

На правах рукописи

Карпова Виктория Сергеевна

**КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ДИФфуЗНОЙ В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЫ
С ПОРАЖЕНИЕМ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ**

3.1.28. Гематология и переливание крови

1.5.7. Генетика

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и Научно-исследовательском институте терапии и профилактической медицины – филиале Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Поспелова Татьяна Ивановна

доктор медицинских наук

Воропаева Елена Николаевна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Тумян Гаяне Сепуговна

(Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отделение противоопухолевой лекарственной терапии и гематологии отдела гематологии и трансплантации костного мозга, заведующий, г. Москва)

доктор биологических наук

Мартынкевич Ирина Степановна

(Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Научно-исследовательский центр клеточной и молекулярной патологии, руководитель, г. Санкт-Петербург)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации», г. Москва

Защита состоится « _____ » _____ 2023 года в « _____ » часов на заседании диссертационного совета 21.2.046.07, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; тел.: (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, ул. Залесского, д. 4; тел. 8 (383) 229-10-83); <https://new.ngmu.ru/dissers/dissertation/355>

Автореферат разослан « _____ » _____ 2023 года

Ученый секретарь
диссертационного совета

Т. А. Агеева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ) является наиболее распространенной формой неходжкинских лимфом, на долю которой приходится около 49 % случаев В-клеточных неоплазий в мире. Она представляет собой гетерогенную группу лимфатических опухолей с различными клиническими, морфологическими, иммунофенотипическими, цитогенетическими характеристиками и ответом на терапию (Takahara T., 2023; Поддубная И. В., 2018).

До трети ДВККЛ возникают экстранодально, в том числе могут вызывать поражение центральной нервной системы (ЦНС). Вовлечение ЦНС при ДВККЛ представляет собой одну из самых сложных клинических проблем, сопровождается высокой летальностью и может возникать изолированно в виде первичной лимфомы ЦНС (ПЛЦНС), либо присоединяться на различных этапах системного течения опухоли (Orellana-Noia V., 2022; Wilson M. R., 2022; Тумян Г. С., 2010). До настоящего времени были ограничены данные об эпидемиологии и клинической характеристике ДВККЛ с первичным и вторичным поражением ЦНС в нашей стране.

Изучение системной ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС затруднено в силу невысокой частоты события, тяжелого общего состояния больных и редкости выполнения биопсии опухолевых очагов в ЦНС. Вместе с тем, способность злокачественных В-лимфоцитов в ряде случаев ДВККЛ преодолевать гематоэнцефалический барьер, выживать и пролиферировать в крайне бедной на ростовые стимулы среде (Ollila T. A., 2018) означает наличие у них биологических особенностей. Повышенный риск вовлечения ЦНС наблюдается у пациентов с «double-hit» и «triple-hit» ДВККЛ (с перестройками *MYC* и *BCL2* и/или *BCL6*), а также с вовлечением костного мозга, яичек или молочной железы (Rosenthal A., 2017; Рукавицын О. А., 2017; El-Galaly T. C., 2016).

Для оценки риска возникновения рецидивов ДВККЛ в ЦНС используется Международный прогностический индекс ЦНС (ЦНС-МПИ) (Schmitz N., 2016). Больным из группы высокого риска, согласно данному индексу, необходимо назначение профилактического лечения, что позволяет предотвратить рецидив ДВККЛ в ЦНС у 10–12 % больных, но вместе с тем приводит к неоправданно более токсичному лечению более 80 % пациентов данной группы. До половины случаев рецидивов ДВККЛ в ЦНС происходит среди больных из групп низкого и среднего риска (Ollila T. A., 2021).

Препятствием для успешного прогнозирования, профилактики и лечения вовлечения ЦНС является недостаточное понимание молекулярно-генетических основ фенотипической гетерогенности ДВККЛ (Morin R. D., 2022). В этой связи сложно переоценить важность изучения мутационного профиля случаев ДВККЛ с вторичным поражением ЦНС для идентификации панели генов, анализ которых позволил бы получать прогностическую информацию, оптимизировать терапию больных и подходы к профилактике вовлечения ЦНС при лимфоме.

