

Предварительная версия статьи, поступившей в редакцию журнала.
Дата поступления: 15.08.2024

НА ЗАМЕТКУ

Данная статья поступила в редакцию журнала и будет опубликована после прохождения рецензирования, корректуры, редактуры и вёрстки. После этого будет назначен том и номер выпуска журнала, в котором статья будет опубликована в окончательной редакции. После публикации в окончательной редакции статья будет удалена из данного раздела.

Следует обратить внимание на то, что статьи в данном разделе не содержат всех библиографических данных. Они будут присвоены только после включения статьи в тот или иной номер журнала.

Кроме того, в процессе подготовки статьи к публикации, после снятия вопросов с авторами могут произойти изменения в её содержании, текст статьи может измениться перед окончательной публикацией.

Соматические мутации генов у больных хроническим миелолейкозом.

Е.А. Кузьмина, Е.Ю. Чельшева, А.Г. Туркина

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Новый Зыковский пр-д, д. 4, Москва, Российская Федерация, 125167

Для переписки: Елена Андреевна Кузьмина, врач-гематолог отделения гематологии миелопролиферативных заболеваний, Новый Зыковский пр-д, д. 4, Москва, Российская Федерация, 125167; тел: +7(918)167-35-69, 1110ekuzmina@gmail.com

Тезис

Применение ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) для лечения больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) значительно улучшило прогноз для большинства пациентов в хронической фазе (ХФ), однако проблема резистентности к терапии ИТК по-прежнему остается актуальной. В настоящее время активно изучается молекулярно-генетический профиль опухолевых клеток у больных ХМЛ и роль соматических мутаций различных генов, помимо *BCR::ABL1*, в развитии резистентности к терапии. Появляются новые данные о частоте встречаемости соматических мутаций генов на момент диагностики ХМЛ в ХФ и продвинутых фазах, о клональных изменениях во время лечения, в том числе при прогрессировании заболевания. Особый интерес представляет изучение роли соматических мутаций генов в трансформации заболевания, временная связь между появлением соматических мутаций и прогрессированием ХМЛ. Целью настоящего обзора является представление данных актуальных исследований молекулярно-генетического профиля у больных ХМЛ на разных этапах заболевания. В своих работах авторы стремятся выявить ассоциации между наличием соматических мутаций генов и ответом на терапию, оценить прогностическое значение мутаций, обнаруженных при диагностике и на фоне терапии. В дальнейшей перспективе полученные знания можно было бы использовать для оптимизации лечения: выбора наиболее эффективного ИТК, назначения таргетной терапии, направленной на альтернативные генетические аномалии или раннего выполнения аллогенной трансплантации костного мозга. Таким образом, подробное изучение роли наиболее часто встречающихся соматических мутаций у больных ХМЛ могло бы помочь определить тактику ведения пациентов в разных клинических ситуациях.

Ключевые слова: хронический миелолейкоз, соматические мутации, неудача терапии, резистентность.

Somatic mutations in chronic myeloid leukemia patients.

E.A. Kuzmina, E.Y. Chelysheva, A.G. Turkina

1. National Medical Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation (Russia). Novy Zykovsky pr-d, 4, Moscow, Russian Federation, 125167

For correspondence: Elena Andreevna Kuzmina, Postgraduate Student, Hematologist, Department of Hematology of Myeloproliferative Diseases, Novy Zykovsky pr-d, 4, Moscow, Russian Federation, 125167; +7(918)167-35-69, 1110ekuzmina@gmail.com

Abstract

The use of tyrosine kinase inhibitors (TKIs) for chronic myeloid leukemia (CML) patients treatment significantly improved a prognosis for the majority of patients in the chronic phase (CP), however, the problem of TKI therapy failure is still an issue. Currently, the genetic profile of tumor cells in CML patients and the role of somatic mutations of non-*BCR::ABL1* genes in the development of resistance to therapy is being actively studied. New data on the frequency of somatic mutations at the time of diagnosis of CML in CP and advanced phases, on clonal changes during treatment, including disease progression, are emerging. Of particular interest is the study of somatic mutations' role in disease transformation, the temporal relationship between the occurrence of somatic mutations and CML progression. The purpose of this review is to present the data of actual studies of molecular-genetic profile in CML patients at different stages of the disease. In their works, the authors seek to identify associations between the presence of somatic mutations and response to therapy, to assess the prognostic value of mutations detected at diagnosis and during the therapy. In the future, this knowledge could be used to optimize treatment: the choice of the most effective TKI, the prescription of targeted therapy aimed at alternative genetic abnormalities or early allogeneic bone marrow transplantation. Thus, a detailed study of the role of the most common somatic mutations in CML patients could help to determine the management of patients in different clinical situations.

Keywords: chronic myeloid leukemia, somatic mutations, therapy failure, resistance.

Введение.

Хронический миелолейкоз (ХМЛ) характеризуется неконтролируемой пролиферацией клеток миелоидной направленности[1]. Патогенез заболевания обусловлен нарушением репарации ДНК, что приводит к образованию аномальной Филадельфийской хромосомы (Ph) - реципрокной транслокации между хромосомами 9 и 22 [2,3]. На момент установления диагноза примерно 90–95% пациентов с ХМЛ находятся в хронической фазе (ХФ) [4–6]. При отсутствии лечения ХМЛ прогрессирует от ХФ до продвинутых фаз – фазы акселерации (ФА) и бластного криза (БК).

