ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«МИНСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ХИРУРГИИ,
ТРАНСПЛАНТАЛОГИИ И ГЕМАТОЛОГИИ»

Объект авторского права
УДК 616.155.392.1-036.11:[576.316:575.224](043.3)

ВОЛОЧНИК
Елена Викторовна

ХРОМОСОМНАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ И КЛОНАЛЬНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ ПРИ ОСТРОМ ЛИМФОБЛАСТНОМ ЛЕЙКОЗЕ ИЗ В-КЛЕТОК ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
по специальности 14.01.21 – гематология и переливание крови

Минск 2026

Научная работа выполнена в государственном учреждении «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»

Научный руководитель	**Мелешко Александр Николаевич,** кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории генетических биотехнологий научного отдела государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»
Официальные оппоненты:	**Державец Лилия Александровна,** доктор биологических наук, профессор, заведующий клинико-диагностической лабораторией государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»
	Михаленко Елена Петровна, кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории экологической генетики и биотехнологии государственного научного учреждения «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси»
Оппонирующая организация	государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя»

Защита состоится «23» декабря 2026 года в 14.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.03.01 при государственном учреждении «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» по адресу: 220053, г. Минск, ул. Семашко, 8, телефон ученого секретаря (+375 17) 207 96 34, e-mail: tanya_talako@mail.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке государственного учреждения «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии».

Автореферат разослан «19» ноября 2026 г.

Ученый секретарь
совета по защите диссертаций,
кандидат медицинских наук — Т.М. Талако

ВВЕДЕНИЕ

Острый лимфобластный лейкоз из В-клеток предшественников (ВП-ОЛЛ) – наиболее часто встречаемое онкогематологическое заболевание у пациентов детского возраста (>80%) [Чешик А. А. и др., 2016], которое характеризуется высокой генетической гетерогенностью [Alaggio R. et al., 2022]. Результаты лечения первичных ВП-ОЛЛ могут отличаться в зависимости от наличия дополнительных хромосомных аберраций (ДХА), возраста пациентов и получаемой терапии. Наличие определенных хромосомных аберраций (ХА) может обеспечивать резистентность опухолевой клетки к проводимой терапии и в большинстве случаев клон клеток, определяющий рецидив, детектируется на стадии первичной диагностики [Waanders E. et al., 2020]. Тем не менее, для большинства ДХА полученные данные противоречивы или недостаточно изучены в связи с небольшим количеством пациентов в исследуемых группах и различием в проводимой терапии. Кроме того, несмотря на накопленные данные, большинство современных протокольных стратификаций на группы риска основаны на ограниченном числе рекуррентных ХА, не включая ДХА.

Хромосомная нестабильность проявляется в виде числовых и структурных изменений кариотипа и является причиной возникновения новых ХА, которые накапливаются под действием отбора, способствуют малигнизации клетки и определяют клинико-биологические особенности лейкемического пула клеток. Высокий уровень хромосомной нестабильности может указывать на высокий эволюционный потенциал лейкемического пула клеток и значимую роль ДХА в патогенезе и прогрессии заболевания.

В Республике Беларусь в клинических протоколах лечения ВП-ОЛЛ до 2024 года использовались лишь несколько рекуррентных ХА (*BCR::ABL1*+, *ETV6::RUNX1*+ и *KMT2A*-r) в качестве маркеров стратификации по группам риска. Внесенные в 2024 году дополнения в стратификацию на основании новых генетических маркеров (протокол ALL-MB 2015 версия 2024 года) включают в себя только хромосомные перестройки, описанные в классификации ВОЗ 2022, и не учитывают наличие ДХА, сложного и моносомного кариотипов.

Комплексный анализ сочетания рекуррентных ХА и адаптивных вторичных цитогенетических изменений позволит индивидуализировать терапевтический подход с целью уменьшения количества рецидивов ВП-ОЛЛ как основной причины неудач в терапии первичных ВП-ОЛЛ.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами

Диссертационное исследование выполнено в рамках научно-исследовательских работ: «Молекулярно-биологическая гетерогенность MLL-позитивных острых лейкозов» программы БРФФИ (2015–2017 гг., № гос.

регистрации 20151235); «Разработать и внедрить метод молекулярно-генетической диагностики BCR-ABL1-like ОЛЛ и оценить показатели прогноза при данном типе лейкоза у пациентов детского возраста, подростков и «молодых» взрослых» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», подпрограмма «Злокачественные опухоли» (2020–2024 гг., № гос. регистрации 20201444).

Тема диссертации соответствует приоритетным направлениям научной, научно-технической и инновационной деятельности в Республике Беларусь на 2016–2020 гг. (Указ Президента Республики Беларусь от 22 апреля 2015 г. №166) пункт 4 «Медицина, фармация, медицинская техника: технологии профилактики, диагностики и лечения заболеваний»; на 2021–2025 гг. (Указ Президента Республики Беларусь от 07 мая 2020 г. №156) пункт 2 «Биологические, медицинские, фармацевтические и химические технологии и производства: диагностика, медицинская профилактика и лечение инфекционных, включая вирусной этиологии, и неинфекционных заболеваний, экспертиза качества медицинской помощи»; на 2026–2030 гг. (Указ Президента Республики Беларусь от 01 апреля 2025 г. №135) пункт 3 «Биологические, химико-фармацевтические и медицинские технологии: геномные, постгеномные, микробные, медицинские биотехнологии; фармацевтические технологии».

Цель, задачи, объект и предмет исследования

Цель исследования – установить структуру кариотипа при первичных ВП-ОЛЛ и при рецидиве заболевания и выделить значимые цитогенетические изменения, ассоциированные с рецидивом ВП-ОЛЛ.

Задачи исследования:

1. Изучить нестабильность кариотипа при ВП-ОЛЛ на момент постановки первичного диагноза и при рецидиве.
2. Выявить и проанализировать дополнительные хромосомные аберрации в кариотипе опухолевых клеток при различных вариантах ВП-ОЛЛ.
3. Оценить изменение сложности кариотипа при рецидиве ВП-ОЛЛ.
4. Изучить варианты клональной эволюции кариотипа и выявить закономерности изменений кариотипа в парных случаях первичный ВП-ОЛЛ / рецидив 1 и рецидив 1 / рецидив 2.
5. Проанализировать изменения субклональной архитектуры при рецидиве ВП-ОЛЛ.
6. Разработать алгоритм молекулярно-цитогенетической диагностики первичных ВП-ОЛЛ на основе полученных данных в случаях неэффективности стандартного кариотипирования.

Объект исследования – образцы мононуклеарных клеток костного мозга пациентов с ВП-ОЛЛ (при первичном ВП-ОЛЛ и рецидиве).

Предмет исследования – структурные и числовые хромосомные аберрации; варианты сложных кариотипов при ВП-ОЛЛ; хромосомная нестабильность; клональная эволюция кариотипа.

Научная новизна

Впервые определена хромосомная нестабильность в цитогенетических группах ВП-ОЛЛ, основанная на 4 параметрах: хромосомный дисбаланс, количество структурных хромосомных аберраций ≥3, субклональная гетерогенность и неклональные аберрации.

Впервые выделены группы с высокой нестабильностью кариотипа: *ETV6::RUNX1*+ ВП-ОЛЛ, *BCR::ABL1*+ ВП-ОЛЛ, ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА и группа стабильного кариотипа: *KMT2A*+ ВП-ОЛЛ.

Впервые определены ДХА, ассоциированные с рецидивом в группе с высокой гипердиплоидией – abn7/loss7p22, abn9/loss9p, abn17/loss17p, i(17)(q10) и в группе ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА в отсутствии высокой гипердиплоидии (ВГ) и гиподиплоидии ≤44 («B-other») – t1q, t19p.

Впервые предложен критерий ≥3 структурные ХА как вариант сложного кариотипа, ассоциированного с рецидивом ВП-ОЛЛ у пациентов детского и молодого взрослого возраста.

Впервые проведен анализ и дана оценка частоты и структуры моносомного кариотипа при первичных ВП-ОЛЛ и рецидивах у пациентов детского и молодого взрослого возраста и установлена ассоциация МК(+)СК(+) кариотипа для группы «B-other».

Впервые показано, что нарастание субклональной гетерогенности (≥2 аберрантных субклона) происходит на этапе прогрессии первичного ВП-ОЛЛ в рецидив 1 и снижается при последующих рецидивах.

Положения, выносимые на защиту

1. Хромосомная нестабильность лейкемических клеток при первичных ВП-ОЛЛ представлена хромосомным дисбалансом у 86,3% пациентов, количеством структурных ХА ≥3 – у 26,8%, субклональной гетерогенностью – у 37,1% и неклональными аберрациями – у 9,1%. Высокая нестабильность кариотипа по указанным параметрам характерна для групп *ETV6::RUNX1*+, *BCR::ABL1*+ и ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА. Стабильный кариотип характерен для группы *KMT2A*+.

2. Частота встречаемости дополнительных ХА в группах *KMT2A*+ и *TCF3::PBX1*+ статистически значимо ниже по сравнению с группами *ETV6::RUNX1*+, *BCR::ABL1*+ и ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА. Значимый рост частоты дополнительных ХА характерен для рецидива ВП-ОЛЛ и отмечается перестройками: для высокой гипердиплоидии – abn7/loss7p22, abn9/loss9p, abn17/loss17p, i(17)(q10); для группы ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА в

отсутствии высокой гипердиплоидии и гиподиплоидии ≤44 («B-other») – t1q, t19p.