Степень разработанности темы диссертации. Данные по России об эпидемиологии и клинической характеристике пациентов с ДВККЛ с вовлечением ЦНС фрагментарны и не позволяют оценить общую картину. Они представлены единичными публикациями, большинство из которых представляют собой описание клинических случаев (Ашхацава Т. И., 2019; Комратова К. А., 2017; Бабичева Л. Г., 2015).

Прогностическое значение МПИ-ЦНС воспроизводится не во всех исследованиях (Ollila T. A., 2021; Klanova M., 2019), что говорит о необходимости его дальнейшей валидации на

различных выборках. Дополнительные индивидуальные клинические и молекулярно-генетические факторы могут способствовать дальнейшему усовершенствованию отбора пациентов с высоким риском вторичного вовлечения ЦНС при ДВККЛ (Klanova M., 2019).

В подавляющем числе работ, описанных в литературе, подчеркивается необходимость поиска эффективных методов профилактики поражения ЦНС при ДВККЛ. Нерешенной задачей является также индивидуализированный выбор терапии ДВККЛ как в момент клинической манифестации рецидива с вовлечением нервной системы, так и санации ЦНС на досимптомных этапах (Ho G., 2021; Angeli E., 2020; Gleeson M., 2017). Данные задачи могут быть успешно решены только при углублении понимания биологии опухоли.

В настоящее время в публикациях базы данных PubMed содержатся сведения о результатах таргетного, полногеномного или полноэкзомного секвенирования нового поколения (NGS) около 2 000 образцов системной ДВККЛ и более 150 образцов первичной ДВККЛ ЦНС, а также данные о мутационном профиле нескольких клеточных линий лимфомы (Воропаева Е. Н., 2022). Сведения о мутационном статусе ДВККЛ с рецидивами в ЦНС представлены единичными публикациями, описывающими небольшие группы больных (Ollila T. A., 2021; Jardin F., 2014).

Все вышеперечисленное определяет недостаточную разработанность выбранной темы, делая её областью интереса современной медицинской науки, онкологии, гематологии и медицинской генетики и актуальной научной задачей.

Цель исследования. На основании изучения особенностей клинического течения, данных лабораторно-инструментальных методов исследования и анализа мутационного профиля дать сравнительную характеристику первичного и вторичного поражения центральной нервной системы при диффузной В-крупноклеточной лимфоме и выявить факторы риска вторичного вовлечения центральной нервной системы при данной опухоли.

Задачи исследования

1. Дать сравнительную клиническую характеристику диффузной В-крупноклеточной лимфомы с первичным и вторичным поражением центральной нервной системы.
2. Провести поиск клинических и лабораторных факторов риска вторичного вовлечения центральной нервной системы при диффузной В-крупноклеточной лимфоме.
3. Выявить особенности мутационного профиля диффузной В-крупноклеточной лимфомы с вторичным поражением центральной нервной системы по сведениям из доступных баз данных и в ходе собственного исследования с применением методов высокопроизводительного секвенирования нового поколения (NGS).
4. Определить гены, мутации в которых ассоциированы с высоким риском вторичного вовлечения центральной нервной системы при диффузной В-крупноклеточной лимфоме.

Научная новизна. Впервые на отечественной группе больных получены данные по сравнительной характеристике пациентов с ПЛЦНС и ДВККЛ с вторичным вовлечением в опухолевый процесс ЦНС, проведена оценка особенностей клинического течения, данных лабораторных и инструментальных методов исследования.

Впервые на российской выборке больных выполнено изучение мутационного профиля ДВККЛ с вторичным поражением ЦНС с применением высокопроизводительного секвенирования нового поколения. Полученные результаты сопоставлены с зарубежными данными из C-Bioportal for cancer genomics. Это позволило обобщить сведения и получить принципиально новую информацию о биологии опухоли, выявить новые молекулярно-генетические механизмы патогенеза

и прогрессии лимфомы с поражением ЦНС, связанные с активацией NF- κ B и JAK-STAT сигнальных путей за счет мутаций в генах *MYD88*, *NOTCH1*, *CD79B*, *CARD11*, *PIM1* и *STAT3*, нарушения в онкосупрессорных генах системы ремоделирования хроматина *ARID1A*, *KMT2D*, *SMARCA4* и главном онкосупрессорном гене *TP53*.

