выявлены у 10 (8,4 %) из 119 пациентов, а в группе с отрицательным статусом – у 14 (10,4 %) из 135 ($p = 0,72$). Простые вариантные транслокации, включающие хромосому 22 и любую другую, кроме хромосомы 9, были обнаружены у 3 из 10 пациентов с положительным мутационным статусом и у 7 из 14 – с отрицательным ($p = 0,42$) (табл. 6). Сложные вариантные транслокации с участием не менее 3 хромосом, 2 из которых – 9 и 22 – выявлены у 7 из 10 пациентов с положительным мутационным статусом и у 7 из 14 – с отрицательным ($p = 0,42$).

Таблица 6. *Типы простых и сложных вариантных транслокаций у пациентов с положительным и отрицательным мутационным статусом (n = 24)*

Table 6. *Types of simple and complex variant translocations in patients with positive and negative mutation status (n = 24)*

Группа с положительным мутационным статусом (*n*) Group with positive mutation status (*n*)	Группа с отрицательным мутационным статусом (*n*) Group with negative mutation status (*n*)
Простые вариантные транслокации Simple variant translocations	
t(16;22)(q24;q11) (1)	t(17;22)(q25;q11) (1)
t(21;22)(q22;q21) (1)	t(19;22)(q13.4;q11) (1)
t(7;22)(p13;p12) (1)	t(11;22)(p15;q11) (2)
–	t(3;22)(p24;q11) (3)
Сложные вариантные транслокации Complex variant translocations	
t(7;9;22)(q32;q34;q11) (2)	t(7;9;22)(p14;q34;q11) (1)
t(9;11;14;22)(q34;q12;q32;q11) (1)	t(4;9;22)(q24;q34;q11) (2)
t(2;9;14;22)(q24;q34;q32;q11) (1)	t(9;14;16;22) (q34;q31;p11;q11) (1)
t(9;18;22)(q34;p11;q11) (1)	t(6;9;22)(q21;q34;q11) (2)
t(9;12;22)(q34;p11;p11) (2)	t(6;9;18;22) (q11.3;q34;q21;q11) (1)

Значимых различий по частоте встречаемости, выявлению сложных и простых вариантных транслокаций и их связи с мутационным статусом химерного гена *BCR::ABL* в исследуемой группе пациентов не обнаружено. ДХА выявлялись статистически значимо чаще в Ph-позитивных (52 (20,5 %) из 254), чем в Ph-негативных (10 (3,9 %) из 254) клонах ($p = 0,0001$) (рис. 2).

Сравнительный анализ встречаемости ДХА у пациентов в зависимости от мутационного статуса гена *BCR::ABL* не показал значимых различий: в группе с мутациями ДХА выявлялись у 28 (23,5 %) из 119 пациентов (рис. 3, *а*), а в группе без мутаций – у 24 (17,7 %) из 135 (рис. 3, *б*) ($p = 0,25$). Клональные хромосомные аномалии в Ph-позитивных клетках обнаружены у значительной части пациентов с мутациями в киназном

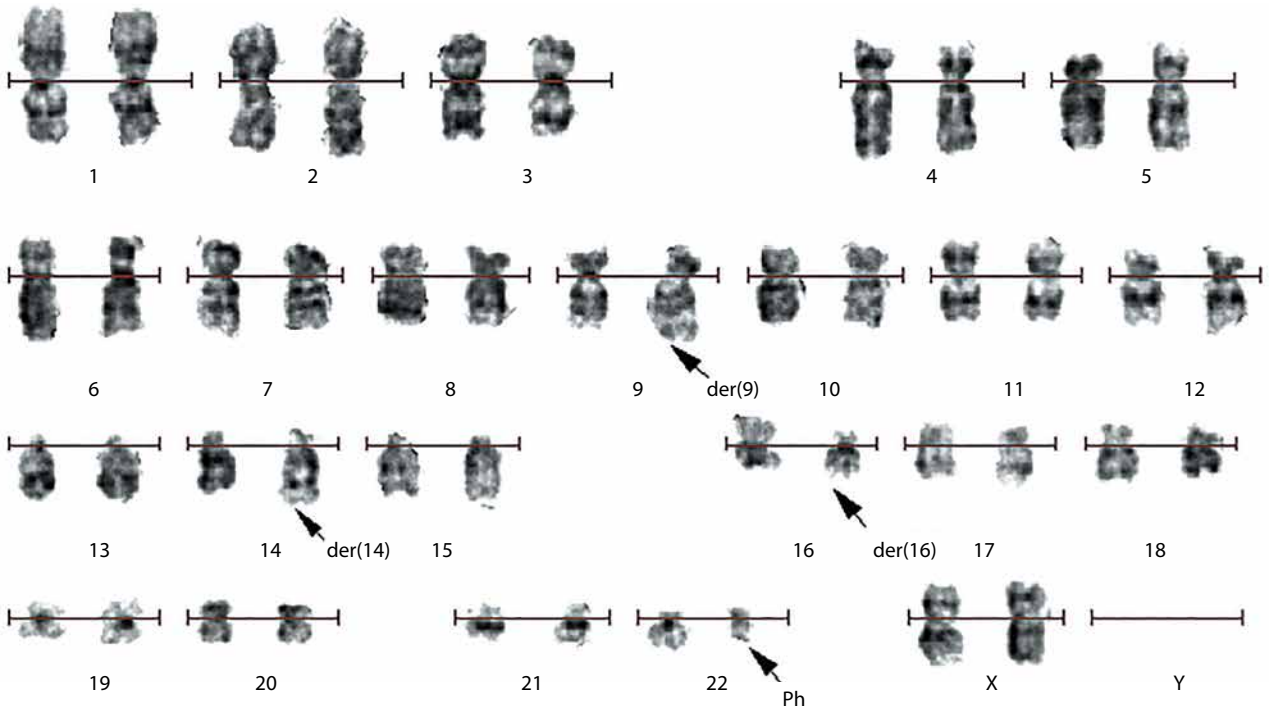

Рис. 1. *Кариограмма пациента с вариантной транслокацией t(9;22)(46,XX,t(9;14;16;22)(q34;q31;p11;q11))*
Fig. 1. *Karyogram of a patient with t(9;22) variant translocation (46,XX,t(9;14;16;22)(q34;q31;p11;q11))*