3. Частота встречаемости моносомного кариотипа (МК) возрастает в 1,9 раза при рецидиве «B-other» ВП-ОЛЛ ($p<0,05$) и МК ассоциирован со сложным кариотипом (СК), что позволяет рассматривать комбинацию МК(+)СК(+) как отдельный вариант сложного кариотипа. При рецидиве «B-other» и ВГ ВП-ОЛЛ отмечается значимый рост частоты СК в комбинации с ≥3 структурными ХА (СК≥3СХА), а в группе «B-other» ВП-ОЛЛ при рецидиве значимо увеличивается частота встречаемости МК(+)СК(+).

4. Частота встречаемости случаев с ≥2 аберрантными субклонами возрастает с 19,1% при первичном ВП-ОЛЛ до 45,6% при рецидиве 1 ($p=0,001$). Частота встречаемости ≥2 аберрантных субклонов в парных случаях рецидив 1 / рецидив 2 значимо не изменяется.

Личный вклад соискателя ученой степени

Совместно с научным руководителем определена тема, поставлена цель и сформулированы задачи, осуществлен выбор объекта, предмета и методов исследования, разработаны этапы диссертационного исследования. Диссертантом самостоятельно выполнено: анализ литературных данных; оценка актуальности; проведен сбор материала и кариотипирование образцов костного мозга (КМ) методами GTG и FISH; оптимизированы и внедрены методы диагностики исследуемых хромосомных аберраций на образцах КМ и ликвора; разработана инструкция по применению; проведен анализ данных и их интерпретация, а также статистическая обработка; формулирование выводов; публикация результатов исследования. Все основные научные результаты диссертации получены автором лично.

Диссертантом опубликованы основные научные результаты исследования, разработана 1 инструкция по применению, 3 рационализаторских предложения. Доля личного участия в публикациях составляет 85%.

Апробация результатов диссертации и информация об использовании ее результатов

Результаты диссертационного исследования доложены на научных форумах: школе-семинаре «Медицинские цитология и генетика в клинической практике» (Минск, 2025), VI объединенном конгрессе РОДОГ «Актуальные проблемы и перспективы развития детской онкологии и гематологии в Российской Федерации – 2025» (Москва, 2025), Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная биология и патологическая анатомия на службе современной онкологии» (Минск, 2025), VII объединенном конгрессе РОДОГ «Актуальные проблемы и перспективы развития детской онкологии и гематологии в Российской Федерации – 2026» (Москва, 2026).

Результаты диссертации внедрены в работу ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» (3 рационализаторских предложения, 1 инструкция по применению, 4 акта о внедрении).

Опубликованность результатов диссертации

По теме диссертации опубликовано 14 работ, в том числе 3 статьи в научных рецензируемых изданиях, соответствующих требованиям пункта 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, 2 статьи в рецензируемых журналах, не включенных в перечень, 8 тезисов и 1 инструкция по применению. Общий объем опубликованных материалов составляет 5,4 авторских листа.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 151 странице и состоит из введения, перечня сокращений и обозначений, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, материала и методов исследования, трех глав с изложением результатов собственных исследований, заключения и 9 приложений. Список цитируемой литературы включает 126 источников (7 – на русском языке, 119 – на английском языке) и 14 публикаций автора. Работа иллюстрирована 25 таблицами и 24 рисунками.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материал и методы исследований

Характеристика пациентов. В исследование включены 1002 пациента с первичным ВП-ОЛЛ, получившие лечение в ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» с 2002 по 2020 гг. В том числе включен 171 пациент с первым и последующим костномозговыми рецидивами ВП-ОЛЛ, диагностированными до 01.01.2025. Возраст пациентов на момент постановки первичного ВП-ОЛЛ варьировал от 1 дня до 29 лет (медиана – 4,7 лет) и от 5 месяцев до 32 лет (медиана – 9,4 года) на момент рецидива ВП-ОЛЛ. Соотношение по полу (мужской : женский) при первичном ВП-ОЛЛ и рецидиве ВП-ОЛЛ составило 1,15 : 1 и 1,44 : 1, соответственно. Медиана наблюдения от наступления ремиссии до развития рецидива составила 2,5 года (от 2 месяцев до 15 лет).

Исследуемые группы в зависимости от стадии заболевания:

1. Пациенты с первичным ВП-ОЛЛ (n=1002).
2. Пациенты с рецидивом ВП-ОЛЛ (n=171).
3. Парные случаи первичный ВП-ОЛЛ / рецидив 1 (n=68).
4. Парные случаи рецидив 1 / рецидив 2 (n=18).

По наличию рекуррентных ХА выделены 5 цитогенетических групп ВП-ОЛЛ: с t(12;21)/*ETV6::RUNX1*, t(1;19)/*TCF3::PBX1*, t(9;22)/*BCR::ABL1*, t(11;v)/

KMT2A::var и ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА. В группе ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА выделены подгруппы: ВГ (51–65), гиподиплоидия ≤44 и «B-other» ВП-ОЛЛ (рисунок 1).

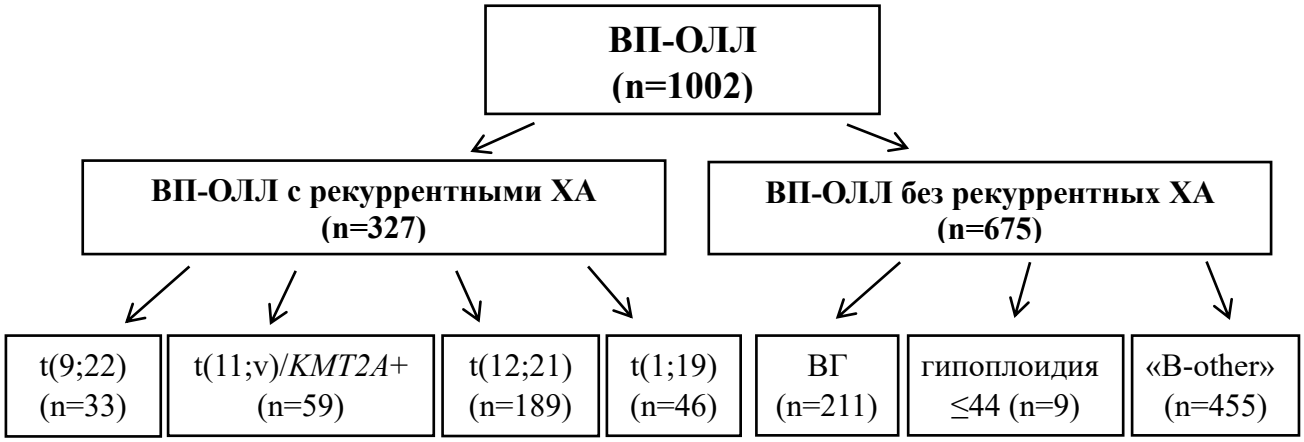


Рисунок 1 – Распределение пациентов на цитогенетические группы при первичном ВП-ОЛЛ

Исследуемые цитогенетические изменения. Для всех первичных ВП-ОЛЛ и при рецидиве для каждой генетической группы рассматривались: наличие и тип ДХА; варианты ХА; количество структурных ХА (СХА) на одну метафазу; СК; МК; МК в ассоциации с СК; анеуплоидии; неклональные аберрации; субклональная гетерогенность; клональная эволюция клеток.

Методы, использованные для анализа цитогенетических изменений. Метафазные пластинки получали путем культивирования мононуклеарных клеток КМ, выделенных на градиенте плотности Histopaque-1077, в концентрации $1{,}5 \times 10^6$ клеток/мл в полноценной питательной среде RPMI-1640, обогащенной 10% терминактивированной эмбриональной телячьей сывороткой и добавлением 1% L-глутамина и 1% антибиотика-антимикотика на протяжении 16–18 часов. С последующей обработкой колцемидом, гипотоническим раствором (0,55% KCl) и фиксацией с помощью фиксатора Карнуа (метанол-уксусная кислота – 3 : 1).

Для выявления ХА использовались методы GTG и FISH. Интерпретацию хромосомных нарушений и запись кариотипа проводили согласно рекомендациям международной номенклатуры ISCN. Клональными считались СХА или трисомии, выявленные в ≥2 метафазных пластинках, или моносомии, выявленные в ≥3 метафазных пластинках или подтвержденные методом FISH. К неклональным относили все аберрации хромосом, не относящиеся к клональным, включая хромосомные разрывы. Эффективным GTG считался в случаях с информативным кариотипированием ≥2 одинаковых аберрантных метафазных пластинок или при обнаружении ≥10 метафаз с нормальным кариотипом.

Молекулярно-генетическая панель для диагностики значимых химерных онкогенов методом ПЦР включала следующие мишени: *BCR::ABL1*, *ETV6::RUNX1, TCF3::PBX1* и перестройки гена *KMT2A.*

Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась при помощи пакета STATISTICA 7.0. Качественные переменные сравнивали с помощью критерия хи-квадрат и точного критерия Фишера (при значениях <5). Общую и бессобытийную выживаемость рассчитывали по методу Каплана-Майера, для сравнения кривых выживаемости использовали log-rank test. Статистически значимыми считали различия при p-value <0,05. Расчет порогового значения наличия аберрантного клона клеток (cut-off) выполнен в программе Microsoft Excel (функция БЕТА.ОБР с доверительным интервалом не менее 95%).

Результаты собственных исследований

Рекуррентные ХА у пациентов детского и молодого взрослого возраста с первичными ВП-ОЛЛ. Рекуррентные ХА детектированы у 32,6% пациентов с первичным ВП-ОЛЛ: *ETV6::RUNX1* выявлен у 18,9% пациентов, *TCF3::PBX1* – у 4,6%, *BCR::ABL1* – у 3,3% и *KMT2A+* – у 5,9%, что соответствует данным литературы. Клинически значимые анеуплоидии определялись в группе ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА с успешным GTG (n=401) и были выявлены с частотой 52,6% (ВГ) и 2,2% (гипоплоидия ≤44). За все годы частота успешных GTG составила 61,1%, однако использование новых методов культивирования и диагностики повысило эффективность цитогенетического исследования до 91% в период с 2018 по 2020 гг.