По итогам работы были идентифицированы клинические, лабораторно-инструментальные и молекулярно-генетические характеристики, выявление которых свидетельствует о высоком риске вторичного вовлечения ЦНС при ДВККЛ. Результаты работы могут способствовать решению принципиально новых задач по разработке целенаправленной терапии ДВККЛ как на этапе определения высокого риска вторичного вовлечения ЦНС, так и на этапе уже развившегося поражения ЦНС.

Теоретическая и практическая значимость работы. Проведенное исследование молекулярно-генетического профиля ДВККЛ с поражением ЦНС с привлечением международной базы CBioportal for cancer genomics database расширяет информацию о молекулярной биологии опухоли и открывает новые направления развития междисциплинарных исследований в онкогематологии.

На основании анализа клинической характеристики ДВККЛ с поражением ЦНС на территории Сибирского мегаполиса возможно проспективное планирование и прогнозирование числа пациентов, нуждающихся в высокотехнологичном, дорогостоящем лечении, что позволит правильно спланировать бюджет и обеспечить регион необходимыми медикаментами и специализированными медицинскими кадрами.

Определены гены, молекулярно-генетическое тестирование которых поможет выделить пациентов с ДВККЛ, имеющих высокий риск вторичного вовлечения в опухолевый процесс ЦНС. Полученные данные о мутационном профиле ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС могут повлиять на терапевтические решения, служить основой персонализации лечения.

По результатам работы создан банк ДНК, полученной от пациентов с ДВККЛ с поражением ЦНС, который может быть использован для дальнейших исследований генетической архитектуры данной опухоли.

Методология и методы исследования. Исследовательская деятельность была направлена на получение сравнительных данных о клинической характеристике пациентов с ДВККЛ с первичным и вторичным поражением, а также поиск клинических и молекулярно-генетических черт лимфомы на момент диагностики системной ДВККЛ, свидетельствующих о высоком риске вторичного вовлечения ЦНС при опухоли. Работа имеет дизайн ретроспективного исследования (2011–2022 гг.). Объект исследования – больные ДВККЛ трех групп: с первичной лимфомой ЦНС, с системной ДВККЛ без поражения ЦНС и с вторичным вовлечением ЦНС. Предмет исследования: клинические характеристики, данные лабораторно-инструментальных методов исследования, мутационный профиль образцов лимфомы. Диссертационное исследование выполнено в соответствии с принципами доказательной медицины с применением общенаучных (количественное и качественное описание), общелогических (анализ и синтез), а также статистических методов, соответствующих поставленным цели и задачам.

В работе использованы современные специальные методы исследования: анализ специализированных баз данных, фенол-хлороформная экстракция ДНК, полноэкзомное секвенирование методом парно-концевых прочтений на аппарате Illumina HiSeq 1500, биоинформационная обработка и прямое капиллярное секвенирование по Сенгеру.

Положения, выносимые на защиту

1. Для диффузной В-крупноклеточной лимфомы с вторичным вовлечением центральной нервной системы характерны мультифокальный характер и отсутствие типичной локализаций поражений в паренхиме головного мозга, вовлечение в опухолевый процесс спинного мозга и черепно-мозговых нервов, частое поражение оболочек мозга, наряду с меньшим объемом опухолевых очагов.

2. В случаях диффузной В-крупноклеточной лимфомы с вторичным вовлечением центральной нервной системы в дебюте заболевания опухолевый процесс характеризуется большим пролиферативным потенциалом и способностью к диссеминации по нелимфоидным органам по сравнению с диффузной В-крупноклеточной лимфомой без вовлечения центральной нервной системы.

3. Молекулярно-генетический профиль системной диффузной В-крупноклеточной лимфомы с вторичным поражением центральной нервной системы характеризуется мутациями, запускающими неоангиогенез, способствующими избеганию опухоли иммунного надзора и выживанию опухолевых клеток.

Степень достоверности. Исследование выполнено на репрезентативном объеме клинических наблюдений, а также с привлечением международной базы данных. Достоверность результатов диссертации подтверждается применением современных лабораторно-инструментальных и молекулярно-генетических методов исследования, а также проведением корректной биоинформационной и статистической обработки.