До появления ингибиторов *BCR::ABL1*-киназы медиана выживаемости среди пациентов с ХФ ХМЛ варьировала от 3 до 5 лет. С появлением ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) выживаемость больных ХМЛ улучшилась, в особенности тех, которые достигли полного цитогенетического ответа (ПЦО) - в этой группе пациентов общая выживаемость стала сопоставимой с таковой в общей популяции [7]. Согласно рекомендациям Национального гематологического общества (НГО) и European LeukemiaNet (ELN), ИТК первого поколения (иматиниб) или второго поколения (нилотиниб, дазатиниб, бозутиниб) показаны в качестве терапии первой линии при ХФ ХМЛ [8]. Однако почти у 40% пациентов требуется замена препарата в течение 5 лет таргетной терапии, кроме того, только 50% пациентов с неудачей терапии иматинибом в первой линии, достигают ПЦО на фоне терапии второй линии [9–12]. Выбор препарата ≥ 3 линии представляет собой сложную задачу, поскольку эффективность

применения ИТК 2 поколения снижается с каждой последующей линией терапии [8,9,13]. Новые препараты ИТК 3 поколения - понатиниб и первый в своем классе аллостерический ИТК асциминиб - показали большую эффективность по сравнению с ИТК 2 поколения при терапии в 3 линии, но имеют свои недостатки: понатиниб ассоциируется с опасными для жизни сердечно-сосудистыми событиями, а асциминиб в настоящее время не зарегистрирован для применения в продвинутых фазах [14–18]. Аллогенная трансплантация стволовых клеток остается потенциально излечивающим терапевтическим методом для некоторых пациентов с ХМЛ, но ее проведение связано со значительной вероятностью развития осложнений и смертностью[7].

Резистентность к терапии ИТК у больных ХМЛ представляет собой серьезную проблему. Различают *BCR::ABL1*-зависимые и *BCR::ABL1*-независимые причины резистентности. К первым относятся мутации киназного домена гена *BCR::ABL1*, и их своевременное выявление важно для оценки резистентности к терапии и выбора нового эффективного ИТК[19]. К *BCR::ABL1*-независимым причинам относят дополнительные хромосомные aberrации (ДХА), появление которых ассоциируется с неблагоприятным прогнозом заболевания[20]. ДХА чаще встречается у больных с ФА и БК ХМЛ, при этом молекулярно-генетическая гетерогенность у больных ХМЛ приводит к низкой эффективности таргетной монотерапии ИТК. [21]

Подробные механизмы прогрессирования ХМЛ в ФА и БК до сих пор мало изучены. Отмечается, что повышенная пролиферативная активность *BCR::ABL1*-положительных клеток приводит к геномной нестабильности за счет нарушения механизмов репарации ДНК, способствуя накоплению новых генетических aberrаций. [21] Не установлено, в какой степени в трансформации заболевания участвуют соматические мутации других генов, помимо *BCR::ABL1*. Понимание этих молекулярных событий могло бы помочь предупредить прогрессирование болезни, улучшить терапевтические подходы при ФА и БК ХМЛ, рассмотреть возможное применение комплексной терапии, направленной на специфические мутации [22].

Последние достижения в технологии высокопроизводительного секвенирования (ВПС) позволили подробно исследовать генетические аномалии при диагностике различных типов миелоидных новообразований, включая острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), миелодиспластический синдром (МДС) и миелолифоидные новообразования (МЛН). 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 [23]. 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 [23]. Таким образом, система стратификации риска на основе молекулярно-генетического профиля у больных ОМЛ может помочь в определении прогноза заболевания, тактики лечения, а также способствует разработке и применению новых таргетных препаратов [23].

У больных ХМЛ прогностическая стратификация на момент диагностики проводится с использованием шкал риска ELTS[24], Sokal[25], EUTOS[26], основанных на клинико-лабораторных параметрах, таких 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 наличие ДХА оценивается 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. Целью настоящего обзора является представление данных актуальных исследований по изучению молекулярно-генетического профиля у больных ХМЛ на разных этапах заболевания.

Клональное кроветворение и его роль при гематологических заболеваниях

Клональное кроветворение (КК) определяется как несбалансированное увеличение числа потомков одной гемопоэтической стволовой клетки-предшественницы (ГСКП). КК возникает в результате соматической мутации в генах, ассоциированных со злокачественными

новообразованиями системы крови, которая повышает способность ГСКП к самообновлению и/или наделяет их конкурентным преимуществом в размножении по отношению к остальным клеткам крови [27]. По современным понятиям, КК характеризуется аллельной нагрузкой клона (VAF) $\geq 2\%$ [28]. Согласно этому определению, КК может быть выявлено менее чем у 1% людей моложе 40-50 лет, почти у 10% людей в возрасте 65-79 лет, почти 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 [29–32]. При использовании более чувствительных лабораторных методов и учетывании более низкого уровня VAF (например, $>0,01\%$ -2%), КК окажется повсеместно распространенным состоянием среди взрослой человеческой популяции [33]. 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 [28,34,35].

Предположительно, ККНП можно рассматривать как определенную стадию развития от нормального кроветворения до появления миелоидных 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 [34]. Однако риски различаются в зависимости от некоторых факторов; установлено, что наличие более чем одной соматической мутации, поломки 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 известными положительными предикторами развития злокачественных гематологических заболеваний [36–38].

Для КК наиболее характерны мутации генов *DNMT3A*, *TET2*, *ASXL1*, *TP53*, *IDH1*, *IDH2*, *SF3B1*, *SRSF2*, *ZRSR2* и *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 и описаны ниже (табл. 1). 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*).[39–41]

Таблица 1. 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[40]	МДС[42]	МПН[39]
<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.

В начале 2000-х годов ген *RUNX1* был описан как один из наиболее часто мутировавших генов при лейкозах [43]. Продукт гена *RUNX1* вовлечен в регуляцию нормальной дифференцировки гемопоэтических клеток, а также обладает свойствами супрессора опухолей, и потеря функции гена способствует развитию миелоидных новообразований [44].

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 приводить к миелоидной гиперплазии с нарушением дифференцировки и являться ранним генетическим событием лейкогенеза [45]. Мутации в генах *IDH1/2* способствуют гиперметилированию ДНК и, кроме того, приводят к ингибированию функции белка *TET2* [46].

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 [47].

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 [47].

Тирозинкиназа *JAK2* участвует в активации сигнального пути *JAK-STAT*, обеспечивающего регуляцию пролиферации, дифференцировки, апоптоза и выживания клеток, а 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 [47].

Антионкоген *TP53* играет решающую роль в регуляции клеточного цикла, апоптоза, репарации ДНК, и потеря его функции связана с появлением различных злокачественных опухолей [48].

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 даже с небольшой аллельной нагрузкой в ремиссии ассоциировалось с развитием рецидива [49].

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 [50–52]. 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 [53–56]. 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 драйверная мутация *BCR::ABL1* возникает в клоне с КК-ассоциированной соматической

мутацией, насколько отличается прогноз у больных с наличием или отсутствием соматических мутаций и КК. Эти и другие вопросы являются предметом изучения для исследователей.