У молодых взрослых, в сравнении с пациентами детского возраста, частота неблагоприятных кариотипов – *KMT2A+* (p<0,01), *BCR::ABL1+* (p<0,001) и низкой гипердиплоидии (НГ) (p<0,05) выше, а благоприятных *ETV6::RUNX1+* (p<0,001) и ВГ (p<0,01) кариотипов – ниже. Однако пик заболеваемости *KMT2A+* ВП-ОЛЛ приходится на младенческий возраст, в отличие от *BCR::ABL1+*. *KMT2A+* характеризуются разнообразием генов-партнеров, вовлеченных в транслокацию с геном *KMT2A*, а наиболее частыми вариантами при ВП-ОЛЛ являются t(4;11) (37,3%), t(11;19) (28,8%) и t(9;11) (16,9%). У пациентов старше 18 лет чаще детектирована t(4;11) (80%), у пациентов младше 18 лет – t(11;19) (30,6%) (p<0,01).

Дополнительные цитогенетические изменения при первичных ВП-ОЛЛ. Наличие как минимум одной ДХА выявлено у 87,3% пациентов среди всех первичных ВП-ОЛЛ и различается в зависимости от генетического варианта ВП-ОЛЛ. В группах *KMT2A+* (53,1%) и *TCF3::PBX1+* (60,5%), частота встречаемости ДХА детектирована значимо ниже в сравнении с *BCR::ABL1+* (88,5%), *ETV6::RUNX1+* (95,4%) и ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА (91,8%) (p<0,05) (рисунок 2).

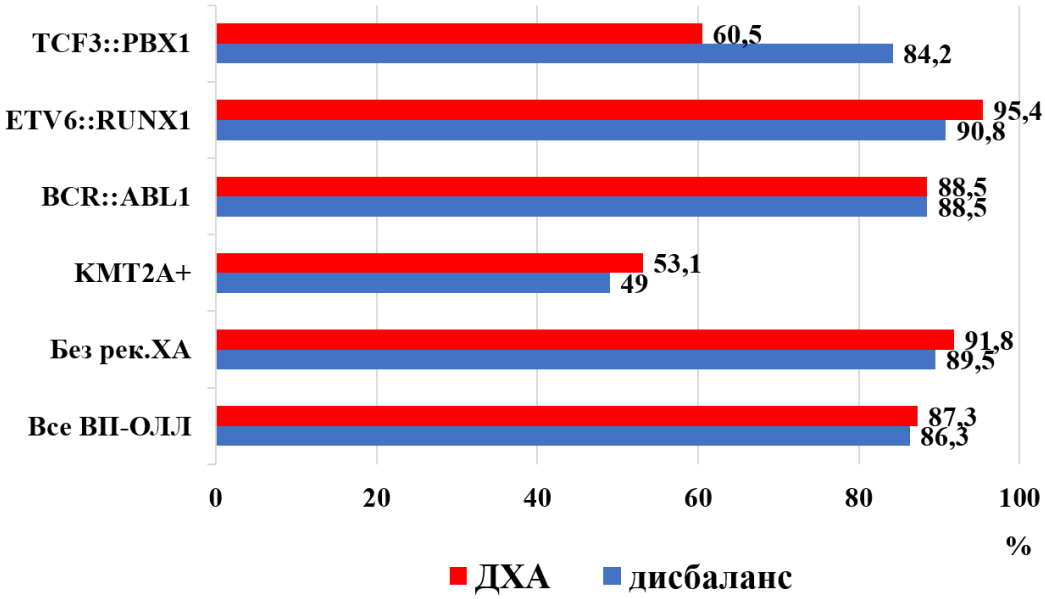


Рисунок 2 – Частота встречаемости ДХА и хромосомного дисбаланса при первичных ВП-ОЛЛ

Хромосомный дисбаланс выявлен у 86,3% всех ВП-ОЛЛ и определялся наличием и типом ХА. Высокая частота хромосомного дисбаланса характерна для всех вариантов первичных ВП-ОЛЛ (84,2–90,8%), кроме *KMT2A+* (49%) ($p<0,05$). Структура кариотипа различалась в группах ВП-ОЛЛ. Так, у 18,4% пациентов с первичным *KMT2A+* выявлены изолированные добавочные числовые ХА (ЧХА), в отличие от остальных групп с рекуррентными ХА, где данный вариант дисбаланса отсутствовал (*BCR::ABL1+* и *TCF3::PBX1+*) или детектирован с низкой частотой (8,3% при *ETV6::RUNX1+*) ($p<0,05$). В группе *TCF3::PBX1+* дисбаланс в большинстве случаев (73,7%) обусловлен наличием der(19)t(1;19), в других группах – наличием ДХА.

Наличие ≥3 СХА (СК≥3СХА) выявлено у 26,8% пациентов с первичным ВП-ОЛЛ. Наибольшая частота кариотипа СК≥3СХА выявлена в группе *ETV6::RUNX1+* (41,8%), а в группе *KMT2A+* – у 14,3% пациентов, что значимо меньше в сравнении с группами с *ETV6::RUNX1+*, *TCF3::PBX1+* и ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА ($p<0,05$). В группах *BCR::ABL1+*, *TCF3::PBX1+* и ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА частота встречаемости данного кариотипа составила 30,8%, 34,2% и 23,7%, соответственно.

Субклональная гетерогенность (≥2 аберрантных субклона) выявлена у 37,1% пациентов с первичным ВП-ОЛЛ и выявлены различия в субпопуляционной структуре исследуемых групп. Наименьшая гетерогенность детектирована в группе *KMT2A+* (16,3%), наибольшая – *ETV6::RUNX1+* (54,3%) ($p<0,0001$). В группах *BCR::ABL1+*, *TCF3::PBX1+* и ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА частота составила 40,7%, 31,6% и 34,5%, соответственно.

К неклональным аберрациям относили единичные ХА или комплекс ХА с не подтвержденной методом FISH клональностью. Неклональные аберрации детектированы у 9,1% пациентов с первичным ВП-ОЛЛ. Наименьшее количество неклональных ХА выявлено у пациентов с первичным *KMT2A+* (2%), наибольшее – с *ETV6::RUNX1+* (18,4%) ($p<0,01$). У пациентов с *BCR::ABL1+*, *TCF3::PBX1+* и ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА частота составила 11,5%, 2,6% и 8%, соответственно.

Сравнение кариотипов по модальному числу хромосом показало высокую частоту псевдодиплоидного варианта кариотипа и низкую – ВГ для всех групп с рекуррентными ХА, в сравнении с группой ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА ($p<0,05$). Феномен гиподиплоидии ≤44 характерен только для ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА.

Определены СХА, ассоциированные как с определенными группами ВП-ОЛЛ, так и общие для всех групп. Так, общими ДХА для большинства групп явились del6q и abn9p/del9p, а более специфичными – t1q, dup1q, i(17)(q10) (для ВГ), t7p (для гипоплоидии ≤44), t7q, der12p/loss12p, t14q32, der21q (для «B-other»), del12p/*ETV6* (для *ETV6::RUNX1+*), +der(22)t(9;22) (для *BCR::ABL1+*).

Выявлены отличия в паттернах ЧХА в группах ВП-ОЛЛ. Наиболее частыми ЧХА при ВГ являются добавочные хромосомы X (52,6%), 4 (46%), 6 (65,9%), 10 (36%), 14 (42,2%), 17 (39,3%), 18 (41,7%) и 21 (70,6%). Дополнительные 21 хромосомы, в отличие от остальных хромосом, чаще выявляют в виде тетрасомий (44,1%) и в 2,8% случаев – пентасомий. В отсутствие митозов или при нормальном кариотипе (НК) обнаружение ≥5 сигналов гена *AML1* может указывать на наличие iAMP21, поэтому в случае неинформативного GTG необходимо использовать метод FISH для дифференциальной диагностики пентасомии 21 с iAMP21. ДНК-проба к теломерному региону 21q предпочтительнее центромерных проб (вследствие гомологии центромерных регионов хромосом 13 и 21). Использование иных локус-специфических проб в регионе 21q нецелесообразно из-за малой протяженности региона 21q, в связи с чем контрольные гены могут быть коамплифицированы с геном *AML1*. В группе «B-other» чаще выявлены трисомии X (5,5%) и 21 (7,2%) хромосом, как и во всех остальных группах ВП-ОЛЛ, реже – трисомии 8 (1,7%) и моносомии половых (4%), 7 (2,2%), 9 (3,3%), 12 (2,2%), 13 (2,8%), 15 (2,8%), 20 (3,3%) хромосом, однако не выявлено случаев трисомии 6, в отличие от группы с ВГ. Полученные результаты можно применять при диагностике первичных ВП-ОЛЛ с ВГ, используя метод FISH в случаях с неэффективным GTG. При гипоплоидии ≤44 чаще детектированы моносомии 9 (66,7%), 13 (55,6%), 15 (55,6%), 17 (66,7%) и 20 (66,7%).

Определение генов тирозинкиназ, рецепторов цитокинов и иных определенных цитогенетических перестроек. Для определения перестроек генов

тирозинкиназ и рецепторов цитокинов (*ABL1*, *ABL2*, *PDGFRB*, *JAK2*, *CRLF2* и *NTRK3*), а также иных определенных перестроек генов, использовались ДНК-пробы для выявления разрывов (break-apart), позволяющие выявить реаранжировки генов независимо от гена-партнера. Наиболее часто детектированы перестройки генов *IGH* (31,7%), *CRLF2* (15%) и *ZNF384* (6,6%). Реаранжировки гена *PAX5* анализировались только при наличии деривата 9p и были выявлены в 50% исследованных случаев, еще в 25% выявлена полная потеря гена *PAX5* в результате несбалансированной транслокации с вовлечением региона 9p13. Большая часть реаранжировок гена *CRLF2* (84,2%) представлена в виде делеции региона PAR1 с образованием химерного гена *P2RY8::CRLF2* и только в 15,8% случаев выявлена сбалансированная перестройка гена *CRLF2* (*IGH::CRLF2*). У 76,3% пациентов с реаранжировкой гена *IGH* данная перестройка детектирована в несбалансированном виде.