Апробация работы. Основные положения диссертации представлены и обсуждены на 9-й Всероссийской конференции «Злокачественные лимфомы» (Москва, 2022), на Объединенном 6-м конгрессе гематологов и 3-м конгрессе трансфузиологов России (Москва, 2022), на 9-м съезде Российского общества медицинских генетиков (Москва, 2021), на 6-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Генетика опухолей кроветворной системы – от диагностики к терапии» (Санкт-Петербург, 2021), на Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы трансфузиологии, онкогематологии и клеточной терапии» (Киров, 2021), на Всероссийском гематологическом форуме с международным участием «Фундаментальные и прикладные исследования в гематологии» (Новосибирск, 2021), on European Society of Human Genetics Conference (Берлин, 2020), on 11th International Multiconference «Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology» (Новосибирск, 2020).

Апробация работы состоялась на совместном заседании проблемных комиссий «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии», «Актуальные проблемы профилактики, диагностики и лечения внутренних болезней» ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск, 2023).

Диссертационная работа выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России по теме: «Клинико-морфологические, молекулярно-биологические и эпигенетические основы диагностики и лечения заболеваний внутренних органов и коморбидных состояний в терапевтической клинике, номер государственной регистрации 121061700029-5.

Внедрение результатов исследования. По результатам работы получен 1 патент на изобретение РФ № 2756909 С1 от 06.10.2021 «Способ выявления мутации p.L265P в гене

MYD88» авторов Воропаевой Е. Н., Поспеловой Т. И., Максимова В. Н. и др.; Евразийский патент на изобретение № 043879 от 30.06.2023.

Результаты работы внедрены в учебный процесс кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППФ Новосибирского государственного медицинского университета и практику лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, в том числе 1 патент на изобретение и 4 статьи в научных журналах и изданиях, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 1 статья в журнале категории К1 и 3 статьи в журналах категории К2, входящих в список изданий, распределённых по категориям К1, К2, К3, в том числе 2 статьи в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования Scopus и Chemical Abstracts.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 228 страницах машинописного текста и состоит из введения, трех глав, обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 243 источниками, из которых 215 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 24 таблиц и 24 рисунков.

Личный вклад автора. Автор диссертационного исследования участвовал в разработке дизайна исследования, внес личный вклад в формулировку цели и задач исследования, самостоятельно проводил выполнение всех этапов работы: анализ данных литературы, сбор биологического материала и клинических данных, статистическую обработку данных, обобщение, интерпретацию научных результатов, обсуждение результатов исследования и формирование выводов. В соавторстве написал и опубликовал все печатные работы в журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведение исследования одобрено комитетом по этике ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 150 от 16.02.2023). Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Группу исследования составили 284 больных, из них с ПЛЦНС – 47 человек, ДВККЛ с вторичным поражением ЦНС – 35 и без поражения ЦНС – 202 человека.

В группе ДВККЛ с поражением ЦНС были 36 женщин и 46 мужчин, 41 пациент (50 %) – в возрасте старше 60 лет. Все больные имели III и IV стадии заболевания, у 27 (32,9 %) пациентов отмечались В-симптомы, у 66 (80,5 %) – 2 и более статус по шкале ECOG, у 21 пациента из 58 (36,2 %) – уровень ЛДГ выше нормы. Согласно МПИ, 57 (69,5 %) пациентов имели 3–5 баллов и относились к группам промежуточного/высокого и высокого риска.

В группе ДВККЛ без вовлечения ЦНС лица мужского и женского пола составили 77 и 125 человек соответственно. Лица старше 60 лет составили 75 (37,1 %), 171 больной имел III и IV стадии заболевания, 139 (68,8 %) – В-симптомы, 82 (40,6 %) – 2 и более статус по ECOG, у

123 (60,9 %) – уровень ЛДГ определялся выше нормы. Более половины больных (125; 61,9 %) относились к группам промежуточного/высокого и высокого риска по МПИ.