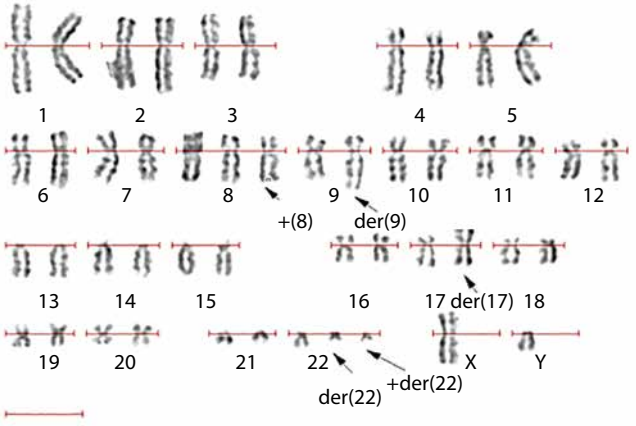

Рис. 2. *Кариограмма пациента с дополнительными хромосомными аберрациями в Ph-позитивных клонах (48,XY,+8,t(9;22)(q34;q11),i(17),+der(22)t(9;22))*
Fig. 2. *Karyogram of a patient with additional chromosomal aberrations in Ph-positive clones (48,XY,+8,t(9;22)(q34; q11),i(17),+der(22)t(9;22))*

домене гена *BCR::ABL* (у 22 (78,6 %) из 28) и без мутаций (у 20 (83,3 %) из 24). При этом статистически значимой разницы между этими группами не обнаружено ($p = 0,73$). Мутация T315I значимо чаще выявлялась у пациентов с ДХА и мутациями гена *BCR::ABL* (у 9 (40,9 %) из 22), чем у пациентов без них (у 17 (21 %) из 81) ($p = 0,032$). Кроме того, у 7 (31,8 %) из 22 пациентов с ДХА и мутациями гена *BCR::ABL* встречалось более 2 ДХА. При этом мутация T315I выявлена у 4 из 7 таких пациентов. У пациентов без мутаций *BCR::ABL* более 2 ДХА обнаружено только в 2 (10 %) из 20 случаев.

У пациентов с вариантными транслокациями t(9;22) в Ph-позитивных клонах также определялись ДХА: у 2 из 10 с положительным мутационным статусом (моносомия хромосомы 16 и делеция длинного плеча хромосомы 8, делеция хромосомы 13) и у 5 из 14 – с отрицательным (трисомия хромосомы 8, потеря Y, транслокация t(Y;5)) (рис. 4) ($p = 1,0$).

Хромосомные аберрации в Ph-негативных клетках у исследуемых пациентов выявлялись со схожей частотой: у 6 из 28 с мутациями *BCR::ABL* и у 4 из 24 без мутаций ($p = 0,73$). Отличием являлось только то, что у 6 пациентов с положительным мутационным статусом гена *BCR::ABL* значимо чаще встречались хромосомные аберрации, относящиеся к группе неблагоприятного прогноза: трисомия хромосомы 8 у 3 пациентов, моносомия хромосомы 7 у 2 и изохромосома 17 у 1.

Молекулярный ответ

Данные о достижении БМО получены у 197 исследуемых пациентов, из них 155 с мутациями в киназном домене *BCR::ABL* и 42 без мутаций. Самая низкая частота БМО отмечена у пациентов с мутацией T315I: только 8 (30,8 %) из 26 достигали БМО через 99 мес терапии ИТК. Пациенты с другими мутациями *BCR::ABL* достигли БМО в 43 (33,3 %) из 129 случаев через 85 мес, тогда как у 25 (59,5 %) из 42 пациентов без мутаций получен БМО уже через 63 мес после начала терапии ($p = 0,02$) (рис. 5). Также среди больных с мутациями T315I, в регионах p-петли и c-петли

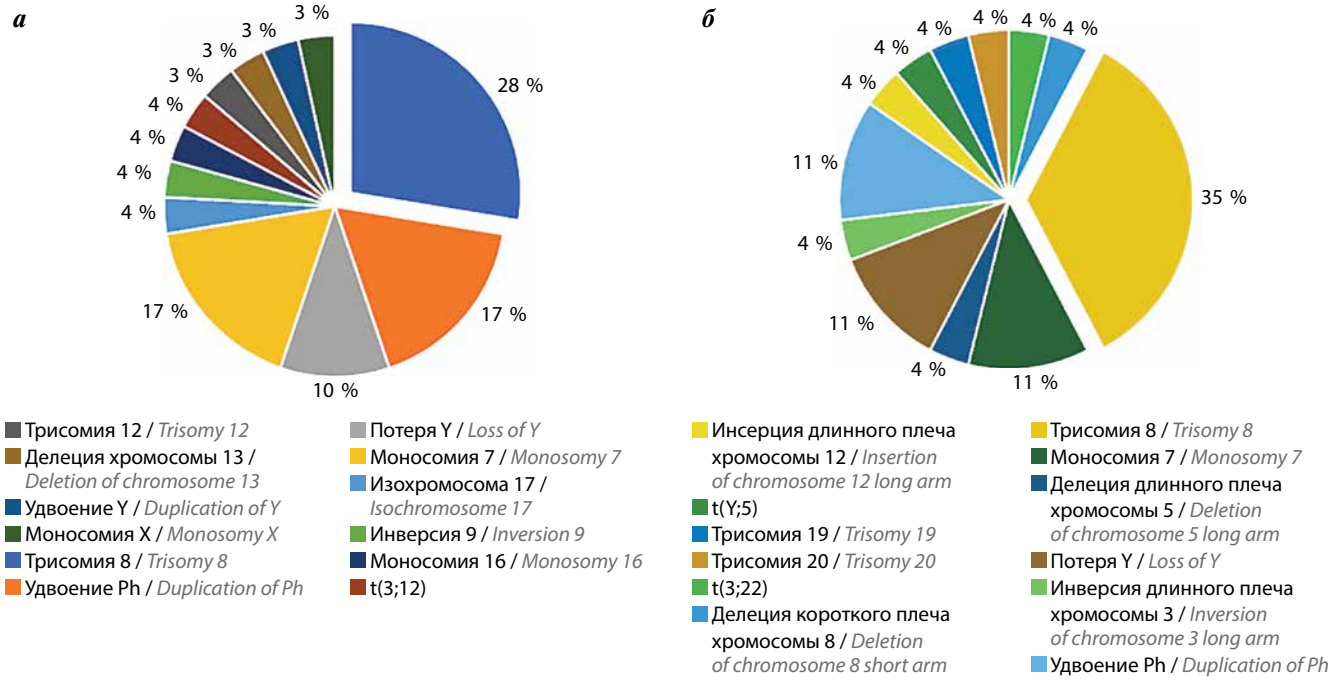

Рис. 3. *Частота встречаемости и виды дополнительных хромосомных аберраций у пациентов с мутациями в киназном домене гена BCR::ABL (а) и без мутаций (б)*