Анализ прогностического значения показал, что вероятность наступления неблагоприятного события (рецидив, смерть пациента) значимо выше у пациентов с перестройками *CRLF2*, *PAX5* и *IGH*, чем у пациентов без данных перестроек ($p<0,05$), в то время как анализ прогностического значения перестроек гена *ZNF384* не показал статистически значимых различий. Перестройки генов *ABL1*, *ABL2*, *PDGFRB*, *JAK2*, *NTRK3* и перестройка гена *MEF2D* были выявлены в ≤1% случаев, а перестройки гена *TCF3* (не связанные с *TCF3::PBX1* и *TCF3::HLF)* – в 1,7%, в связи с чем было невозможно оценить их прогностическое значение.

На основании полученных данных разработан и внедрен в работу Центра детской онкологии, гематологии и иммунологии метод диагностики острого лимфобластного лейкоза с учетом реаранжировок генов тирозинкиназ и рецепторов цитокинов, который позволяет не только детектировать все рекуррентные ХА согласно действующей классификации ВОЗ (2022), но и снизить расходы на определение реаранжировок генов тирозинкиназ, рецепторов цитокинов на 70% [14–А].

Изменение структуры кариотипа при рецидиве. Выявлено изменение структуры кариотипа при рецидивах в сравнении с группой первичных ВП-ОЛЛ за счет увеличения частоты встречаемости кариотипов с *KMT2A+* ($p<0,001$), *BCR::ABL1+* ($p<0,01$) и уменьшения – *ETV6::RUNX1+* ($p<0,001$) (рисунок 3). При рецидивах ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА значимо увеличивалась частота гиподиплоидии ≤44 ($p<0,001$) и снижалась частота ВГ ($p<0,01$). Однако несмотря на существенное снижение ВГ, данный кариотип сохранялся на высоком уровне (36%) среди всех рецидивов. Также наблюдалась тенденция к увеличению частоты НГ ($p=0,07$) и гипоплоидии =45 ($p=0,053$), что делает их потенциальными мишенями при поиске новых маркеров стратификации.

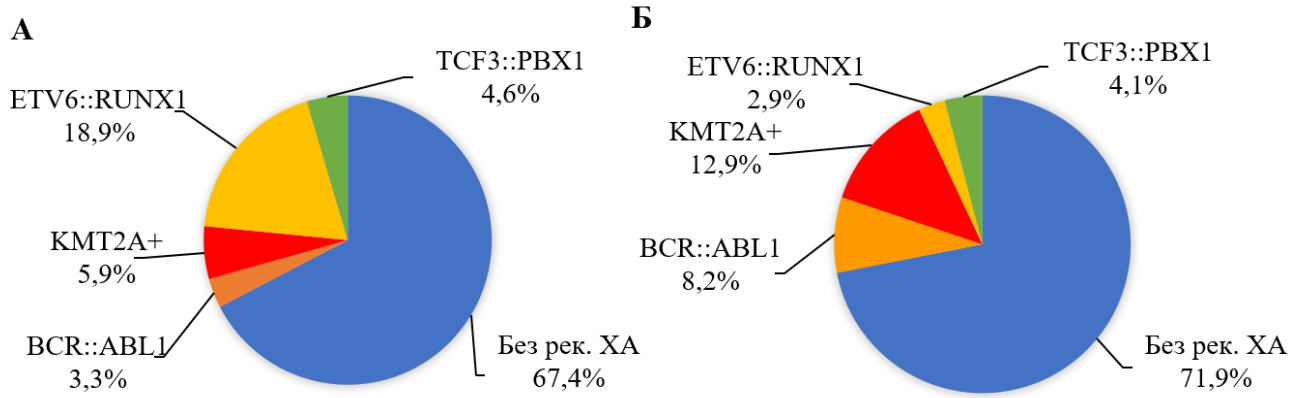


Рисунок 3 – Структура кариотипа при первичных ВП-ОЛЛ (А) и при рецидиве (Б)

При рецидиве ВП-ОЛЛ выявлено изменение структуры дисбаланса за счет увеличения частоты несбалансированных СХА (как в изолированном виде, так и в сочетании с ЧХА). Показано статистически значимое увеличение частоты дисбаланса по смешанному типу (несбалансированные СХА + ЧХА) при рецидиве всех ВП-ОЛЛ (с 41% до 56%; $p<0,01$). Наиболее значительное увеличение частоты дисбаланса по смешанному типу наблюдалось в рецидиве группы ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА (с 48,9% до 65,1%; $p<0,01$). При рецидивах ВП-ОЛЛ кариотип группы *KMT2A+* являлся наиболее сбалансированным в сравнении со всеми другими группами (дисбаланс в 60% и 88,9–100% рецидивов, соответственно). Установлено, что частота дисбаланса при рецидиве *KMT2A+* значимо ниже, чем при рецидиве ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА (60% и 89,5%, $p<0,01$).

Изменение сложности кариотипа при рецидиве. Показано увеличение количества ХА (≥3 СХА) в пределах одного субклона с 26,8% при первичном ВП-ОЛЛ до 42,7% при рецидиве ($p<0,001$) во всех группах, кроме *ETV6::RUNX1+* (41,8% и 0%). Однако статистически значимые различия выявлены только в группе ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА. При рецидиве группы ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА частота ≥3 СХА возрастает с 23,7% до 46,5% ($p<0,0001$), ≥4 СХА – с 13% до 27,9% ($p<0,001$), ≥5 СХА – с 7,2% до 15,1% ($p<0,05$).

Проведено сравнение двух вариантов СК: СК, как ≥3 несвязанных СХА (СК≥3СХА) и СК, оцениваемый как наличие любых ≥3 несвязанных любых ХА с как минимум одной структурной перестройкой (СК≥1СХА). Сравнение частот для вариантов СК≥1СХА и СК≥3СХА в различных группах ВП-ОЛЛ приведено в таблице 1.

При рецидиве всех ВП-ОЛЛ было показано значимое увеличение частоты как варианта СК≥1СХА (с 48,5% для всех первичных ВП-ОЛЛ до 60,7% при рецидиве, $p<0,05$), так и СК≥3СХА (с 26,8% до 42,7%, $p<0,001$).

Таблица 1 – Частота встречаемости вариантов СК в группах ВП-ОЛЛ

Цитогенетические группы	СК≥1СХА		СК≥3СХА	
	Первичный ВП-ОЛЛ, n (%)	Рецидив ВП-ОЛЛ, n (%)	Первичный ВП-ОЛЛ, n (%)	Рецидив ВП-ОЛЛ, n (%)
t(12;21)/*ETV6::RUNX1*	54/98 (55,1)	0/4 (0)*	41/98 (41,8)	0/4 (0)
t(1;19)/*TCF3::PBX1*	18/38 (47,4)	2/3 (66,7)	13/38 (34,2)	2/3 (66,7)
t(9;22)/*BCR::ABL1*	18/26 (69,2)	6/9 (66,7)	8/26 (30,8)	3/9 (33,3)
t(11;v)/*KMT2A::v*	11/49 (22,5)	6/15 (40)	7/49 (14,3)	5/15 (33,3)
ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА	196/401 (48,9)	57/86 (66,3)*	95/401 (23,7)	40/86 (46,5)*
ВГ (51–65)	136/211 (64,5)	29/32 (90,6)*	55/211 (26,1)	15/32 (46,9)*
гипоплоидия ≤44	6/9 (66,7)	5/7 (71,4)	3/9 (33,3)	4/7 (57,1)
«B-other»	54/181 (29,8)	23/47 (48,9)*	37/181 (20,4)	21/47 (44,7)*
Все ВП-ОЛЛ	297/612 (48,5)	71/117 (60,7)*	164/612 (26,8)	50/117 (42,7)*

Примечание: * – p-value <0,05, между первичным ВП-ОЛЛ и рецидивом

Статистически значимые различия для обоих вариантов СК были получены в группе ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА. Детальный анализ вариантов кариотипа, входящих в данную группу, подтвердил значимое увеличение частоты обоих вариантов СК в подгруппах «B-other» и ВГ при рецидиве заболевания в сравнении с первичным ВП-ОЛЛ ($p<0,05$), но не с гиподиплоидией ≤44.

Изменение частоты встречаемости МК. Моносомный кариотип, согласно Breems D. A. et al. (2008), кариотип с ≥2 аутосомными моносомиями или одной аутосомной моносомией в сочетании как минимум с одной СХА. Данный кариотип описан как неблагоприятный вариант кариотипа при МДС и ОМЛ, однако слабо изучен при ОЛЛ, и в основном данные получены для взрослых пациентов и Т-ОЛЛ.

Проведен анализ частоты встречаемости как изолированно МК, так и в сочетании с СК. Из анализа были исключены случаи с ВГ и гипоплоидией ≤44 (как отдельный вид анеуплоидий). Выявлено увеличение частоты МК с 15,8% при первичном ВП-ОЛЛ до 25,6% при рецидиве ($p<0,05$) для всех ВП-ОЛЛ. Однако статистически значимые различия выявлены только в группе «B-other» (с 15,5% до 29,8%; $p<0,05$). Частота МК при первичном ВП-ОЛЛ и при рецидиве для групп с рекуррентными ХА была сопоставима.