Спектр и частота встречаемости мутаций 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 [22,54,57]. С внедрением в практику методики ВПС, в литературе стало появляться больше сообщений о больных ХМЛ с различными соматическими мутациями генов [22,58–60]. В настоящее время в мире продолжается изучение спектра, частоты встречаемости соматических мутаций генов у больных ХМЛ и их возможного влияния на прогноз с применением новейших технологий секвенирования для улучшения тактики ведения больных. В таблице 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 (табл. 2). [22]

Таблица 2. Частота встречаемости мутаций генов у больных хроническим миелолейкозом. [22]

Ген	Диагностика ХМЛ в ХФ			ХМЛ в ФА/БК		
	Число проанализированных пациентов	Число больных с мутациями	Частота пациентов с мутациями, %	Число проанализированных пациентов	Число больных с мутациями	Частота пациентов с мутациями, %
<i>RUNX1</i>	349	9	2,6	191	35	18,3
<i>IKZF1</i> делеция экзона	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</i> SNV/инделы	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 – однонуклеотидные замены.

В большинстве исследований, включенных в мета-анализ, не были подробно описаны клинические характеристики больных ХМЛ, критерии отбора пациентов, в связи с чем сложно судить по их результатам об истинной частоте встречаемости разных соматических мутаций. Отдельные исследования различались по характеристикам в зависимости от цели работы (поисковая, разработка прогностических шкал или терапевтической тактики или др.). Принцип отбора пациентов мог быть случайным, последовательным или исходя из ответа на терапию. Преимущественно в исследования были включены небольшие выборки больных. Различались виды биообразцов для секвенирования (использование несортированных или отселектированных клеток), методы секвенирования (прямое секвенирование, ВПС), количество скринируемых генов в таргетных панелях для ВПС. 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. [61]

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 [62].

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 часто встречаются при ХМЛ - ретиноиды для больных с мутациями *IKZF1* [63]; CD19+ CAR-T-клетки, ингибиторы mTOR, BCL2 и VEGFR, а также глюкокортикоиды изучаются при мутациях *RUNX1* [64–67]; ингибиторы BAP1 и ингибиторы бромодоменов BET рассматриваются для носителей мутаций *ASXL1* [68,69].

Молекулярно-генетический профиль у больных на момент диагностики хронического миелолейкоза

Установлено, что генетический ландшафт у больных ХМЛ может быть разнообразным уже на момент диагностики [22]. 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*, делеция экзона *IKZF1*, мутации *RUNX1*, *SETD1B*, *DNMT3A*. [22]

У наибольшего числа пациентов анализировали ген *ASXL1* (518 пациентов), он же чаще всего мутировал у больных ХМЛ в ХФ - у 9,7% всех протестированных пациентов. В клиническом исследовании мутации *ASXL1* были обнаружены у 8 (9%) из 91 пациента 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 [70]. Кроме того, *ASXL1* является одним из наиболее распространенных генов, мутации которых ассоциированы с ККНП [22]. 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) [22]. 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 [71]. Таким образом, не подтверждено, что мутации *ASXL1* характерны для больных ХМЛ старшей возрастной группы.

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* [57]. При исследовании мутаций методом ВПС 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 [57]. Эти данные позволяют предположить, что при ХМЛ в ХФ на момент диагностики 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 гены *TET2*, *TET3* и *RUNX1* были мутированы у одного пациента каждый [52].

Кроме описания спектра и частоты встречаемости генов, в последних работах более подробно изучали возможное влияние обнаруженных мутаций генов на исход заболевания. В российском проспективном исследовании при полноэкзомном секвенировании образцов 60 пациентов на момент диагностики ХМЛ в ХФ патогенные генетические варианты *JAK2*, *BRCA1*, *ASXL1* и *DNMT3A* были выявлены всего у 7 (12%) больных [72]. При дальнейшем наблюдении в течение 1 года у двоих из них (с мутациями в генах *JAK2* и *BRCA1*) 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 [72].

В работе Shanmuganathan и соавт. [73] изучали дополнительные генетические аномалии при ХМЛ: соматические мутации генов и ассоциированные с Ph-хромосомой перестройки, которые включали в себя слияния, делеции и инверсии, затрагивающие области, прилегающие к *BCR::ABL1*. Авторы показали, что у пациентов с соматическими мутациями или перестройками с Ph-хромосомы при терапии иматинибом в первой линии отмечалась худшая выживаемость без неудачи терапии (84% против 69%, $p=0,03$), снижена вероятность достижения БМО (84% против 72%, $p=0,02$) и ГМО (62% против 37%, $p=0,001$) по сравнению с больными без генетических аномалий [73]. 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 генетических аномалий у больных, которым в первой линии проводилась терапия ИТК 2 поколения [73]. Отдельно оценивалось влияние наличия мутаций *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 ИТК 2 поколения в первой линии [73].

В то же время в другом исследовании Schönfeld и соавт. было показано, что среди больных ХМЛ, получающих терапию ИТК 2 поколения нилотинибом в первой линии, наличие мутаций гена *ASXL1*, которые наиболее часто встречались при диагностике, ассоциировано с меньшей вероятностью достижения БМО. Также была показана более высокая частота встречаемости мутаций гена у молодых пациентов и у пациентов из группы высокого риска по EUTOS-score [74].

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 ИТК 2 поколения в первой линии. Самыми частыми на момент диагностики в этом исследовании были мутации *ASXL1*, *TET2*, *DNMT3A* [75].

Молекулярно-генетический профиль у больных в фазе акселерации и бластного криза хронического миелолейкоза

Для определения возможной роли соматических мутаций генов в прогрессировании ХМЛ проводятся исследования по изучению мутационного профиля у больных в ФА и БК ХМЛ. В 2005 г. описан один из первых клинических случаев выявления методом прямого секвенирования соматической миссенс-мутации R139P в домене runt гена *RUNX1* 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 [76]. 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 [76]. 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) [77].