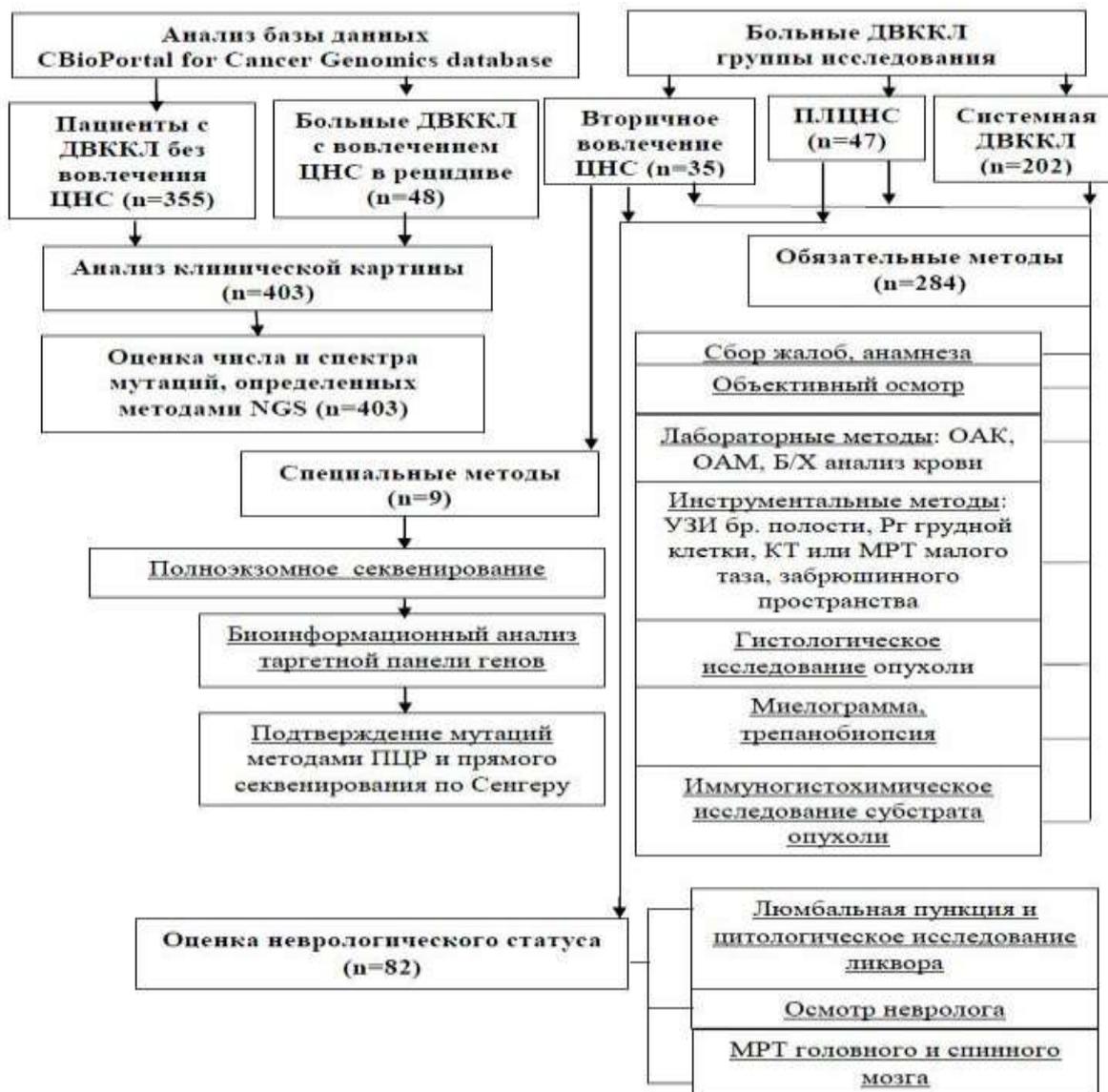


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Общеклиническое обследование больных ЛХ проведено в соответствии с российскими клиническими рекомендациями по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний (Поддубная И. В., Савченко В. Г., 2018).

Специальные методы исследования включали анализ базы SVBioPortal for Cancer Genomics database, из которой были проанализированы клинические данные и мутационный профиль 355 пациентов с ДВККЛ без поражения ЦНС и 48 больных с вторичным вовлечением ЦНС.

Собственный эксперимент по высокопроизводительному секвенированию включал 9 пациентов с ДВККЛ, у которых на этапах течения опухолевого процесса развилось вторичное поражение ЦНС. Все они имели IV стадию заболевания, у 7/9 пациентов регистрировались очаги опухолевого поражения в костном мозге и/или нелимфоидных органах. Все обследованные, за исключением одного, относились к группе высокого риска по ЦНС-МПИ.

У большей части больных поражение ЦНС возникло в первые полгода после диагностики опухоли, у 2 больных – как поздний рецидив.