По наличию МК и/или СК кариотипов исследуемые случаи были разделены на 4 группы: МК(–)/СК(–), МК(–)/СК(+), МК(+)/СК(–) и МК(+)/СК(+). В сочетании с МК анализировалось оба варианта СК кариотипа (СК≥1СХА и СК≥3СХА) для всех групп ВП-ОЛЛ. Однако значимое увеличение частоты

МК(+)/СК(+) кариотипа при рецидиве выявлено только в группе «B-other» для варианта кариотипа с СК≥3СХА (с 9,9% до 23,4%, p<0,05) (рисунок 4).

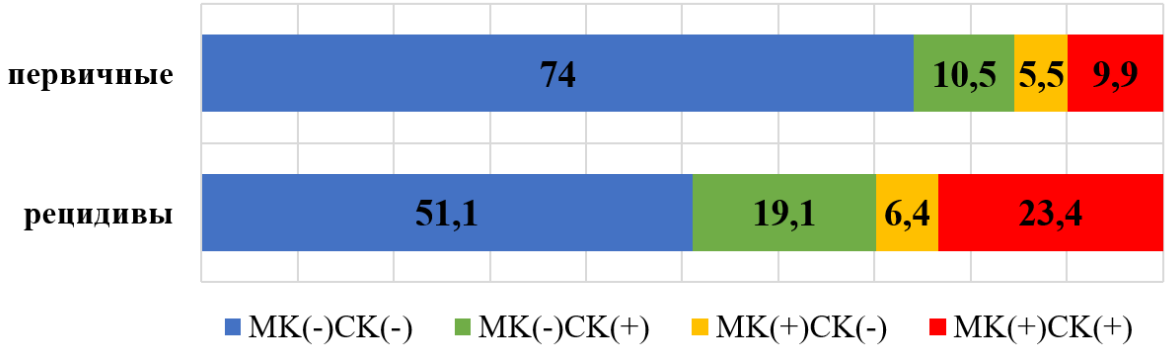


Рисунок 4 – Изменение частоты встречаемости вариантов моносомных кариотипов в группе «B-other» с СК≥3СХА

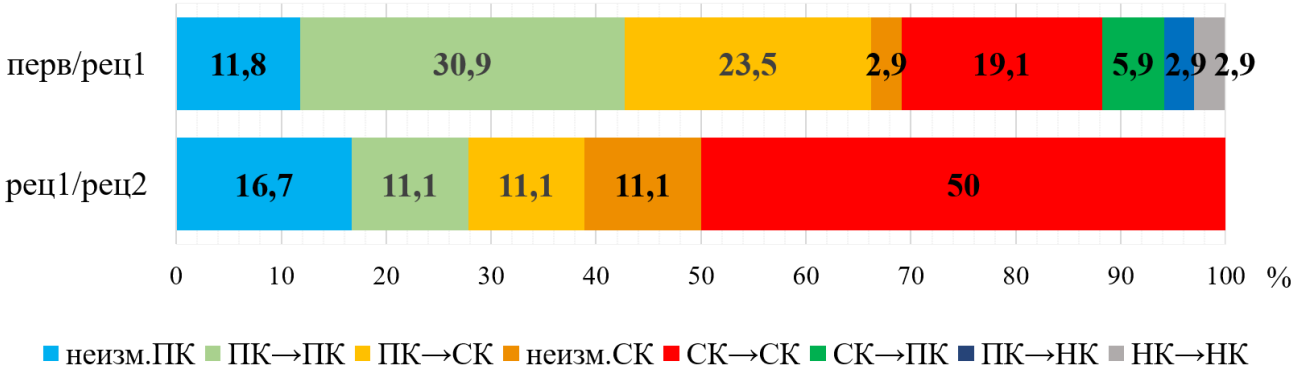
В группе «B-other» около 90% выявляемых МК сочеталось с кариотипом СК≥1СХА (89,9% первичных и 85,7% рецидивов), или более чем в половине случаев – с СК≥3СХА (в 64,3% первичных и 78,6% рецидивов).

Определение паттернов ДХА, ассоциированных с рецидивом. При рецидиве *KMT2A*+ ВП-ОЛЛ выявлена тенденция к увеличению частоты abn7p/loss7p (p=0,079), а также детектированы повторяющиеся ХА, не выявляемые при первичном ВП-ОЛЛ: –9 и несбалансированные t1q, приведшие к удвоению 1q23::1qter (p=0,052). При рецидиве *BCR::ABL1*+ ВП-ОЛЛ наблюдалось не значимое увеличение частоты +21 с 7,4% до 33,3%. Частота +der(22)t(9;22), описываемого при *BCR::ABL1*+ как неблагоприятный маркер, снизилась с 30,8% при первичном ВП-ОЛЛ до 11% при рецидиве. При рецидиве ВП-ОЛЛ с гипоплоидией ≤44 выявлено повышение частоты del6q с 11,1% до 42,9%, однако статистически значимых различий не достигнуто (p>0,05). При рецидиве ВП-ОЛЛ с ВГ выявлено увеличение частоты СХА с вовлечением хромосомных регионов 7p/loss7p22 (p<0,05), 17p/loss17p (p<0,05) (в том числе i(17)(q10), p<0,01), а также abn9p/loss9p (p<0,01). Для группы «B-other» характерно большое количество повторяющихся ДХА, частота встречаемости которых при рецидиве существенно не изменялось в сравнении с первичными ВП-ОЛЛ. Значимое увеличение частоты показано только для t1q (p<0,05) и t19p (p<0,01), большая часть которых (>60%) являлась несбалансированными. При рецидиве в группе «B-other» ВП-ОЛЛ не отмечено увеличения частоты таких ХА, как derXp/*CRLF2*+, del6q, der9p/loss9p, der12p/loss12p и der17p/loss17p в сравнении с первичным ВП-ОЛЛ.

Клональная эволюция. Изменения кариотипа выявлены в 83,8% парных случаев первичный ВП-ОЛЛ / рецидив 1 и в 72,2% парных случаев рецидив 1 / рецидив 2. Для большинства проанализированных пар была характерна

клональная прогрессия (67,8% пар первичный ВП-ОЛЛ / рецидив 1 и 61,1% пар рецидив 1 / рецидив 2), как изолированная (38,2% и 50%, соответственно), так и в сочетании с клональной регрессией (29,4% и 11,1%).

Изменение сложности кариотипа в парных случаях. Для оценки изменения сложности кариотипа учитывали динамику изменений из простого кариотипа (ПК) в СК, или наоборот. При этом СК оценивался как СК≥3СХА, а ПК – как любой аберрантный кариотип с ≤2 СХА. Были определены следующие варианты: 1) неизмененный ПК; 2) изменение ПК с образованием нового ПК; 3) переход из НК или ПК в СК; 4) неизмененный СК; 5) изменение СК с образованием нового СК; 6) упрощение СК до ПК; 7) переход из ПК в НК (потеря ДХА); 8) неизмененный НК (рисунок 5).



СК – вариант сложного кариотипа с ≥3СХА, НК – нормальный кариотип

Рисунок 5 – Изменение сложности кариотипа в парных случаях

Частота СК возрастала с 27,9% до 45,5% ($p<0,05$) в парах первичный ВП-ОЛЛ / рецидив 1 и с 61,1% до 72,2% в парах рецидив 1 / рецидив 2. Суммарно частота СК во втором и последующих рецидивах выше и составляет 72,2% за счет того, что в более чем половине случаев (61,1%) лейкемические клетки до события имели СК.

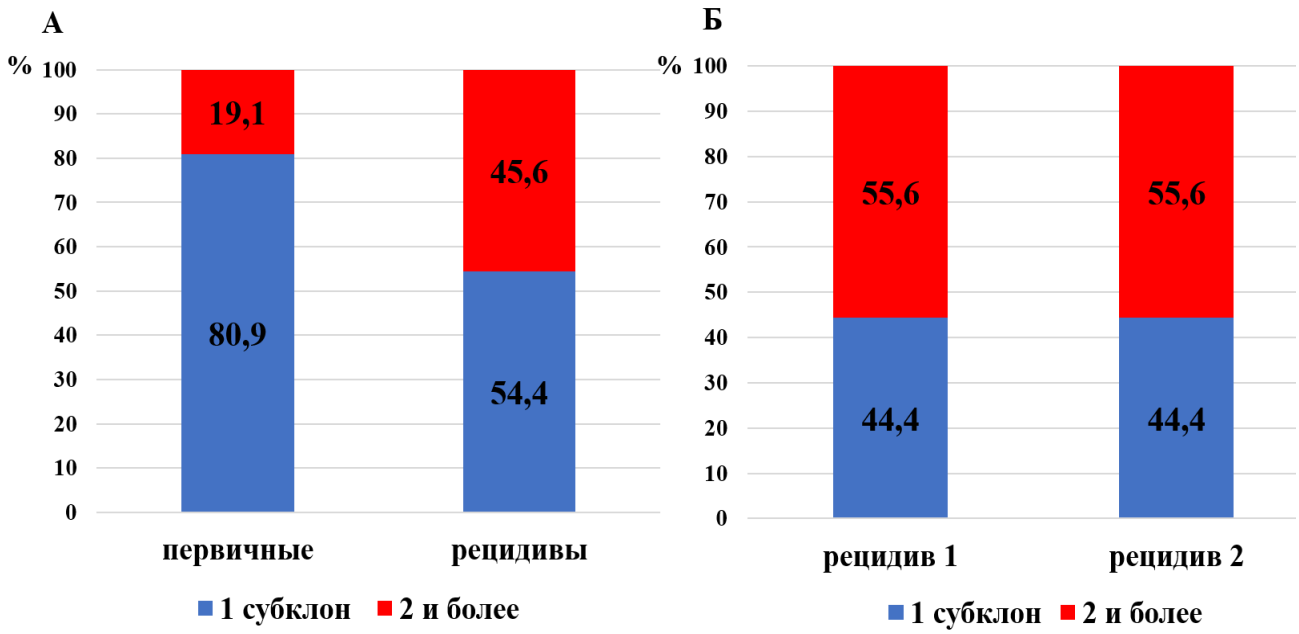
Выявлены отличия по наличию СК в парных случаях для групп ВП-ОЛЛ. Наименьшая частота СК выявлена при *KMT2A*+ ВП-ОЛЛ (по 9,1% при первичных ВП-ОЛЛ и при рецидиве для обоих вариантов СК). В группе ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА выявлено увеличение частоты СК при рецидиве, как для СК≥1СХА (с 34% до 66%; $p<0,01$), так и для СК≥3СХА (с 27,7% до 46,8%; $p=0,055$). При *BCR::ABL1*+ ВП-ОЛЛ частота СК≥3СХА составила 42,9% при первичных ВП-ОЛЛ и 57,1% при рецидиве.