По данным описанного выше мета-анализа, соматические мутации чаще обнаруживались в продвинутых фазах ХМЛ, чем в хронической при диагностике заболевания [22]. Наиболее часто при ФА и БК выявлялись мутации генов *RUNX1* (18%), *ASXL1* (15%), делеции экзона *IKZF1* (16%), мутации *BCORL1* (8,6%) *GATA2* (8,4%) [22]. 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 [78–80]. Всего тринадцать генов были мутированы 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, связаны с генами *BCORL1*, *BCOR*, *SETD1B*, *SETD2*, *TP53*, *IDH1/2*, *GATA2*, *TET2*, *EZH2*, *WT1*, *PHF6*, *SETBP1*, *CBL*, *PTPN11* и *NRAS* [22]. Более ранние исследования показывали, что мутации *TP53* встречались в 20% случаев ФА и БК в период до появления ИТК [81,82], однако современные геномные исследования с применением ВПС показывают низкую частоту выявления мутаций *TP53* в продвинутых фазах ХМЛ (около 4%) [22].

При изучении ассоциации фенотипа БК и мутационного профиля у больных ХМЛ отмечено, что мутации *ASXL1* чаще встречаются у пациентов с миелоидным фенотипом, а делеции *IKZF1* – у больных с лимфоидным фенотипом БК [56,57,83]. Кроме того, мутации *WT1* и *GATA2* чаще встречались у больных с БК ХМЛ миелоидной направленности [84]. В некоторых исследованиях отмечалась высокая частота встречаемости мутаций генов *WT1* (15%) [85] и *GATA2* (11%) у пациентов с БК ХМЛ [86], при этом в других работах, в которых эти гены целенаправленно изучались, сообщалось о низкой частоте их встречаемости, хотя число исследуемых пациентов было небольшим [22].

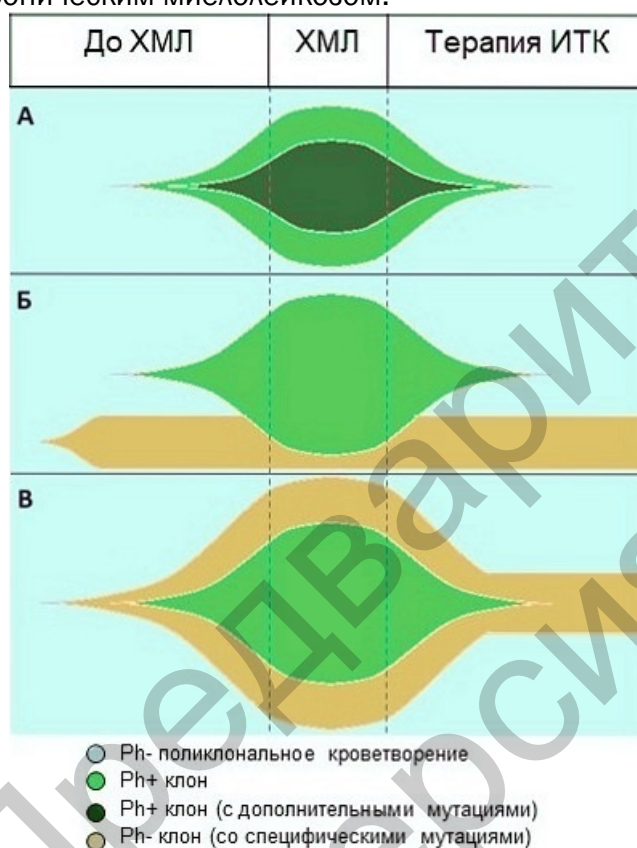
Интересно сопоставление двух работ, в которых изучали мутационный статус у больных с БК ХМЛ, в одном случае с помощью секвенирования 12 генов таргетной панели (V. Grossmann и соавт. [85]) и в другом - с применением полноэкзомного секвенирования (S. Branford и соавт. [57]). В обеих работах отмечалась относительно высокая частота встречаемости мутаций *RUNX1*, *ASXL1*, делеций экзона *IKZF1* - как минимум один из этих генов был мутирован у 23 (59%) из 39 пациентов в одной работе [85] и у 21 (54%) из 39 пациентов в другой [57]. 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%) [85] и 17/19 пациентов (89%) [57]. Можно заметить, что при секвенировании только 12 генов, авторы обнаружили мутации 10 генов у 30/39 пациентов (77%) [85], в то время как при полноэкзомном секвенировании выявлены мутации того же типа (однонуклеотидные замены и делеции) в 15 генах у 31/39 пациентов (79%) [57]. При этом мутации 5 из 10 генов из исследования V. Grossmann и соавт. были также отмечены в исследовании S. Branford и соавт. Это позволяет предположить, что спектр мутаций, выявляемых при БК ХМЛ, ограничен небольшим количеством генов, ассоциированными 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* [77], *MLL* (*KMT2A*) [87], и *CBFB* [88]. Результаты секвенирования транскриптома 39 пациентов с БК ХМЛ показали высокую частоту встречаемости слияний с участием генов *MLL*, *RUNX1*, *IKZF1*, *CBFB*, *MESOM* и *PAX5* [57]. 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/инделы, очаговые делеции и слияния генов [57].

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, не определялись при достижении ремиссии, а значит, возможно, присутствовали в Ph-положительном клоне; подобная динамика клонов отмечалась также в других работах [50,55,74]. 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 [50,74]. 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 (рис. 1) [53].

Рисунок 1. Варианты динамики клонов с дополнительными мутациями у больных хроническим миелолейкозом.



ХМЛ – хронический миелолейкоз, ИТК – ингибиторы тирозинкиназ.

А: соматическая мутация возникает в клоне с мутацией *BCR::ABL1*, и на фоне терапии ИТК можно проследить ее исчезновение. Б: клон с соматической мутацией существует независимо от клона с мутацией *BCR::ABL1*. В: мутация *BCR::ABL1* возникает в клоне с соматической мутацией (на фоне клонального кроветворения).

Адаптировано из M. Schmidt и соавт. [53]

Также различные варианты динамики клонов показали T. Kim и соавт. в проспективном исследовании при анализе образцов 100 пациентов с ХМЛ в ХФ, взятых на момент диагностики и спустя 1 год от начала терапии ИТК [54]. По итогам полученных особенностей изменения мутационного профиля и ответа 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 на момент оценки на фоне 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 [54].