Fig. 3. *Frequency of occurrence and types of additional chromosomal aberrations in patients with mutations in the BCR::ABL kinase domain (a) and without mutations (б)*

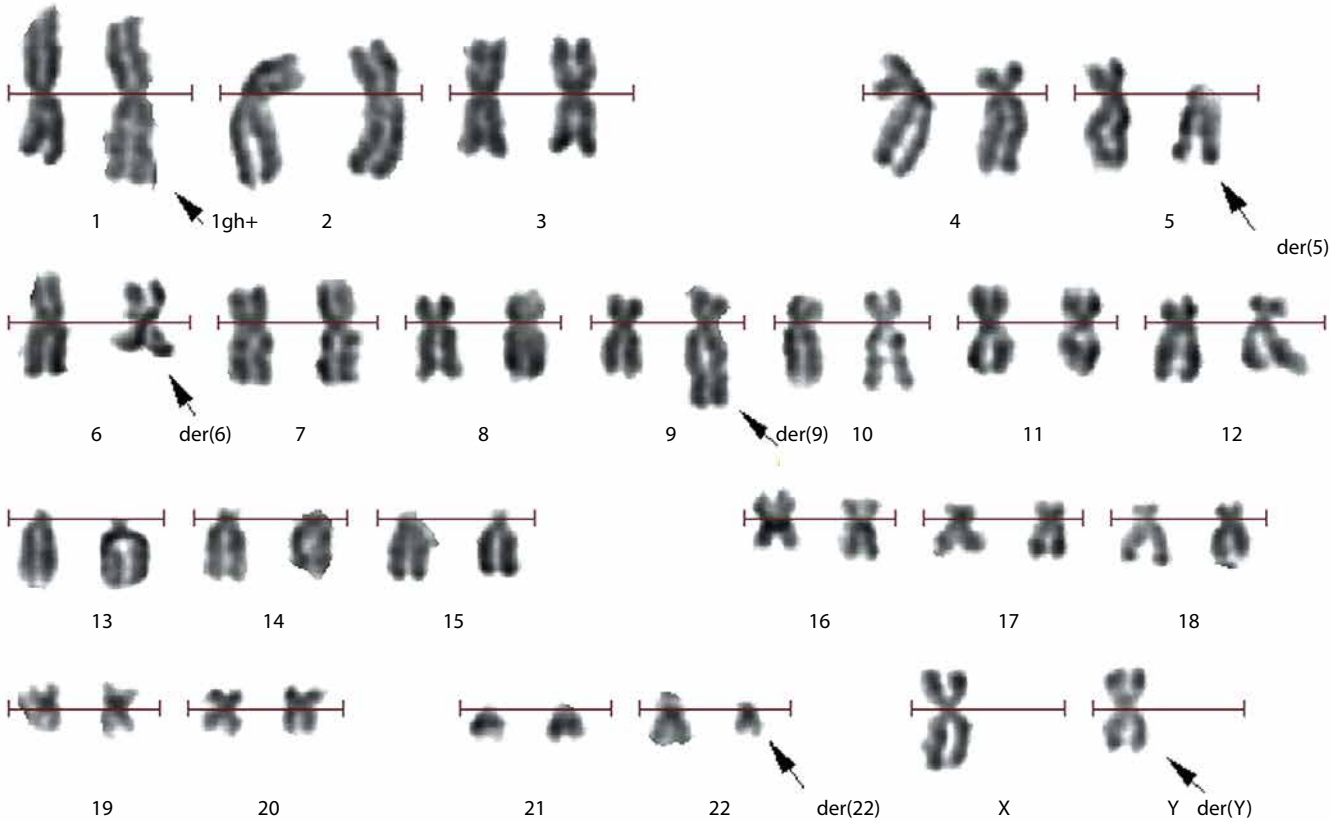

Рис. 4. *Кариограмма пациента с вариантной транслокацией t(9;22) и дополнительными хромосомными аберрациями (46,X,+(Y;5)(p11.2;p10)1gh+,+(6;9:22)(q21;934;q11))*

Fig. 4. *Karyogram of a patient with t(9;22) variant translocation and additional chromosomal aberrations (46,X,+(Y;5)(p11.2;p10)1gh+,+(6;9:22)(q21;934;q11))*

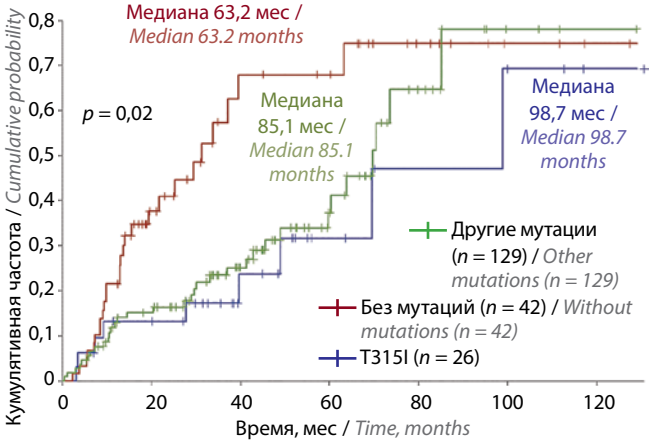

Рис. 5. *Кумулятивная вероятность достижения большого молекулярного ответа у пациентов с хроническим миелолейкозом в зависимости от наличия и типа мутаций в киназном домене BCR::ABL (p = 0,02)*
Fig. 5. *Cumulative probability of achieving major molecular response in patients with chronic myeloid leukemia depending on the presence and type of mutations in BCR::ABL kinase domain (p = 0.02)*

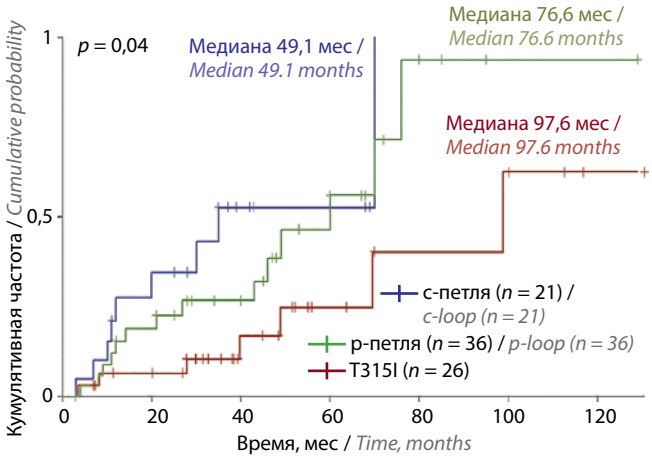

Рис. 6. *Кумулятивная вероятность достижения большого молекулярного ответа у пациентов с хроническим миелолейкозом в зависимости от типа мутаций в киназном домене BCR::ABL (p = 0,04)*
Fig. 6. *Cumulative probability of achieving major molecular response in patients with chronic myeloid leukemia depending on the type of mutations in BCR::ABL kinase domain (p = 0.04)*