Из диагностических блоков этих больных была выделена ДНК. Проводились полноэкзомное секвенирование методом парно-концевых прочтений на аппарате HiSeq1500 (Illumina, США) с генерацией данных до покрытия 100x и биоинформационная обработка полученных данных на платформе Genomenal.

Для последующего анализа были отобраны 75 генов, играющих важную роль в развитии и функционировании В-лимфоцитов, передаче внутриклеточных сигналов, контроле клеточного цикла и апоптоза, репарации ДНК, а также эпигенетических модификациях и, по данным литературы, вовлеченных в онкогенез. Выявленные мутации аннотировали по базам данных COSMIC и dbSNP, функциональный эффект миссенс мутаций оценивали с помощью предикторных программ Polyphen2, SIFT, LRT, Mutation Assessor и PROVEAN. Патогенные и вероятно патогенные мутации были подтверждены методом прямого капиллярного секвенирования по Сенгеру и методами ПЦР-анализа.

Для оценки клинической значимости выявленных мутаций использовались «Стандарты для классификации патогенности (онкогенности) соматических вариантов опухоли: объединенные рекомендации Clinical Genome Resource, Cancer Genomics Consortium и Variant Interpretation for Cancer Consortium» (Horak P., 2022) и «Руководство по интерпретации клинически значимых соматических мутаций при солидных опухолях, выявленных методом секвенирования следующего поколения (NGS), с целью их клинического использования» (Гордиев М. Г., 2019).

Статистический анализ данных проведен с использованием программы Statistica 10.0 (Dell, США). За критический уровень достоверности различий принимали $p < 0,05$. Проводились сравнение частот анализируемых признаков (χ^2 Пирсона, точный критерий Фишера), расчет отношения шансов (ОШ) с 95 % доверительным интервалом (ДИ), оценка выживаемости методом Каплана – Мейера и Log-rank теста. Нормальность распределения параметров проверяли с использованием теста Колмогорова – Смирнова. Для переменных, не подчиняющихся нормальному распределению, использованы значения медианы (Me), 25-го и 75-го перцентиля (Q25–Q75) и тест Манна – Уитни. Анализ сочетанности мутаций проводился с применением сервиса OncoPrinter.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительная характеристика ПЛЦНС и ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС. В подгруппе ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС в сравнении с подгруппой ПЛЦНС на момент диагностики заболевания статистически значимо чаще встречались пациенты старше 60 лет (85,7 % против 55,3 %, $p = 0,004$), с общесоматическим статусом 2 и выше по шкале ECOG (91,4 % против 72,3 %, $p = 0,031$), В-симптомами (54,5 % против 19,0 %, $p < 0,001$), высоким и промежуточным/высоким риском по МПИ (85,7 % против 57,4 %, $p = 0,006$) (Таблица 1).

Все пациенты с вторичным поражением ЦНС при ДВККЛ были отнесены к группам среднего или высокого риска, согласно прогностическому индексу МПИ-ЦНС. Отмечалась большая частота в данной подгруппе повышения уровня С-реактивного белка ($p < 0,001$), а также тенденция к более частоте выявления анемии ($p = 0,083$) и тромбоцитопении ($p = 0,059$) (Таблица 2).