В еще одном исследовании сообщалось о больных ХМЛ, имеющих генетические мутации, характерные для КК, включая *DNMT3A*, *TET2*, *ASXL1*, *BCOR* и *CREBBP*, на момент диагностики и после начала терапии ИТК без 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. 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 из Ph-отрицательного клона, что описано у некоторых пациентов с ХМЛ, в том числе с ДХА в Ph-отрицательных клетках [54].

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 [56]. По нашим собственным данным, соматические мутации генов *ABL1*, *ASXL1*, *RUNX1*, *CEBPA*, *WT1*, и *NPM1* преимущественно появлялись со временем при резистентном течении болезни или прогрессировании, а при сравнении групп больных с резистентным течением ХМЛ (n=29) и больных с оптимальным ответом на терапию (n=29) отмечено, что у больных с резистентностью к терапии ИТК соматические мутации выявлялись чаще, чем у больных с оптимальным ответом (66% против 7%). Наиболее часто при резистентности определялись мутации в генах *BCR::ABL1* (38%) и *ASXL1* (31%), в том числе их сочетание у 14% больных. [89]

S. Branford и соавт. изучали соматические мутации генов у 25 больных в динамике при диагностике ХМЛ и при прогрессировании в БК [57]. На фоне прогрессирования ХМЛ, помимо мутаций киназного домена *ABL1*, также отмечалось приобретение делеций *IKZF1*, мутаций *RUNX1*, *ASXL1*, *BCORL1*, *IDH1* и реже других генов [57]. В других исследованиях с меньшим количеством пациентов при прогрессировании ХМЛ отмечалось появление мутаций генов *ABL1*, *RUNX1*, *ASXL1*, делеции *IKZF1*, и у отдельных больных мутации *UBE2A*, *NRAS*, *EZH2*, *TET2* [56,70,90,91] .

Заключение.

Молекулярно-генетический профиль у больных ХМЛ может быть весьма разнообразным, но в большинстве случаев выявляются те же соматические мутации генов, которые встречаются у больных с другими миелоидными/лимфоидными неоплазиями. Чаще соматические мутации выявляются у больных в ФА или БК ХМЛ и относительно редко при диагностике в ХФ. Наиболее часто у больных в ХФ встречаются мутации *ASXL1*, делеция экзона *IKZF1*, мутации *SETD1B*, *RUNX1*, *DNMT3A*; в продвинутых фазах самыми частыми являются мутации генов *RUNX1*, делеции экзона *IKZF1*, мутации *ASXL1*, *BCORL1*, *GATA2*. Спектр соматических мутаций отличается у больных с миелоидным и лимфоидным фенотипами БК ХМЛ. Также отмечено, что мутации разных генов часто сочетались между собой, в том числе с мутациями киназного домена *BCR::ABL1*. В некоторых исследованиях было показано влияние наличия соматических мутаций на прогноз – так, у больных ХМЛ с мутациями отмечался худший ответ на терапию иматинибом, при этом негативный фактор наличия мутаций нивелировался при терапии ИТК 2 поколения в первой линии. Мутации гена *ASXL1* встречаются особенно часто и в некоторых исследованиях являлись неблагоприятным фактором при оценке вероятности ответа на терапию иматинибом; кроме того, эти мутации ассоциируются с возраст-ассоциированным КК, однако не подтверждена связь мутаций *ASXL1* с возрастом у больных ХМЛ. Показано, что со временем аллельная нагрузка клонов с соматическими мутациями может как увеличиваться, так и уменьшаться, что зависит и от динамики опухолевого клона, и от особенностей дополнительных клонов. Важно отличать герминальные мутации и ККНП, присутствующее в неопухолевых клетках, которое, вероятно, не будет влиять на прогноз ХМЛ, но может быть плацдармом для развития других заболеваний.

Таким образом, определение соматических мутаций генов при диагностике ХМЛ может иметь прогностическое значение и способствовать индивидуализации тактики терапии первой

линии. Поскольку селекция мутаций часто происходит со временем на фоне терапии ИТК, мониторинг мутационного профиля у больных ХМЛ может помочь выявить ранние признаки резистентности, что позволит своевременно скорректировать лечение для предотвращения неблагоприятного исхода. Появление дополнительных терапевтических опций, направленных на соматические мутации, в особенности для больных в продвинутых фазах или с множественной резистентностью к ИТК, имеет большое клиническое значение. Учитывая небольшие размеры групп исследуемых пациентов, на настоящий момент не представляется возможным сделать окончательные выводы о клинической значимости молекулярных маркеров при ХМЛ, в связи с чем требуется проведение дальнейших стандартизированных исследований в более крупных когортах или с использованием международной централизованной обработки и мета-анализа данных, полученных в небольших исследованиях.

Конфликт интересов:

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Вклад авторов:

Елена Кузьмина: обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи.

Екатерина Чельшева: редактирование и подготовка рукописи.

Анна Туркина: редактирование и окончательное одобрение рукописи.

ИНФОРМИРОВАННОЕ СОГЛАСИЕ НА ПУБЛИКАЦИЮ

От всех участников исследования получено письменное согласие на публикацию.

ORCID:

Е.А. Кузьмина: 0000-0002-9181-6050

Е.Ю. Чельшева: 0000-0001-6423-1789

А.Г. Туркина: 0000-0001-9947-2371

1. Cortes J, Pavlovsky C, Saúbele S. Chronic myeloid leukaemia. *The Lancet*. 2021;398(10314):1914–26.
2. Ren R. Mechanisms of BCR–ABL in the pathogenesis of chronic myelogenous leukaemia. *Nature Reviews Cancer* 2005;5(3):172–83.
3. Shtivelman E, Lifshitz B, Gale RP, et al. Fused transcript of abl and bcr genes in chronic myelogenous leukaemia. *Nature* 1985;315(6020):550–4.
4. Quintá S-Cardama A, Cortes J. Molecular biology of bcr-abl1-positive chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2009;113(8):1619-1630. doi:10.1182/blood-2008-03-144790
5. Куликов С.М., Виноградова О.Ю., Чельшева Е.Ю., и др. Заболеваемость хроническим миелолейкозом в 6 регионах России по данным популяционного исследования 2009-2012 гг. *Терапевтический архив*. 2014;86(7):24–30.
6. Hoffmann VS, Vaccarani M, Hasford J, et al. The EUTOS population-based registry: incidence and clinical characteristics of 2904 CML patients in 20 European Countries. *Leukemia*. 2015;29(6):1336–43.
7. Hehlmann R. Chronic Myeloid Leukemia in 2020. *Hemasphere*. 2020;4(5):E468.
8. Hochhaus A, Vaccarani M, Silver RT, et al. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. *Leukemia*;34(4):966–84.
9. Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2022 update on diagnosis, therapy, and monitoring. *Am J Hematol*. 2022;97(9):1236–56.