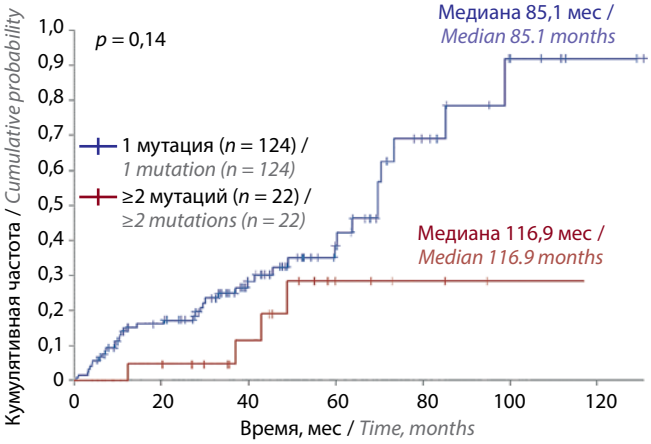

Рис. 7. *Кумулятивная вероятность достижения большого молекулярного ответа у пациентов с хроническим миелолейкозом в зависимости от количества мутаций в киназном домене BCR::ABL (p = 0,14)*
Fig. 7. *Cumulative probability of achieving major molecular response in patients with chronic myeloid leukemia depending on the number of mutations in BCR::ABL kinase domain (p = 0.14)*

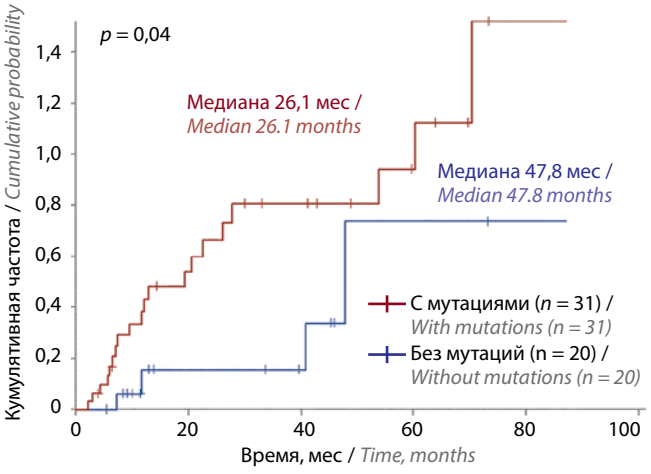

Рис. 8. *Кумулятивный риск потери большого молекулярного ответа у пациентов с хроническим миелолейкозом в зависимости от наличия мутаций в киназном домене BCR::ABL (p= 0,04)*
Fig. 8. *Cumulative risk of major molecular response loss in patients with chronic myeloid leukemia depending on the presence of BCR::ABL kinase domain mutations (p = 0.04)*

у пациентов с мутацией T315I время достижения БМО было значимо дольше ($p = 0,04$) (рис. 6).

Не наблюдалось значимых различий в достижении БМО в группах пациентов с сочетанием 2 и более мутаций и пациентов с 1 мутацией: у 5 из 22 пациентов с сочетанием 2 и более мутаций БМО достигнут спустя 116 мес после начала лечения ИТК, а среди пациентов с 1 мутацией у 39 из 124 БМО достигнут через 85 мес после начала терапии ($p = 0,14$) (рис. 7).

Наличие мутаций в киназном домене гена *BCR::ABL* значимо повышало вероятность потери молекулярного ответа ($p = 0,04$) (рис. 8). У 11 (78,5 %) из 14 пациентов с мутациями, получавших 1 линию терапии ИТК, потеря БМО наблюдалась через 12 мес после начала терапии. Только у 7 (46,7 %) из 15 пациентов, не имеющих мутаций в 1-й линии терапии, отмечалась потеря БМО через 45 мес. У пациентов, имеющих резистентность к 2 и более линиям терапии, наличие мутаций в киназном домене гена *BCR::ABL* также значимо ухудшало показатели стабильности достигнутого БМО: медиана времени до его потери при наличии мутаций составила 60,3 мес, а при их отсутствии – 70,4 мес ($p = 0,03$) (рис. 9).

Обсуждение

В настоящем исследовании мы проанализировали результаты определения мутационного статуса киназного домена гена *BCR::ABL* и его взаимосвязь с другими генетическими аберрациями и результатами лечения у 1831 пациента с ХМЛ. Частота мутаций киназного домена составила 27,6 %. Самый распространенный

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ 3'2024 ТОМ 19 | ONCOHEMATOLOGY 3'2024 VOL. 19

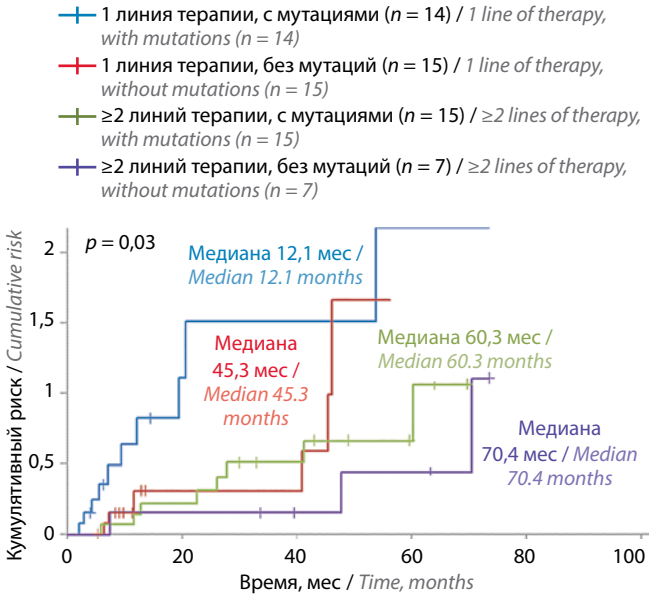

Рис. 9. *Кумулятивный риск потери большого молекулярного ответа у пациентов с хроническим миелолейкозом в зависимости от линии терапии и наличия мутаций в киназном домене BCR::ABL (p = 0,03)*
Fig. 9. *Cumulative risk of major molecular response loss in patients with chronic myeloid leukemia depending on therapy line and presence of BCR::ABL kinase domain mutations (p = 0.03)*

вариант мутации – T315I – в исследуемой когорте выявлялся у 20,7 % пациентов. В результате данной точечной мутации происходят замена треонина на изолейцин и стерическая интерференция структуры белка BCR::ABL с препятствованием образованию водородных связей с молекулой ИТК. Это приводит к неэффективности действия ИТК 1-го и 2-го поколений.