Таблица 1 – Клинико-демографическая характеристика больных группы исследования

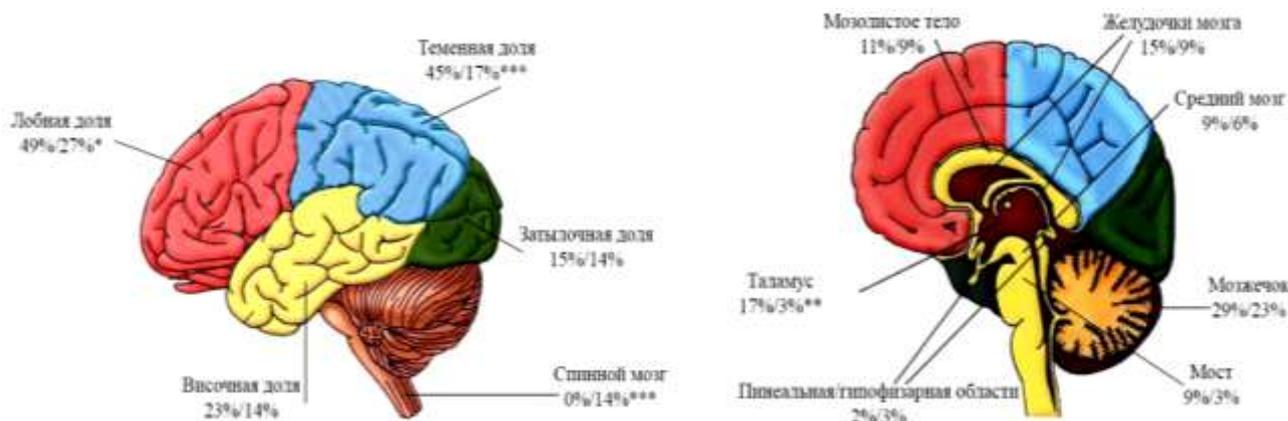
Параметры		ДВККЛ (n = 202)	ПЛЦНС (n = 47)	ДВККЛ с вторичным поражением ЦНС (n = 35)	p-value	ОШ ₁₋₃ (95 % ДИ)
		(1)	(2)	(3)	p ₁₋₂ p ₁₋₃ p ₂₋₃	
абс. (%)						
Возраст старше 60 лет		75/202 (37,1)	26/47 (55,3)	30/35 (85,7)	0,023 < 0,001 0,004	10,2 (3,8; 27,3)
В-симптомы		139/202 (68,8)	9/47 (19)	18/35 (54,5)	< 0,001 0,107 < 0,001	—
Стадия по Ann Arbor	I–II	31/202 (15,3)	0	0	—	—
	III–IV	171/202 (84,7)	47/47 (100)	35/35 (100)		
ECOG статус 2 и более		82/202 (40,6)	34/47 (72,3)	32/35 (91,4)	< 0,001 < 0,001 0,031	15,6 (4,6; 52,7)
Экстранодальные поражения 2 и более		39/202 (19,3)	—	18/35 (51,4)	— < 0,001 —	4,4 (2,1; 9,4)
МПИ, баллов	0–2	77/202 (38,1)	20/47 (42,6)	5/35 (14,3)	0,575 0,007 0,006	3,7 (1,4; 9,9)
	3–5	125/202 (61,9)	27/47 (57,4)	30/35 (85,7)		
ЦНС-МПИ, баллов	0–1	25/202 (12,4)	—	0/35 (0)	— 0,028 —	2,7 (1,3; 5,6)
	2–3	105/202 (52,0)	—	14/35 (40,0)	— 0,191 —	
	4–6	72/202 (35,6)	—	21/35 (60,0)	— 0,007 —	
Инфекции	ВИЧ	2/202 (1,0)	2/47 (4,3)	4/35 (11,4)	0,109 < 0,001 0,218	12,9 (2,3; 73,4)
Сопутствующие заболевания	ЗНО	11/202 (5,4)	9/47 (19,1)	2/35 (5,7)	0,002 0,949 0,078	—
	ДУЗ	6/202 (2,9)	7/47 (14,9)	1/35 (2,9)	< 0,001 0,971 0,070	—
	ГБ	70/202 (34,6)	35/47 (74,5)	12/35 (34,3)	< 0,001 0,191 < 0,001	—
	ХБП	12/202 (5,9)	19/47 (40,4)	8/35 (22,9)	< 0,001 < 0,001 0,095	4,7 (1,8; 12,5)

Таблица 2 – Результаты лабораторных методов исследования пациентов с ДВККЛ

Параметры	ДВККЛ (n = 202) (1)	ПЛЦНС (n = 47) (2)	ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС (n = 35) (3)	p-value		ОШ ₁₋₃ (95 % ДИ)
				p ₁₋₂	p ₁₋₃ p ₂₋₃	
Анемия любой степени тяжести	63/202 (31,2)	14/47 (29,8)	17/35 (48,6)	0,852 0,045 0,083		2,1 (1,0;4,3)
Тромбоцитопения менее 150x10 ⁹ /л	39/202 (19,3)	3/46 (6,5)	5/28 (17,9)	0,037 0,855 0,059		—
Уровень СРБ выше лабораторной нормы	91/202 (45,0)	8/32 (25,0)	15/21 (71,4)	0,033 0,022 < 0,001		—
Уровень ЛДГ выше лабораторной нормы	123/202 (60,9)	9/30 (30,0)	12/28 (42,9)	0,002 0,070 0,309		—
Уровень ЩФ выше лабораторной нормы	60/202 (29,7)	0/40 (0)	10/27 (37,0)	< 0,001 0,438 < 0,001		—
Экспрессия Ki-67, более 75 % (+) клеток	27/202 (13,4)	23/35 (65,7)	12/25 (48,0)	< 0,001 < 0,001 0,171		6,0 (2,5; 14,5)
Подтип по Hans et al.	GCB	32/202 (15,9)	2/47 (4,3)	6/35 (17,2)	0,038 0,847 0,052	—
	nonGCB	38/202 (18,8)	15/47 (31,9)	15/35 (42,8)	0,049 0,002 0,309	3,2 (1,5; 6,9)
	неспециф./НД	132/202 (65,3)	30/47 (63,8)	14/35 (40,0)	— — 0,131	—