Изменение паттерна ДХА в парных случаях. Анализ ранее выявленных повторяющихся ДХА показал, что такие изменения, как gain1q, del6q, del9p, abn17p/loss17p и imb17p/17q, сохраняются при рецидиве более чем в 85% (87,5–100%) случаев. Кроме того, обнаружены случаи возникновения *de novo* данных аберраций при рецидиве 1 и в последующих рецидивах. Таким образом,

перечисленные ДХА могут служить маркерами при цитогенетической диагностике рецидива с использованием молекулярно-цитогенетических методов исследования в случае неэффективного GTG.

Субклональная гетерогенность. Динамику субпопуляционного состава оценивали как увеличение или уменьшение количества субклонов от исходного. Анализ динамики показал увеличение количества выявляемых субклонов в 33,8% парных случаев первичный ВП-ОЛЛ / рецидив 1 и в 16,6% парных случаев рецидив 1 / рецидив 2, что подтверждает предыдущие данные о снижении темпа усложнения кариотипа в дальнейших рецидивах.

Для анализа субклональной гетерогенности проводилось сравнение случаев с одним и ≥2 аберрантными субклонами (рисунок 6).



А – в парных случаях первичный ВП-ОЛЛ / рецидив 1;
Б – в парных случаях рецидив 1 / рецидив 2

Рисунок 6 – Частота встречаемости случаев с одним и ≥2 аберрантными субклонами

Выявлено значимое увеличение частоты ≥2 субклонов в парах первичный ВП-ОЛЛ / рецидив 1 с 19,1% до 45,6% ($p<0,01$). При последующих рецидивах частота гетерогенных случаев не изменялась (55,6%) и в 90% случаев с ≥2 субклонами при рецидиве 2, наличие субклональной гетерогенности было выявлено при рецидиве 1.

Проведена оценка субклональной структуры для разных цитогенетических групп ВП-ОЛЛ в парных случаях первичный ВП-ОЛЛ / рецидив 1. Установлено, что гетерогенность субклональной структуры возрастает во всех группах, однако с разной частотой. Значимое увеличение количества случаев с ≥2 аберрантными

субклонами наблюдается в группах: *KMT2A+* (с 0% до 36,4%), *BCR::ABL1+* (с 14,3% до 71,4%) и ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА (с 23,4% до 42,6%) ($p \leq 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Высокий уровень хромосомной нестабильности в кариотипе лейкемических клеток на этапе диагностики первичных ВП-ОЛЛ проявлялся в виде хромосомного дисбаланса у 86,3% пациентов, ≥3 структурных хромосомных аберраций (СХА) на метафазу – у 26,8%, субклональной гетерогенности – у 37,1% и неклональных аберрациях – у 9,1%. Были выявлены отличия в структуре кариотипа и уровне хромосомной нестабильности в возрастных группах и вариантах ВП-ОЛЛ. Наиболее нестабильные кариотипы по указанным параметрам характерны для групп *ETV6::RUNX1+* ВП-ОЛЛ (в 90,8%, 41,8%, 54,3%, 18,4%, соответственно), *BCR::ABL1+* ВП-ОЛЛ (88,5%, 30,8%, 40,7%, 11,5%) и ВП-ОЛЛ без рекуррентных хромосомных аберраций (ХА) (89,5%, 23,7%, 34,5%, 8%), тогда как наиболее стабильный кариотип присущ *KMT2A+* ВП-ОЛЛ (49%, 14,3%, 16,3%, 2%). Для всех ВП-ОЛЛ с рекуррентными ХА характерна высокая частота встречаемости псевдодиплоидного кариотипа и низкая – высокой гипердиплоидии (ВГ) в сравнении с ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА ($p<0,05$), для которого характерен феномен гиподиплоидии ≤44 [1–А; 2–А; 4–А; 6–А; 7–А; 9–А; 10–А; 11–А].

2. Дополнительные ХА (ДХА) выявлены у 87,3% пациентов с первичными ВП-ОЛЛ и у 86,2% пациентов с рецидивом и включали как общие неспецифические ХА, так и специфические ХА, ассоциированные с определенными цитогенетическими группами. В группе *KMT2A+* ДХА выявлены у 53,1% пациентов, в группе *TCF3::PBX1+* – у 60,5%, что ниже по сравнению с группами *ETV6::RUNX1+* (95,4%), *BCR::ABL1+* (88,5%), ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА (91,8%) ($p<0,05$) и указывает на значимую роль вторичных цитогенетических изменений в данных группах. Детектированы ДХА, частота встречаемости которых значимо возрастает при рецидиве: в группе «B-other» – t1q и t19p; в группе ВГ – abn7/loss7p, abn9/loss9p, abn17/loss17p, i(17)(q10) ($p<0,05$) [1–А; 2–А; 3–А; 5–А; 6–А; 7–А; 8–А; 9–А; 10–А; 12–А; 13–А].

3. Анализ цитогенетического материала у пациентов детского и молодого взрослого возраста с рецидивом ВП-ОЛЛ позволил установить изменение структуры кариотипа за счет снижения частоты встречаемости благоприятных кариотипов *ETV6::RUNX1+* и ВГ, а также роста неблагоприятных кариотипов *KMT2A+*, *BCR::ABL1+*, гиподиплоидии ≤44 по сравнению с первичным ВП-ОЛЛ ($p<0,01$). Наибольший вклад в увеличение степени хромосомного дисбаланса при рецидивах вносят структурные ХА, как в изолированном виде, так и в сочетании с числовыми ХА ($p<0,05$). Наиболее сбалансированным при рецидиве

является кариотип группы *KMT2A+* ВП-ОЛЛ с уровнем дисбаланса 60%, что значимо ниже в сравнении с группой ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА (89,5%) ($p<0,01$) [2–А; 9–А; 10–А].

4. Число СХА на метафазную пластинку в группе ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА значимо возрастает при рецидиве заболевания: частота встречаемости ≥3 СХА увеличилась с 23,7% при первичном ВП-ОЛЛ до 46,5% при рецидиве ($p<0,0001$), ≥4 СХА – с 13% до 27,9% ($p<0,001$), ≥5 СХА – с 7,2% до 15,1% ($p<0,05$). Детальный анализ вариантов, входящих в данную группу, показал, что статистически значимые различия для кариотипа ≥3 СХА были достигнуты в группах с ВГ (с 26,1% до 46,9%) и «B-other» (с 20,4% до 44,7%) ($p<0,05$), но не в группе с гипоплоидией ≤44. Сравнение вариантов сложного кариотипа (СК) – СК≥3СХА и СК≥1СХА (оцениваемый как наличие любых ≥3 несвязанных ХА с как минимум одной СХА), показал увеличение обоих вариантов кариотипа ($p<0,05$). Это позволяет рассматривать данные СК, как потенциальные маркеры прогноза для групп «B-other» и ВГ [2–А; 3–А; 11–А; 12–А].

5. Частота встречаемости моносомного кариотипа (МК) при рецидиве ВП-ОЛЛ выше в сравнении с первичным ВП-ОЛЛ ($p<0,05$), при этом частота МК отличается в исследованных цитогенетических группах. Значимое увеличение частоты МК установлено только для группы «B-other» (с 15,5% до 29,8%, $p<0,05$), в которой МК до 90% случаев сочетался с кариотипом СК≥1СХА (89,9% первичных ВП-ОЛЛ и 85,7% рецидивов) и более чем в 60% случаев – с СК≥3СХА (64,3% первичных ВП-ОЛЛ и 78,6% рецидивов). Частота встречаемости МК в сочетании с СК≥3СХА (МК(+)СК(+)) в группе «B-other», выше при рецидиве (23,4%) в сравнении с первичным ВП-ОЛЛ (9,9%) ($p<0,05$). Данный кариотип может рассматриваться как отдельный вариант СК и потенциальный маркер прогноза [2–А].

6. В парных случаях первичный ВП-ОЛЛ / рецидив 1 выявлено усложнение кариотипа ($p<0,05$) при рецидиве 1 в сравнении с первичным ВП-ОЛЛ с последующим снижением динамики в парных случаях рецидив 1 / рецидив 2 ($p>0,05$), что сопровождалось суммарным накоплением СК в популяции лейкемических клеток (до 45,5% при рецидиве 1 и до 72,2% при рецидиве 2). Помимо усложнения кариотипа в пределах одного субклона, выявлено увеличение субклональной гетерогенности. При рецидиве в парных случаях первичный ВП-ОЛЛ / рецидив 1 частота встречаемости событий с ≥2 аберрантными субклонами возросла с 19,1% до 45,6% ($p<0,01$), тогда как при дальнейших рецидивах данный феномен не проявлялся и 90% случаев со сложной субклональной структурой при рецидиве 2 изначально содержали ≥2 субклона в рецидиве 1. Вторичные цитогенетические изменения gain1q, del6q, del9p, abn17p/loss17p и imb17p/17q, выявленные при первичном ВП-ОЛЛ,

сохранялись при рецидиве 1 в более чем 85% (87,5–100%) и могут служить маркерами при диагностике рецидива с использованием молекулярно-цитогенетических методов исследования (FISH, CGH) [3–A; 11–A; 13–A].