Помимо мутации T315I в сайте связывания у 8,27 % пациентов обнаруживалась мутация F317C/I/L/V. Также наиболее часто в исследуемой выборке мутации встречались в регионах p-петли и c-петли – 35,61 и 11,69 % среди пациентов с мутациями соответственно. Доля мутаций в остальных областях киназного домена гена *BCR::ABL* составляла 23,75 %. Полученные данные по частоте встречаемости выявленных мутаций согласуются с другими исследованиями [30–33].

В бластной фазе мутации обнаружены у 75 % пациентов. Чаще других у таких пациентов встречалась замена в кодоне 255 (E255K, E255V) – у 33,3 %. Наряду с T315I с одинаковой частотой встречалась мутация V299L. Согласно данным литературы, мутации T315I и E255K/V ассоциированы с высоким риском прогрессирования заболевания [31, 34]. Мутация V299L выявляется чаще при терапии дазатинибом и бозутинибом [35].

В последнее время в литературе появились сведения и о мутациях *BCR::ABL*, обеспечивающих резистентность к новому аллостерическому ингибитору – асциминибу [36]. Наш анализ мутационного статуса киназного домена позволяет выявить мутацию A337D/V (0,36 %), умеренно снижающую чувствительность к асциминибу. Однако применение новых препаратов (в том числе асциминиба) обусловливает необходимость расширять анализируемый участок киназного домена гена *BCR::ABL*.

В спектре выявленных мутаций мы впервые обнаружили миссенс-мутацию E238G, представленную ранее только в составе сложной мутации в статье J.S. Khorashad и соавт. [37]. Мутации называют сложными, если 2 и более из них выявляются в 1 клоне, а мутации в разных клонах – поликлональными. При мутации E238G происходит замена глутаминовой кислоты на глицин, что является радикальным изменением, поскольку происходит замена отрицательно заряженной аминокислоты на нейтрально заряженную. Расположение данной мутации вблизи АТФ-связывающего кармана может привести к конформационным изменениям и, как следствие, к увеличению киназной активности. Клиническое значение данной мутации требует дальнейшего изучения.

Особую группу представляют собой пациенты с несколькими мутациями в киназном домене. По данным литературы, сложные мутации встречаются в 70 % случаев [37]. Последовательная терапия различными ИТК может способствовать клональной эволюции [38]. Хотя предполагается, что каждый из нескольких мутировавших клонов сохраняет свою уникальную чувствительность к определенному ИТК, сложные мутации могут значимо повлиять на развитие резистентности [38]. В работе C.A. Eide и соавт. на клеточных линиях показано влияние сложных мутаций на развитие резистентности к 3-му поколению ИТК [36]. Так, сочетание мутаций G250E, Y253H, E255K, M351T, H396R, E453K с T315I приводит к потере чувствительности к асциминибу и снижению чувствительности к понатинибу. В нашем исследовании сочетание 2 и 3 мутаций выявлено у 12,78 % пациентов, причем значительно чаще встречается сочетание T315I с 1 мутацией, чем с 2. Также в исследуемой когорте сочетание F359V/F317L/Y253H выявлено в бластной фазе у 1 пациента. По отдельности данные мутации определяют низкую чувствительность к иматинибу (F359V, F317L, Y253H), дазатинибу (F317L) и нилотинибу (F359V, Y253H), а также ассоциированы с высоким риском прогрессии до бластной фазы [34]. В случае, если мутация является сложной, бластная фаза может наступать быстрее.

Мутации киназного домена гена *BCR::ABL* могут возникать в ходе эволюции ХМЛ под селективным давлением ИТК. В исследованной нами группе у 2,8 % пациентов с течением времени к уже имеющимся мутациям добавлялись новые либо происходила смена мутированной аминокислоты на другую.

По нашим данным, наличие мутаций в киназном домене существенно снижает время достижения БМО. Причем пациенты с мутацией T315I имеют наихудший прогноз по сравнению с пациентами с мутациями в p-петле и c-петле. Также отмечено, что количество мутаций, выявляемых в киназном домене гена *BCR::ABL*, значимо не влияет на достижение пациентами БМО,

но влияет на время его достижения, вероятность его потери и не зависит от линии терапии. Полученные данные согласуются с другими исследованиями [39].

У 5–8 % пациентов с ХМЛ при первичной цитогенетической диагностике выявляются простые и сложные вариантные транслокации t(9;22) с участием различных дополнительных партнеров к хромосомам 9 и 22 [40]. Вариантные транслокации могут возникать в результате клональной эволюции злокачественных клеток. Это явление, как правило, вызывает прогрессирование заболевания [41]. Причины возникновения вариантных транслокаций пока недостаточно изучены. Возможно, они имеют гетерогенную природу.

До сих пор нет общего мнения относительно клинической значимости вариантных транслокаций t(9;22). Результаты некоторых исследований показали, что пациенты с вариантной Ph-хромосомой имеют худший ответ на лечение по сравнению с пациентами с классической [41, 42], тогда как в других работах не сообщалось о различиях в результатах лечения [43].

В нашей работе 9 % пациентов имели простые и сложные вариантные транслокации t(9;22). Выявление вариантных транслокаций, по нашим данным, не коррелировало с мутационным статусом киназного домена гена *BCR::ABL*, а также не было обнаружено значимых различий по частоте встречаемости и выявлению простых и сложных вариантных транслокаций.

Продолжительная конститутивная активность *BCR::ABL* приводит к генетической нестабильности, последующему нарушению механизмов репарации и возникновению не только мутаций в киназном домене гена *BCR::ABL*, но и ДХА. Согласно данным литературы, частота встречаемости ДХА у пациентов в хронической фазе ХМЛ составляет 10–20 % [44]. В исследуемой когорте ДХА обнаруживались у 20 % пациентов и значимо чаще выявлялись в Ph-позитивных клонах, однако наличие ДХА не связано с мутационным статусом. Оно ассоциировано с прогрессированием заболевания, однако в литературе недостаточно данных о совместном влиянии мутаций киназного домена гена *BCR::ABL* и ДХА.