10. Gambacorti-Passerini C, Brümmendorf TH, Kim DW, et al. Bosutinib efficacy and safety in chronic phase chronic myeloid leukemia after imatinib resistance or intolerance: Minimum 24-month follow-up. *Am J Hematol.* 2014;89(7):732–42.
11. Giles F, le Coutre P, Pinilla-Ibarz J, et al. 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. *Leukemia.* 2013;27:107–12.
12. Cortes JE, Khoury HJ, Kantarjian HM, et al. Long-term bosutinib for chronic phase chronic myeloid leukemia after failure of imatinib plus dasatinib and/or nilotinib. *Am J Hematol.* 2016;91(12):1206–14.
13. Shah NP, Rousselot P, Schiffer C, et al. Dasatinib in imatinib-resistant or -intolerant chronic-phase, chronic myeloid leukemia patients: 7-year follow-up of study CA180-034. *Am J Hematol.* 2016;91(9):869–74.
14. Réa D, Hughes TP. Development of asciminib, a novel allosteric inhibitor of BCR-ABL1. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2022;171:103580.
15. Туркина АГ, Кохно АВ, Цыба НН, и др. Асциминиб у больных хроническим миелолейкозом, не имеющих альтернативных методов лечения: результаты исследования в рамках программы расширенного доступа MAP (Managed Access Program, NCT04360005) в России. *Клиническая онкогематология.* 2023;16(1):54–68.
16. Hughes TP, Mauro MJ, Cortes JE, et al. Asciminib in Chronic Myeloid Leukemia after ABL Kinase Inhibitor Failure. *N Engl J Med.* 2019;381(24):2315.
17. Cortes JE, Kim DW, Pinilla-Ibarz J, et al. Ponatinib efficacy and safety in Philadelphia chromosome-positive leukemia: final 5-year results of the phase 2 PACE trial. *Blood.* 2018;132(4):393-404. doi:10.1182/blood-2016-09-739086
18. Andrews C, Lipton J. The role of ponatinib in chronic myeloid leukemia in the era of treatment free remission. *Leuk Lymphoma.* 2019;60(13):3099–101.
19. 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.
20. Cortes JE, Talpaz M, Giles F, et al. Prognostic significance of cytogenetic clonal evolution in patients with chronic myelogenous leukemia on imatinib mesylate therapy. *Blood.* 2003;101(10):3794–800.
21. Lahaye T, Riehm B, Berger U, et al. Response and resistance in 300 patients with BCR-ABL-positive leukemias treated with imatinib in a single center: a 4.5-year follow-up. *Cancer.* 2005;103(8):1659–69.
22. Branford S, Dong D, Kim H, et al. Laying the foundation for genomically-based risk assessment in chronic myeloid leukemia behalf of the International CML Foundation Genomics Alliance. *Leukemia.* 2019;33:1835–50.
23. Döhner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood.* 2017;129(4):424–47.
24. Pffirmann M, Baccarani M, Saussele S, et al. Prognosis of long-term survival considering disease-specific death in patients with chronic myeloid leukemia. *Leukemia.* 2016;30(1):48–56.
25. Sokal J, Cox E, Baccarani M, et al. Prognostic Discrimination in “Good-Risk” Chronic Granulocytic Leukemia. *Blood.* 1984;63(4):789–99.
26. Hasford J, Baccarani M, Hoffmann V, et al. Predicting complete cytogenetic response and subsequent progression-free survival in 2060 patients with CML on imatinib treatment: the EUTOS score. *Blood.* 2011;118(3):686–92.
27. Sant’Antonio E, Camerini C, Rizzo V, et al. Genetic Heterogeneity in Chronic Myeloid Leukemia: How Clonal Hematopoiesis and Clonal Evolution May Influence Prognosis, Treatment Outcome, and Risk of Cardiovascular Events. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2021;21(9):573–9.
28. Steensma DP. Clinical consequences of clonal hematopoiesis of indeterminate potential. *Blood Adv.* 2018;2(22):3404-3410. doi:10.1182/bloodadvances.2018020222
29. Luis TC, Wilkinson AC, Beerman I, et al. Biological implications of clonal hematopoiesis. *Exp Hematol.* 2019;77:1–5.
30. Calvillo-Argüelles O, Jaiswal S, Shlush LI, et al. Connections between Clonal Hematopoiesis, Cardiovascular Disease, and Cancer: A Review. *JAMA Cardiol.* 2019;4(4):380–7.

31. Jaiswal S, Ebert BL. Clonal hematopoiesis in human aging and disease. *Science*. 2019;366(6465).

32. Виноградова О.Ю., Асеева Е.А., Воронцова А.В., и др. Влияние различных хромосомных аномалий в Ph-позитивных клетках костного мозга на течение хронического миелолейкоза при терапии ингибиторами тирозинкиназ. *Онкогематология*. 2014;7(4):24–34.

33. Young AL, Challen GA, Birmann BM, Druley TE. Clonal haematopoiesis harbouring AML-associated mutations is ubiquitous in healthy adults. *Nat Commun*. 2016;7;12484.

34. Genovese G, Kähler AK, Handsaker RE, et al. Clonal Hematopoiesis and Blood-Cancer Risk Inferred from Blood DNA Sequence. *New England Journal of Medicine*. 2014;371(26):2477–87.

35. Walter Matthew J. Antecedent CHIP in CML? *Blood*. 2017;129(1):3–4.

36. Rose D, Haferlach T, Schnittger S, et al. Subtype-specific patterns of molecular mutations in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2017;31(1):11–7.

37. Corces-Zimmerman MR, Majeti R. Pre-leukemic evolution of hematopoietic stem cells: The importance of early mutations in leukemogenesis. *Leukemia*. 2014;28(12):2276–82.