7. Использование комплексного подхода с применением методов GTG, FISH и ПЦР при диагностике первичного ВП-ОЛЛ позволяет определить весь спектр цитогенетических изменений и детектировать основные генетические маркеры стратификации по группам риска и скрытые анеуплоидии, а также повысить эффективность цитогенетического исследования вторичных ХА [1–A; 3–A; 4–A; 5–A; 6–A; 7–A; 8–A; 9–A; 10–A].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Для стратификации пациентов с первичным ВП-ОЛЛ по группам терапевтического риска рекомендуется использовать метод определения рекуррентных ХА, изложенный в инструкции по применению «Метод диагностики острого лимфобластного лейкоза с учетом реаранжировок генов тирозинкиназ и рецепторов цитокинов» (№ 114-1124 от 26.05.2025 г.) [14–A].

Для детекции «скрытой» высокой гипердиплоидии, в случаях с неэффективным стандартным цитогенетическим исследованием или при нормальном кариотипе, целесообразно использовать сочетание ДНК-проб для определения трисомий 4, 10, 17, 21, как основной диагностической панели, и трисомий 6, 14, 18, как дополнительной панели [1–A; 2–A; 14–A].

Разработанный метод диагностики интрахромосомной амплификации 21 (iAMP21) в клетках первичных ВП-ОЛЛ следует использовать для определения iAMP21 и проведения дифференциальной диагностики с пентасомией. Рекомендовано применять сочетание ДНК-проб LSI ETV6/RUNX1 DC в сочетании с TEL21q [1–A; 14–A].

При наличии gain1q, del6q, der9p/loss9p, der17p/loss17p в кариотипе первичных ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА целесообразно использование данных маркеров при диагностике рецидива в случае неэффективного кариотипирования с использованием молекулярно-цитогенетических методов исследования (FISH, CGH) [3–A].

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

Статьи в научных изданиях, соответствующих части первой пункта 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий

1–А. Цитогенетические изменения в лейкемических клетках пациентов детского и молодого взрослого возраста с первичным острым лимфобластным лейкозом из В-клеток-предшественников (по результатам долгосрочного исследования контингента пациентов с ВП-ОЛЛ Республики Беларусь) / Е. В. Волочник, Д. Р. Капуза, О. С. Вшивкова, Т. В. Шман // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2025. – Т. 14, № 1. – С. 97–109.

2–А. Изменения кариотипа лейкемических клеток при рецидиве острого лимфобластного лейкоза из В-клеток предшественников у пациентов детского и молодого взрослого возраста / Е. В. Волочник, Д. Р. Капуза, И. В. Пахомова, О. С. Вшивкова, Т. В. Шман // Молекулярная и прикладная генетика : сб. науч. тр. / Ин-т генетики и цитологии Нац. акад. наук Беларуси ; редкол.: А. В. Кильчевский (гл. ред.) [и др.]. – Мн., 2025. – Т. 39. – С. 84–99.

3–А. Эволюция кариотипа лейкемических клеток при рецидиве острого лимфобластного лейкоза из В-клеток предшественников у пациентов детского и молодого взрослого возраста / Е. В. Волочник, Д. Р. Капуза, О. С. Вшивкова, А. Н. Мелешко // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2026. – Т.15, № 1. – С. 103–116.

Статьи в журналах и сборниках научных трудов

4–А. Достижения терапии острого лимфобластного лейкоза у молодых взрослых Республики Беларусь / Н. В. Мигаль, О. И. Быданов, А. С. Лелей, Е. А. Столярова, Л. В. Мовчан, Е. В. Волочник, О. С. Вшивкова, В. В. Дмитриев, И. В. Тарасевич, Н. Ф. Казакевич, Л. В. Артюшкевич, М. В. Белевцев, О. В. Алейникова // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2017. – Т. 3, № 3. – С. 352–364.

5–А. Vshyukova, V. Expression of aberrantly spliced oncogenic Ikaros isoforms coupled with clonal IKZF1 deletions and chimeric oncogenes in acute lymphoblastic leukemia / V. Vshyukova, A. Valochnik, A. Meleshko // Blood Cells, Molecules & Diseases. – 2018. – Vol. 71. – P. 29–38.

Материалы съездов, конференций, симпозиумов, тезисы докладов

6–А. Определение дополнительных хромосомных аберраций, затрагивающих гены ETV6 (TEL) и/или RUNX1(AML1), методом FISH при ETV6/RUNX1-положительном В-клеточном лейкозе у детей / Е. Н. Зотова, В. С. Степук, В. П. Букат, Е. В. Волочник // Сахаровские чтения 2018 года: экологические проблемы XXI века = Sakharov readings 2018: environmental problems of the XXI century : материалы 18-й междунар. науч. конф., Минск, 17–18 мая 2018 г. : в 3 ч. / М-во образования Респ. Беларусь, М-во природных ресурсов и охраны окружающей среды Респ. Беларусь, Междунар. гос. эколог.

ин-т им. А. Д. Сахарова Бел. гос. ун-та ; редкол.: А. Н. Батян [и др.] ; под общ. ред. С. А. Маскевича, С. С. Позняка. – Мн., 2018. – Ч. 1. – С. 262–264.

7–А. Вторичные хромосомные аберрации при ETV6/RUNX1-позитивном В-клеточном остром лимфобластном лейкозе у детей / Е. В. Волочник, В. П. Букат, Д. Р. Колодич, Е. А. Столярова // Актуальные проблемы и перспективы развития детской гематологии-онкологии в Российской Федерации : сб. материалов десятого конгр. Нац. о-ва дет. гематологов и онкологов, Сочи, 25–27 апр., 2019 г. / Нац. о-во дет. гематологов и онкологов. – [Опубл. в журн.] Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2019. – С. 49–50.

8–А. Уровень экспрессии гена CRLF2 и его связь с исходом пациентов с В-острым лимфобластным лейкозом / В. П. Букат, А. В. Гиль, Д. В. Прудников, Е. В. Волочник // Актуальные вопросы детской онкологии, гематологии и иммунологии = Topical issues of pediatric oncology, hematology and immunology : тез. докл. XV Междунар. конф., Минск, 31 окт. – 1 нояб. 2019 г. – [Опубл. в журн.] Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2019. – Т. 5, № 4. – С. 491–492.

9–А. Структурные изменения кариотипа при MLL(KMT2A)-позитивном В-клеточном остром лимфобластном лейкозе из клеток-предшественников при первичной диагностике и рецидиве заболевания у детей и подростков / Е. В. Волочник, Н. В. Мигаль, В. А. Шинкевич, А. Н. Мелешко // Актуальные вопросы детской онкологии, гематологии и иммунологии = Topical issues of pediatric oncology, hematology and immunology : тез. докл. XV Междунар. конф., Минск, 31 окт. – 1 нояб. 2019 г. – [Опубл. в журн.] Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2019. – Т. 5, № 4. – С. 494–496.

10–А. Гетерогенность гипоплоидного кариотипа при остром лимфобластном лейкозе из В-клеток предшественников / Е. В. Волочник, М. А. Керезь, А. З. Адамонис, О. С. Вшивкова, А. Н. Мелешко // Современные проблемы клеточной инженерии, иммунологии и аллергологии : [сб. докл. V] Междунар. науч. конф., Минск, 23–24 окт. 2025 г. / Ин-т биофизики и клеточ. инженерии НАН Беларуси ; Нац. акад. наук Беларуси. – Мн., 2025. – С. 35.

11–А. Изменение сложности кариотипа в рецидиве острого лимфобластного лейкоза из В-клеток предшественников у пациентов детского и молодого взрослого возраста / Е. В. Волочник, М. А. Керезь, Е. А. Попова, Д. Р. Капуза, О. С. Вшивкова, А. Н. Мелешко // Актуальные проблемы и перспективы развития детской онкологии и гематологии в Российской Федерации – 2025 : сб. материалов VI объед. конгр. РОДОГ, Москва, 27–29 нояб. 2025 г. / Рос. о-во дет. онкологов и гематологов. – [Опубл. в журн.] Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2025. – С. 22–23.

12–А. Волочник, Е. В. Структурные хромосомные аберрации при В-клеточном остром лимфобластном лейкозе с высокой гипердиплоидией у пациентов детского и молодого взрослого возраста / Е. В. Волочник, М. А. Керезь, А. Н. Мелешко // Актуальные проблемы и перспективы развития детской онкологии и гематологии в Российской Федерации – 2026 : сб. материалов VII конгр. РОДОГ, Москва, 23–25 апр. 2026 г. / Рос. о-во дет. онкологов и гематологов. – [Опубл. в журн.] Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2026. – С. 34.

13–А. Волочник, Е. В. Изменение субклональной структуры кариотипа при остром лимфобластной лейкозе из В-клеток предшественников / Е. В. Волочник, А. Н. Мелешко // Актуальные проблемы и перспективы развития детской онкологии и гематологии в Российской Федерации – 2026 : сб. материалов VII конгр. РОДОГ, Москва, 23–25 апр. 2026 г. / Рос. о-во дет. онкологов и гематологов. – [Опубл. в журн.] Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2026. – С. 34–35.

Инструкция по применению

14–А. Метод диагностики острого лимфобластного лейкоза с учетом реаранжировок генов тирозинкиназ и рецепторов цитокинов : инструкция по применению № 114-1124 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 26.05.2025 / Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» ; Е. В. Волочник, О. С. Вшивкова, Д. Р. Капуза, А. З. Адамонис. – Мн., 2024. – 15 с.