В нашей работе наличие мутации T315I коррелировало с наличием ДХА в Ph-позитивных клонах. Несмотря на то что у нас нет данных, демонстрирующих влияние сочетания мутаций с ДХА на общую или бесспрогрессивную выживаемость, в работе М.С. Фоминых и соавт. показано снижение 4-летней выживаемости и увеличение кумулятивной частоты летальных исходов, связанных с прогрессированием ХМЛ у пациентов с сочетанием мутаций в киназном домене гена *BCR::ABL* и ДХА [45].

Дополнительные хромосомные аберрации выявлялись не только в Ph-позитивных клонах, но и в Ph-негативных. Возникновение хромосомных аномалий в Ph-негативных клонах также связано с клональной эволюцией. В исследуемой когорте в Ph-негативных клонах ДХА выявлялись у 19 % пациентов. Наши данные по частоте встречаемости ДХА в Ph-негативных клонах согласуются с другими исследованиями [46]. Рекомендации European LeakemiaNet предполагают, что наличие хромосомных аномалий в Ph-негативных клонах не является неблагоприятным, за исключением аномалий хромосомы 7 [8]. На фоне терапии иматинибом выявление данных аномалий могло свидетельствовать о возникновении нового злокачественного клона, приводящего к миелодиспластическому синдрому или острому миелоидному лейкозу [47, 48]. В нашем исследовании у пациентов с положительным мутационным статусом гена *BCR::ABL* встречались хромосомные аберрации, относящиеся к группе неблагоприятного прогноза: трисомия хромосомы 8, моносомия хромосомы 7 и изохромосома 17. Сочетание ДХА в Ph-негативных клонах с положительным мутационным статусом может являться более неблагоприятным прогнозом, однако в нашем исследовании не получено данных о фазовом переходе у таких пациентов.

Наличие группы пациентов с устойчивостью к лечению без мутаций в киназном домене свидетельствует о *BCR::ABL*-независимой резистентности. Такие пациенты быстрее достигают БМО, время до потери ответа у них увеличено по сравнению с пациентами с мутациями, однако вероятность прогрессирования заболевания остается высокой. Так, у 25 % пациентов в бластной фазе мутации в киназном домене не обнаружены. Это говорит о необходимости проведения дальнейших исследований для поиска новых механизмов развития *BCR::ABL*-независимой резистентности. Исследования с использованием секвенирования следующего поколения помогут выявить новые маркеры развития такой резистентности [49].