38. Shlush LI, Zandi S, Itzhovitz S, Schuh AC. Aging, clonal hematopoiesis and preleukemia: not just bad luck? *Int J Hematol*. 2015;102(5):513–22.

39. Luque Paz D, Kralovics R, Skoda RC. Genetic basis and molecular profiling in myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2023;141(16):1909.

40. Sargas C, Ayala R, Larráyo MJ, et al. Molecular Landscape and Validation of New Genomic Classification in 2668 Adult AML Patients: Real Life Data from the PETHEMA Registry. *Cancers (Basel)*. 2023;15(2):438.

41. Tazi Y, Arango-Ossa JE, Zhou Y, et al. Unified classification and risk-stratification in Acute Myeloid Leukemia. *Nat Commun*. 2022;13(1):4622. doi:10.1038/s41467-022-32103-8

42. Ganguly BB, Kadam NN. Mutations of myelodysplastic syndromes (MDS): An update. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2016;769:47–62.

43. Roumier C, Fenaux P, Lafage M, et al. New mechanisms of AML1 gene alteration in hematological malignancies. *Leukemia*. 2003;17(1):9–16.

44. Ichikawa M, Asai T, Saito T, et al. AML-1 is required for megakaryocytic maturation and lymphocytic differentiation, but not for maintenance of hematopoietic stem cells in adult hematopoiesis. *Nature Medicine*;10(3):299–304.

45. Puyan FÖ, Alkan S. The Progress of Next Generation Sequencing in the Assessment of Myeloid Malignancies. *Balkan Med J*. 2019;36(2):78–87.

46. Мисюрин А.В. Цитогенетические и молекулярно-генетические факторы прогноза острых миелоидных лейкозов. *Клиническая онкогематология*. 2017;10(2):227–34. DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-2-227-234

[Misyurin AV. Cytogenetic and Molecular Genetic Prognostic Factors of Acute Myeloid Leukemia. *Clinical oncohematology*. 2017;10(2):227–34 (In Russ)]

47. Меликян А.А., Суборцева И.Н. Биология миелолиферативных новообразований. *Клиническая онкогематология*. 2016;9(3):314-25. DOI: 10.21320/2500-2139-2016-9-3-314-325

[Melikyan AL, Subortseva IN. Biology of Myeloproliferative Malignancies. *Clinical oncohematology*. 2016;9(3):314–25 (In Russ)]

48. Fromentel CC De, Soussi T. TP53 tumor suppressor gene: a model for investigating human mutagenesis. *Genes Chromosomes Cancer*. 1992;4(1):1–15.

49. Jongen-Lavrencic M, Grob T, Hanekamp D, et al. Molecular Minimal Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2018;378(13):1189–99.

50. Mitani K, Nagata Y, Sasaki K, et al. Somatic mosaicism in chronic myeloid leukemia in remission. *Blood*. 2016;128(24):2863–6.

51. Mologni L, Piazza R, Khandelwal P, et al. Somatic mutations identified at diagnosis by exome sequencing can predict response to imatinib in chronic phase chronic myeloid leukemia (CML) patients. *Am J Hematol*. 2017;92(10):E623–5.

52. Togasaki E, Takeda J, Yoshida K, et al. Frequent somatic mutations in epigenetic regulators in newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *Blood Cancer J*. 2017;7(4):e559.

53. Schmidt M, Rinke J, Schäfer V, et al. Molecular-defined clonal evolution in patients with chronic myeloid leukemia independent of the BCR-ABL status. *Leukemia*. 2014;28(12):2292–9.

54. Kim TH, Tyndel MS, Kim HJ, et al. Spectrum of somatic mutation dynamics in chronic myeloid leukemia following tyrosine kinase inhibitor therapy. *Blood*. 2017;129(1):38–47.

55. Nteliopoulos G, Bazeos A, Claudiani S, et al. Somatic variants in epigenetic modifiers can predict failure of response to imatinib but not to second-generation tyrosine kinase inhibitors. *Haematologica*. 2019;104(12):2400.

56. Awad SA, Kankainen M, Ojala T, et al. Mutation accumulation in cancer genes relates to nonoptimal outcome in chronic myeloid leukemia. *Blood Adv*. 2020;4(3):546.

57. Branford S, Wang P, Yeung DT, et al. Integrative genomic analysis reveals cancer-associated mutations at diagnosis of CML in patients with high-risk disease. *Blood*. 2018;132(9):948–61.

58. Soverini S, De Benedittis C, Mancini M, Martinelli G. Mutations in the BCR-ABL1 Kinase Domain and Elsewhere in Chronic Myeloid Leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2015;15 Suppl(S):S120–8.

59. Sondka Z, Bamford S, Cole CG, et al. The COSMIC Cancer Gene Census: describing genetic dysfunction across all human cancers. *Nat Rev Cancer*. 2018;18(11):696.

60. Phan CL, Megat Baharuddin PJNB, Chin LP, et al. Amplification of BCR-ABL and t(3;21) in a patient with blast crisis of chronic myelogenous leukemia. *Cancer Genet Cytogenet*. 2008;180(1):60–4.

61. CML-1: Understanding the clonal hierarchy in Chronic Myeloid Leukemia to help improve patient outcomes - HARMONY Alliance [Internet]. [cited 2024 Jul 18]. Available from: <https://www.harmony-alliance.eu/projects/research-project/cml-understanding-the-clonal-hierarchy-in-chronic-myeloid-leukemia-to-help-improve-patient-outcomes-1655723411>

62. Branford S, Fernandes A, Shahrin NH, et al. Beyond BCR::ABL1-The Role of Genomic Analyses in the Management of CML. *J Natl Compr Canc Netw*. 2024;22(1):e237335. doi:10.6004/jnccn.2023.7335

63. Churchman ML, Low J, Qu C, et al. Efficacy of Retinoids in IKZF1-Mutated BCR-ABL1 Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Cell*. 2015;28(3):343–56.

64. Adnan Awad S, Dufva O, Ianevski A, et al. RUNX1 mutations in blast-phase chronic myeloid leukemia associate with distinct phenotypes, transcriptional profiles, and drug responses. *Leukemia*. 2021;35(4):1087–99.