Рационализаторские предложения

1. Алгоритм цитогенетической диагностики реаранжировок генов тирозинкиназ и рецепторов цитокинов (*ABL1*, *ABL2*, *PDGFRB*, *JAK2*, *CRLF2*, *NTRK3*), а также генов *IGH*, *PAX5*, *MEF2D* и *ZNF384* у пациентов с В-клеточным острым лимфобластным лейкозом : рац. предложение № 162 : утв. Респ. науч.-практ. центром дет. онкологии, гематологии и иммунологии 30.04.2024 / сост.: Е. В. Волочник, Д. Р. Капуза, О. С. Вшивкова.

2. Лабораторный протокол определения интрахромосомной амплификации iAMP21 методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) : рац. предложение № 163 : утв. Респ. науч.-практ. центром дет. онкологии, гематологии и иммунологии 30.04.2024 / сост.: Е. В. Волочник.

3. Метод выявления перестроек генов *EPOR*, *CREBBP* и *CSFR1* у пациентов с острым лимфобластным лейкозом из В-клеток предшественников : рац. предложение № 171 : утв. Респ. науч.-практ. центром дет. онкологии, гематологии и иммунологии 14.05.2025 г. / сост.: Е. В. Волочник, Д. Р. Капуза.



РЕЗЮМЕ

Волочник Елена Викторовна

Хромосомная нестабильность и клональная эволюция при остром лимфобластном лейкозе из В-клеток предшественников

Ключевые слова: хромосомная нестабильность, сложный кариотип, моносомный кариотип, клональная эволюция, острый лимфобластный лейкоз из В-клеток предшественников (ВП-ОЛЛ)

Цель работы: установить структуру кариотипа при первичных ВП-ОЛЛ и при рецидиве и выделить значимые цитогенетические изменения, ассоциированные с рецидивом ВП-ОЛЛ.

Методы исследования: культуральные, цитогенетические, статистические.

Полученные результаты и их новизна: Впервые проведено исследование полного спектра хромосомных аберраций с установлением популяционных частот при первичных ВП-ОЛЛ у пациентов детского и молодого взрослого возраста с ВП-ОЛЛ Республики Беларусь. Сформированы группы критериев хромосомной нестабильности (хромосомный дисбаланс, ≥3 структурных хромосомных аберраций (ХА) на метафазу, субклональная гетерогенность, неклональные аберрации) при первичном ВП-ОЛЛ с определением их частоты для разных генетических групп. Выявлены группы с высокой нестабильностью кариотипа – *ETV6::RUNX1*+ ВП-ОЛЛ, *BCR::ABL1*+ ВП-ОЛЛ, ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА и группа стабильного кариотипа – *KMT2A*+ ВП-ОЛЛ.

Определены дополнительные ХА, ассоциированные с рецидивом в группе ВП-ОЛЛ без рекуррентных ХА: abn7/loss7p22, abn9/loss9p, abn17/loss17p, i(17)(q10) для группы ВП-ОЛЛ с высокой гипердиплоидией и t1q, t19p для группы «B-other». Предложен критерий ≥3 структурные ХА, как вариант сложного кариотипа, ассоциированного с рецидивом ВП-ОЛЛ. Проанализирована частота и структура моносомного кариотипа при первичных ВП-ОЛЛ и рецидивах. Показана ассоциация МК(+)СК(+) кариотипа для группы «B-other». Разработан метод диагностики острого лимфобластного лейкоза с учетом реаранжировок генов тирозинкиназ и рецепторов цитокинов.

Выявлено увеличение частоты сложного кариотипа и субклональной гетерогенности только в парных случаях первичного ВП-ОЛЛ / рецидив 1 ($p<0,05$) и отсутствии ее значимого увеличения в последующих рецидивах.

Рекомендации по использованию: разработанные методы рекомендованы для определения цитогенетических изменений, значимых для стратификации по группам риска пациентов с первичным ВП-ОЛЛ.

Область применения: диагностика острых лимфобластных лейкозов, генетика, гематология.

РЭЗЮМЭ

Валочнік Алена Віктараўна

Храмасомная нестабільнасць і кланальная эвалюцыя пры вострым лімфабластным лейкозе з В-клетак папярэдніц

Ключавыя словы: храмасомная нестабільнасць, складаны карыятып, манасомны карыятып, кланальная эвалюцыя, востры лімфабластны лейкоз з В-клетак папярэдніц (ВП-ВЛЛ)

Мэта працы: вызначыць структуру карыятыпу пры першасных ВП-ВЛЛ і пры рэцыдыве і вылучыць значныя цытагенетычныя змяненні, асацыяваныя з рэцыдывам ВП-ВЛЛ.

Метады даследавання: культуральныя, цытагенетычныя, статыстычныя.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: Упершыню праведзена даследаванне поўнага спектра храмасомных аберацый з устанаўленнем папуляцыйных частот пры першасных ВП-ВЛЛ у пацыентаў дзіцячага і маладога дарослага ўзросту з ВП-ВЛЛ Рэспублікі Беларусь. Сфарміраваны групы крытэрыяў храмасомнай нестабільнасці (храмасомны дысбаланс, ≥3 структурных храмасомных аберацый (ХА) на метафазу, субкланальная гетэрагеннасць, некланальныя аберацыі) пры першасным ВП-ВЛЛ з вызначэннем іх частаты для розных генетычных груп. Выяўлены групы з высокай нестабільнасцю карыятыпу – *ETV6::RUNX1*+ ВП-ВЛЛ, *BCR::ABL1*+ ВП-ВЛЛ, ВП-ВЛЛ без рэкурэнтных ХА і група стабільнага карыятыпу – *KMT2A*+ ВП-ВЛЛ.

Вызначаны дадатковыя ХА, асацыяваныя з рэцыдывам у групе ВП-ВЛЛ без рэкурэнтных ХА: abn7/loss7p22, abn9/loss9p, abn17/loss17p, i(17)(q10) для групы ВП-ВЛЛ з высокай гіпердыплоідыяй і t1q, t19p для групы «B-other». Прапанаваны крытэрый ≥3 структурных ХА як варыянт складанага карыятыпу, асацыяванага з рэцыдывам ВП-ВЛЛ. Прааналізавана частата і структура манасомнага карыятыпу пры першасных ВП-ВЛЛ і рэцыдывах. Паказана асацыяцыя МК(+)СК(+) карыятыпу з рэцыдывам для групы «B-other». Распрацаваны метад дыягностыкі вострага лімфабластнага лейкозу з улікам рэаранжыровак генаў тыразінкіназ і рэцэптараў цытакінаў.

Выяўлена павелічэнне частаты складанага карыятыпу і субкланальнай гетэрагеннасці толькі ў парных выпадках першаснага ВП-ВЛЛ / рэцыдыў 1 ($p<0,05$) і адсутнасць яе значнага павелічэння ў наступных рэцыдывах.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: распрацаваныя метады могуць быць выкарыстаны для вызначэння цытагенетычных змяненняў, значных для стратыфікацыі па групах рызыкі першасных пацыентаў з ВП-ВЛЛ.

Вобласць ужывання: дыягностыка вострых лімфабластных лейкозаў, генетыка, гематалогія.

SUMMARY

Valochnik Alena Viktarauna

Chromosomal Instability and Clonal Evolution in B-Cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia

Key words: chromosomal instability, complex karyotype, monosomic karyotype, clonal evolution, B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (BCP-ALL)

Purpose of the study: establish of the karyotype structure in primary and relapsed BCP-ALL and identification of significant cytogenetic changes associated with BCP-ALL relapse.

Methods: cultural, cytogenetics, statistical.

The results: For the first time, the complete cytogenetic landscape of primary BCP-ALL was delineated, allowing for the determination of population-specific frequency estimates in a pediatric and young adult patients in the Republic of Belarus. Criteria groups for chromosomal instability (chromosomal imbalance, ≥3 structural chromosomal aberrations (CAs) per metaphase, subclonal heterogeneity, nonclonal aberrations) were defined in primary BCP-ALL, and their frequencies were assessed across different genetic groups. The highest level of chromosomal instability was identified in the groups BCP-ALL with *ETV6::RUNX1*+, *BCR::ABL1*+ and BCP-ALL without recurrent CAs and the lowest in *KMT2A*+ BCP-ALL.

Additional CAs associated with relapse were identified in the BCP-ALL without recurrent CAs: abn7/loss7p22, abn9/loss9p, abn17/loss17p, i(17)(q10) for the high-hyperdiploidy, and t1q, t19p for the «B-other». The ≥3 structural CAs was proposed as a variant of complex karyotype associated with relapse BCP-ALL. The frequency and structure of monosomic karyotypes were analyzed in primary and relapsed BCP-ALL. The association between MK(+)CK(+) karyotype and relapse was demonstrated for the «B-other» BCP-ALL. To assess cytogenetic alterations, a diagnostic method for acute lymphoblastic leukemia was developed, incorporating rearrangements of tyrosine kinase and cytokine receptor genes.

The frequency of complex karyotypes and subclonal heterogeneity increased significantly exclusively in paired primary BCP-ALL / relapse 1 cases ($p<0.05$), however no discernible increase in subsequent relapses.

Recommendations for use: the developed methods can be used for detection of cytogenetic aberrations relevant for stratification for risk groups in patients with primary BCP-ALL.

Application: diagnostics of acute lymphoblastic leukemia, genetics, hematology.

Подписано в печать 17.11.2026. Формат 60×84 $^{1}/_{16}$. Бумага офсетная.
Ризография. Усл. печ. л. 1,63. Уч.-изд. л. 1,53. Тираж 60 экз. Заказ 204.

Отпечатано с оригинал-макета заказчика
в Редакционно-издательском центре
Академии управления при Президенте Республики Беларусь.
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/76 от 04.11.2013.
Ул. Московская, 17, 220007, г. Минск.