Заключение

Проведенный ретроспективный анализ на выборке из 1831 больного показывает, что мутация T315I встречается чаще других и чаще других сочетается с еще 1 дополнительной мутацией, а также значимо сокращает время наступления БМО. Количество выявляемых мутаций не влияет на время достижения БМО. У пациентов с положительным мутационным статусом *BCR::ABL* выше вероятность потери БМО независимо от линии терапии. Различия в частоте встречаемости простых и сложных вариантных транслокаций t(9;22) не выявлены. ДХА у пациентов с ХМЛ встречаются чаще в Ph-позитивных клонах и ассоциированы с наличием мутации T315I. Несмотря на успехи в лечении пациентов с ХМЛ с использованием современной терапии ИТК, до сих пор остается достаточно большая когорта пациентов с устойчивостью к лечению. Для полноценного мониторинга и оптимального выбора терапии пациентам с ХМЛ необходима не только оценка уровня относительной экспрессии *BCR::ABL,* но и стандартное цитогенетическое исследование и анализ мутационного статуса.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Шуваев В.А., Мартынкевич И.С., Сидоркевич С.В. Миелопролиферативные новообразования. М., 2023. 336 с.
Shuvaev V.A., Martynkevich I.S., Sidorkevich S.V. Myeloproliferative neoplasms. Moscow, 2023. 336 p. (In Russ.).
2. Flis S., Chojnacki T. Chronic myelogenous leukemia, a still unsolved problem: pitfalls and new therapeutic possibilities. Drug Des Devel Ther 2019;13:825–43. DOI: 10.2147/DDDT.S191303
3. Weerkamp F., Dekking E., Ng Y.Y. et al. Flow cytometric immunobead assay for the detection of BCR-ABL fusion proteins in leukemia patients. Leukemia 2009;23(6):1106–17. DOI: 10.1038/leu.2009.93
4. McWhirter J.R., Wang J.Y. An actin-binding function contributes to transformation by the Bcr-Abl oncoprotein of Philadelphia chromosome-positive human leukemias. EMBO J 1993;12(4): 1533–46. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1993.tb05797.x
5. Peiris M.N., Li F., Donoghue D.J. BCR: a promiscuous fusion partner in hematopoietic disorders. Oncotarget 2019;10(28): 2738–54. DOI: 10.18632/oncotarget.26837
6. Quintás-Cardama A., Cortes J. Molecular biology of *bcr-abl1*-positive chronic myeloid leukemia. Blood 2009;113(8):1619–30. DOI: 10.1182/blood-2008-03-144790
7. Vinhas R., Lourenço A., Santos S. et al. A novel *BCR-ABL1* mutation in a patient with Philadelphia chromosome-positive B-cell acute lymphoblastic leukemia. Onco Targets Ther 2018;11:8589–98. DOI: 10.2147/OTT.S177019
8. Hochhaus A., Baccarani M., Silver R.T. et al. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. Leukemia 2020;34(4):966–84. DOI: 10.1038/s41375-020-0776-2
9. Frazer R., Irvine A.E., McMullin M.F. Chronic myeloid leukaemia in the 21st century. Ulster Med J 2007;76(1):8–17.
10. Ломаиа Е.Г., Коноплева М.Ю., Романова Е.Г., Зарицкий А.Ю. Хронический миелолейкоз – до и после иматиниба (часть III). Онкогематология 2010;(1):5–20.
Lomaia E.G., Konopleva M.Yu., Romanova E.G., Zaritzkiy A.Yu. Chronic myeloid leukemia – before and after imatinib (Third part). Onkogematologiya = Oncohematology 2010;(1):5–20. (In Russ.)
11. Журавлев А.В., Кныш О.И. Основные принципы лекарственной терапии пациентов с хроническим миелоидным лейкозом. Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология 2023;16(2):332–44. DOI: 10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2023.166
Zhuravlev A.V., Knysh O.I. Key principles of drug therapy in patients with chronic myeloid leukemia. Farmakoekonomika. Sovremennaya farmakoekonomika i farmakoepidemiologia = Farmakoekonomika. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology 2023;16(2):332–44. (In Russ.). DOI: 10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2023.166
12. Rosti G., Castagnetti F., Gugliotta G., Baccarini M. Tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukaemia: which, when, for whom? Nat Rev Clin Oncol 2017;14(3):141–54. DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.139.
13. Zabriskie M.S., Eide C.A., Tantravahi S.K. et al. *BCR-ABL1* compound mutations combining key kinase domain positions confer clinical resistance to ponatinib in Ph chromosome-positive leukemia. Cancer Cell 2014;26(3):428–42. DOI: 10.1016/j.ccr.2014.07.006
14. Wylie A., Schoepfer J., Jahnke W. et al. The allosteric inhibitor ABL001 enables dual targeting of *BCR-ABL1*. Nature 2017;543(7647):733–7. DOI: 10.1038/nature21702
15. Alves R., Gonçalves A.C., Rutella S. et al. Resistance to tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia – from molecular mechanisms to clinical relevance. Cancers 2021;13(19):4820. DOI: 10.3390/cancers13194820
16. Jabbour E., Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2020 update on diagnosis, therapy and monitoring. Am J Hematol 2020;95(6):691–709. DOI: 10.1002/ajh.25792
17. Cortes J., Lang F. Third-line therapy for chronic myeloid leukemia: current status and future directions. J Hematol Oncol 2021;14(1):44. DOI: 10.1186/s13045-021-01055-9
18. Poudel G., Tolland M.G., Hughes T.P., Pagani T.S. Mechanisms of resistance and implications for treatment strategies in chronic myeloid leukaemia. Cancers (Basel) 2022;14(14):3300. DOI: 10.3390/cancers14143300
19. Balabanov S., Braig M., Brümmendorf T.H. Current aspects in resistance against tyrosine kinase inhibitors in chronic myelogenous leukemia. Drug Discov Today Technol 2014;11:89–99. DOI: 10.1016/j.ddtec.2014.03.003
20. Patel A.B., O'Hare T., Deininger M.W. Mechanisms of resistance to *ABL* kinase inhibition in chronic myeloid leukemia and the development of next generation *ABL* kinase inhibitors. Hematol Oncol Clin North Am 2017;31(4):589–612. DOI: 10.1016/j.hoc.2017.04.007
21. Soverini S., Hochhaus A., Nicolini F.E. et al. *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. Blood 2011;118(5):1208–15. DOI: 10.1182/blood-2010-12-326405
22. Soverini S., Colarossi S., Gnani A. et al. 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. Clin Cancer Res 2006;12(24):7374–9. DOI: 10.1158/1078-0432
23. Meenakshi Sundaram D.N., Jiang X., Brandwein J.M. et al. Current outlook on drug resistance in chronic myeloid leukemia (CML) and potential therapeutic options. Drug Discov Today 2019;24(7):1355–69. DOI: 10.1016/j.drudis.2019.05.007
24. Braun T.P., Eide C.A., Druker B.J. Response and resistance to *BCR-ABL1*-targeted therapies. Cancer Cell 2020;37(4):530–42. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.03.006
25. Cang S., Liu D. P-loop mutations and novel therapeutic approaches for imatinib failures in chronic myeloid leukemia. J Hematol Oncol 2008;1:15. DOI: 10.1186/1756-8722-1-15
26. Shahrin N.H., Wadham C., Branford S. Defining higher-risk chronic myeloid leukemia: risk scores, genomic landscape, and prognostication. Curr Hematol Malig Rep 2022;17(6):171–80. DOI: 10.1007/s11899-022-00668-2
27. Liehr T. International system for human cytogenetic or cytogenomic nomenclature (ISCN): some thoughts. Cytogenet Genome Res 2021;161(5):223–4. DOI: 10.1159/000516654
28. Van Dongen J.J., Macintyre E., Gabert J. et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. Report of the BIOMED-1 Concerted Action: investigation of minimal residual disease in acute leukemia. Leukemia 1999;13(12):1901–28. DOI: 10.1038/sj.leu.2401592
29. Alikian M., Gerrard G., Subramanian P.G. et al. *BCR-ABL1* kinase domain mutations: methodology and clinical evaluation. Am J Hematol 2012;87(3):298–304. DOI: 10.1002/ajh.22272
30. Branford S., Rudzki Z., Walsh S. et al. Detection of *BCR-ABL* mutations in patients with CML treated with imatinib is virtually always accompanied by clinical resistance, and mutations in the ATP phosphate-binding loop (P-loop) are associated with a poor prognosis. Blood 2003;102(1):276–83. DOI: 10.1182/blood-2002-09-2896
31. Soverini S., Martinelli G., Rosti G. et al. *ABL* mutations in late chronic phase chronic myeloid leukemia patients with up-front cytogenetic resistance to imatinib are associated with a greater likelihood of progression to blast crisis and shorter survival: a study by the GIMEMA Working Party on Chronic Myeloid Leukemia. J Clin Oncol 2005;23(18):4100–9. DOI: 10.1200/JCO.2005.05.531
32. Jabbour E., Kantarjian H., Jones D. et al. Frequency and clinical significance of *BCR-ABL* mutations in patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib mesylate. Leukemia 2006;20(10):1767–73. DOI: 10.1038/sj.leu.2404318