65. Mill CP, Fiskus W, DiNardo CD, et al. Effective therapy for AML with RUNX1 mutation by cotreatment with inhibitors of protein translation and BCL2. *Blood*. 2022;139(6):907–21.

66. Nicolini FE, Khoury HJ, Akard L, et al. Omacetaxine mepesuccinate for patients with accelerated phase chronic myeloid leukemia with resistance or intolerance to two or more tyrosine kinase inhibitors. *Haematologica*. 2013;98(7).

67. Cortes JE, Nicolini FE, Wetzler M, et al. Subcutaneous omacetaxine mepesuccinate in patients with chronic-phase chronic myeloid leukemia previously treated with 2 or more tyrosine kinase inhibitors including imatinib. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2013;13(5):584–91.

68. Wang L, Birch NW, Zhao Z, et al. Epigenetic targeted therapy of stabilized BAP1 in ASXL1 gain-of-function mutated leukemia. *Nat Cancer*. 2021;2(5):515–26.

69. Yang H, Kurtenbach S, Guo Y, et al. Gain of function of ASXL1 truncating protein in the pathogenesis of myeloid malignancies. *Blood*. 2018;131(3):328–41.

70. Roche-Lestienne C, Marceau A, Labis E, et al. Mutation analysis of TET2, IDH1, IDH2 and ASXL1 in chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2011;25(10):1661–4.

71. Ernst T, Busch M, Rinke J, et al. Frequent ASXL1 mutations in children and young adults with chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2018;32(9):2046–9.

72. Адильгереева Э.П., Никитин А.Г., Жегло Д.Г., и др. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ПЕРВИЧНОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ХРОНИЧЕСКОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА К ТЕРАПИИ ИНГИБИТОРАМИ ТИРОЗИНКИНАЗ. *Вестник гематологии*. 2021;17(2):45-46.

[Adilgereeva EP, Nikitin AG, ZHeglo DG, et al. MOLEKULARNO-GENETICHESKIE PREDIKTORY PERVICHNOJ REZISTENTNOSTI HRONICHESKOGO MIELOIDNOGO LEJKOZA K TERAPII INGIBITORAMI TIROZINKINAZ. *Vestnik gematologii*. 2021;17(2):45-46. (In Russ)]

73. Shanmuganathan N, Wadham C, Shahrin N, et al. Impact of additional genetic abnormalities at diagnosis of chronic myeloid leukemia for first-line imatinib-treated patients receiving proactive treatment intervention. *Haematologica*. 2023;108(9):2380-2395. doi:10.3324/haematol.2022.282184

74. Schönfeld L, Rinke J, Hinze A, et al. ASXL1 mutations predict inferior molecular response to nilotinib treatment in chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2022;36(9):2242.

75. Kim T, Žácková D, Ježíšková I, et al. 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. *Blood*. 2022;140(S1):812–4.

76. Corm S, Biggio V, Roche-Lestienne C, et al. Coexistence of AML1/RUNX1 and BCR-ABL point mutations in an imatinib-resistant form of CML. *Leukemia*. 2005;19(11):1991–2.

77. Roche-Lestienne C, Deluche L, Corm S, et al. 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. *Blood*. 2008;111(7):3735–41.

78. 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.

79. Cortes J, Rousselot P, Kim DW, et al. Dasatinib induces complete hematologic and cytogenetic responses in patients with imatinib-resistant or -intolerant chronic myeloid leukemia in blast crisis. *Blood*. 2007;109(8):3207–13.

80. Branford S, Melo J V., Hughes TP. Selecting optimal second-line tyrosine kinase inhibitor therapy for chronic myeloid leukemia patients after imatinib failure: does the BCR-ABL mutation status really matter? *Blood*. 2009;114(27):5426–35.

81. Ahuja H, Bar-Eli M, Arlin Z, et al. The spectrum of molecular alterations in the evolution of chronic myelocytic leukemia. *Journal of Clinical Investigation*. 1991;87(6):2042.

82. Feinstein E, Cimino G, Gale RP, et al. p53 in chronic myelogenous leukemia in acute phase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88(14):6293–7.

83. Mullighan CG, Miller CB, Radtke I, et al. BCR-ABL1 lymphoblastic leukaemia is characterized by the deletion of Ikaros. *Nature*. 2008;453(7191):110–4.

84. Ochi Y, Yoshida K, Huang YJ, et al. Clonal evolution and clinical implications of genetic abnormalities in blastic transformation of chronic myeloid leukaemia. *Nat Commun*. 2021;12(1):2833.

85. Grossmann V, Kohlmann A, Zenger M, et al. A deep-sequencing study of chronic myeloid leukemia patients in blast crisis (BC-CML) detects mutations in 76.9% of cases. *Leukemia*. 2011;25(3):557–60.

86. Zhang SJ, Ma LY, Huang QH, et al. Gain-of-function mutation of GATA-2 in acute myeloid transformation of chronic myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(6):2076-2081. doi:10.1073/pnas.0711824105

87. Meyer C, Burmeister T, Gröger D, et al. The MLL recombinome of acute leukemias in 2017. *Leukemia*. 2018;32(2):273–84.

88. Salem A, Loghavi S, Tang G, et al. Myeloid neoplasms with concurrent BCR-ABL1 and CFBF rearrangements: A series of 10 cases of a clinically aggressive neoplasm. *Am J Hematol*. 2017;92(6):520.

89. Кузьмина Е.А., Бидерман Б.В., Чельшева Е.Ю. и др. Определение соматических мутаций генов у больных хроническим миелолейкозом. *Гематология и трансфузиология*. 2024; 69(S2):118.

[Kuzmina EA, Biderman BV, Chelysheva EY et al. Opredelenie somaticheskikh mutacij genov u bol'nyh hronicheskim mielolejkozom. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2024; 69(S2):118. (In Russ)]

90. Ko TK, Javed A, Lee KL, et al. An integrative model of pathway convergence in genetically heterogeneous blast crisis chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2020;135(26):2337–53.

91. Magistroni V, Mauri M, D'Aliberti D, et al. De novo UBE2A mutations are recurrently acquired during chronic myeloid leukemia progression and interfere with myeloid differentiation pathways. *Haematologica*. 2019;104(9):1789.