33. Nicolini F.E., Corm S., Lê Q.H. et al. Mutation status and clinical outcome of 89 imatinib mesylate-resistant chronic myelogenous leukemia patients: a retrospective analysis from the French intergroup of CML (Fi(phi)-LMC GROUP). Leukemia 2006;20(6):1061–6. DOI: 10.1038/sj.leu.2404236
34. Yohanan B., George B. Current management of chronic myeloid leukemia myeloid blast phase. Clin Med Insights Oncol 2022;16:11795549221139357. DOI: 10.1177/11795549221139357
35. Jabbour E., Morris V., Kantarjian H. et al. Characteristics and outcomes of patients with *V299L BCR-ABL* kinase domain mutation after therapy with tyrosine kinase inhibitors. Blood 2012;120(16):3382–3. DOI: 10.1182/blood-2012-04-424192
36. Eide C.A., Zabriskie M.S., Savage Stevens S.L. et al. Combining the allosteric inhibitor asciminib with ponatinib suppresses emergence of and restores efficacy against highly resistant *BCR-ABL1* mutants. Cancer Cell 2019;36(4):431–43. DOI: 10.1016/j.ccell.2019.08.004
37. Khorashad J.S., Kelley T.W., Szankasi P. et al. *BCR-ABL1* compound mutations in tyrosine kinase inhibitor-resistant CML: frequency and clonal relationships. Blood 2013;121(3):489–98. DOI: 10.1182/blood-2012-05-431379
38. Shah N.P., Skaggs B.J., Branford S. et al. Sequential *ABL* kinase inhibitor therapy selects for compound drug-resistant *BCR-ABL* mutations with altered oncogenic potency. J Clin Invest 2007;117(9):2562–9. DOI: 10.1172/JCI30890
39. Yi J.H., Lee G.W., Lee J.H. et al. Multicenter retrospective analysis of patients with chronic lymphocytic leukemia in Korea. Blood Res 2021;56(4):243–51. DOI: 10.5045/br.2021.2021102
40. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Eds.: S.H. Swerdlow, E. Campo, N.L. Harris et al. 4th edn. Vol. 2. Lyon: IARC Press, 2017.
41. Gorusu M., Benn P., Li Z., Fang M. On the genesis and prognosis of variant translocations in chronic myeloid leukemia. Cancer Genet Cytogenet 2007;173(2):97–106. DOI: 10.1016/j.cancergencyto.2006.10.006
42. Stagno F., Vigneri P., Del Fabro V. et al. Influence of complex variant chromosomal translocations in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors. Acta Oncol 2010;49(4):506–8. DOI: 10.3109/02841861003660031
43. Marzocchi G., Castagnetti F., Luatti S. et al. Variant Philadelphia translocations: molecular-cytogenetic characterization and prognostic influence on frontline imatinib therapy, a GIMEMA Working Party on CML analysis. Blood 2011;117(25):6793–800. DOI: 10.1182/blood-2011-01-328294
44. Aydin C., Cetin Z., Salim O. et al. Previously unreported chromosomal aberrations of t(3;3)(q29;q23), t(4;11)(q21;q23), and t(11;18)(q10;q10) in a patient with accelerated phase Ph+ CML. Case Rep Genet 2014;2014:582016. DOI: 10.1155/2014/582016
45. Фоминых М.С., Шухов О.А., Шуваев В.А. и др. Клиническое значение сочетанного обнаружения дополнительных хромосомных аберраций в Ph-положительных клетках и мутаций гена *BCR-ABL* у пациентов с хроническим миелолейкозом при терапии ингибиторами тирозинкиназ. Вестник гематологии 2017;8(2):81–2.
Fominykh M.S., Shukhov O.A., Shuvaev V.A. et al. Clinical significance of combined detection of additional chromosomal aberrations in Ph-positive cells and mutations of the *BCR-ABL* gene in patients with chronic myeloluciasis during therapy with tyrosine kinase inhibitors. Vestnik gematologii = Bulletin of Hematology 2017;8(2):81–2. (In Russ.).
46. Issa G.C., Kantarjian H.M., Gonzalez G.N. et al. Clonal chromosomal abnormalities appearing in Philadelphia chromosome-negative metaphases during CML treatment. Blood 2017;130(19):2084–91. DOI: 10.1182/blood-2017-07-792143
47. Kovitz C., Kantarjian H., Garcia-Manero G. et al. Myelodysplastic syndromes and acute leukemia developing after imatinib mesylate therapy for chronic myeloid leukemia. Blood 2006;108(8):2811–3. DOI: 10.1182/blood-2006-04-017400
48. Jabbour E., Kantarjian H.M., Abruzzo L.V. et al. Chromosomal abnormalities in Philadelphia chromosome negative metaphases appearing during imatinib mesylate therapy in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase. Blood 2007;110(8):2991–5. DOI: 10.1182/blood-2007-01-070045
49. Hu S., Chen D., Xu X. et al. Targeted next-generation sequencing identifies additional mutations other than *BCR-ABL* in chronic myeloid leukemia patients: a Chinese monocentric retrospective study. Cancers (Basel) 2022;14(23):5752. DOI: 10.3390/cancers14235752

Вклад авторов
Д.В. Кустова: обзор публикаций по теме статьи, разработка дизайна исследования, анализ данных, написание текста статьи;
Е.В. Мотыко, А.Н. Кириенко, И.С. Мартынкевич: разработка дизайна исследования, написание текста статьи;
Т.Н. Герт, И.В. Леппянен: получение данных для анализа;
М.П. Бакай, Е.В. Ефремова, Е.В. Морозова, Е.Г. Ломаиа: предоставление материалов исследования;
В.А. Шуваев, С.В. Сидоркевич: разработка дизайна исследования, редактирование статьи.
Authors' contributions
D.V. Kustova: review of publications on the article topic, research design development, data analysis, article writing;
E.V. Motyko, A.N. Kirienko, I.S. Martynkevich: research design development, article writing;
T.N. Gert, I.V. Leppyanen: obtaining data for analysis;
M.P. Bakay, E.V. Efremova, E.V. Morozova, E.G. Lomaia: provision of research materials;
V.A. Shuvaev, S.V. Sidorkevich: research design development, article editing.

ORCID авторов / ORCID of authors
Д.В. Кустова / D.V. Kustova: https://orcid.org/0000-0003-4546-5808
Е.В. Мотыко / E.V. Motyko: https://orcid.org/0000-0002-6052-6472
А.Н. Кириенко / A.N. Kirienko: https://orcid.org/0000-0002-2519-306X
Т.Н. Герт / T.N. Gert: https://orcid.org/0000-0002-2793-452X
И.В. Леппянен / I.V. Leppyanen: https://orcid.org/0000-0002-2158-0855
М.П. Бакай / M.P. Bakay: https://orcid.org/0000-0001-7780-1736
Е.В. Морозова / E.V. Morozova: https://orcid.org/0000-0003-0752-0757
Е.Г. Ломаиа / E.G. Lomaia: https://orcid.org/0000-0003-3290-7961
В.А. Шуваев / V.A. Shuvaev: https://orcid.org/0000-0003-3536-0770
С.В. Сидоркевич / S.V. Sidorkevich: https://orcid.org/0000-0001-9931-9406
И.С. Мартынкевич / I.S. Martynkevich: https://orcid.org/0000-0001-5958-0490

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено в рамках научно-исследовательской работы «МПН-20».
Funding. The study was carried out as part of the research work "MPN-20".

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики
Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства».
Compliance with patient rights and principles of bioethics
The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Federal Medical and Biological Agency.

Статья поступила: 07.06.2024. **Принята к публикации:** 12.07.2024. **Опубликована онлайн:** 04.09.2024.
Article submitted: 07.06.2024. **Accepted for publication:** 12.07.2024. **Published online:** 04.09.2024.