Проведение анализа сопутствующей патологии показало, что пациенты с ПЛЦНС имели указания на другие злокачественные новообразования чаще, чем больные ДВККЛ без вовлечения ЦНС и пациенты с ДВККЛ с вторичным поражением ЦНС в 3,5 раза ($p = 0,002$) и 3,3 раза ($p = 0,078$), диффузный узловой зоб – в 5,1 раза ($p < 0,001$) и в 5,1 раза ($p = 0,070$), гипертоническую болезнь – в 2,2 раза ($p < 0,001$) и в 2,2 раза ($p < 0,001$), хронические болезни почек в 6,8 раза ($p < 0,001$) и 1,8 раза ($p = 0,095$) соответственно. Литературные данные свидетельствуют о том, что указанные заболевания могут являться факторами, дезорганизующими гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) (Гареев И. Ф., 2019; Ржевская О. Н., 2021; Skvortsova V. I., 2005; Johanson C. E., 2011).

При вторичном вовлечении ЦНС не было выявлено тенденции опухоли к определенным локализациям (Рисунок 2).



* – уровень значимости различий $p = 0,063$; ** – уровень значимости различий $p < 0,05$; *** – уровень значимости различий $p < 0,01$.

Рисунок 2 – Поражение структур мозга у пациентов с ДВККЛ группы исследования: указана частота при ПЛЦНС/вторичном поражении ЦНС

Первичная лимфома центральной нервной системы более чем в половине случаев характеризовалась солитарным поражением ($p = 0,020$) и со значимо большей частотой локализовалась в лобной ($p = 0,063$), теменной долях ГМ ($p = 0,009$), а также таламусе ($p = 0,043$), что может быть связано с интенсивным кровоснабжением данных областей (Фурсова Л. А., 2013; Бабичева Л. Г., 2015).

В сравнении с ПЛЦНС при ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС поражение реже носило солитарный характер (31,4 % против 57,4 %, $p = 0,020$), чаще вовлекались оболочки мозга (51,4 % против 6,4 %, $p < 0,001$). Изолированные лептоменингеальные формы, поражение ЧМН и СП встречались только при вторичном вовлечении ЦНС в 66,7 % ($p = 0,031$), 11,4 % ($p = 0,018$) и 14,3 % ($p = 0,008$) случаев соответственно (Таблица 3).

По данным МРТ-исследования при ДВККЛ с вторичным поражением ЦНС отмечены значимо меньший средний объем опухолевых очагов, ($10,83 \pm 4,74$) см^3 против ($67,33 \pm 14,99$) см^3 , $p < 0,009$, а также меньшая частота выявления выраженного перифокального отека ($p < 0,001$) и дислокации срединных структур головного мозга ($p = 0,003$) в сравнении с ПЛЦНС, что сопровождалось тенденцией к более редкому развитию генерализованных судорог ($p = 0,061$), головокружения ($p = 0,089$), когнитивных нарушений ($p = 0,063$), нарушений речи ($p = 0,064$), а также парезов и параличей конечностей ($p = 0,052$) у больных ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС (см. Таблицу 3). При ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС в сравнении с ПЛЦНС значимо чаще ($p < 0,001$) отмечались В-симптомы, повышение уровня СРБ и ЩФ, отмечалась тенденция к увеличению частоты выявления анемии ($p = 0,083$) и тромбоцитопении ($p = 0,059$) (см. Таблицу 2).

Сравнительный анализ эффективности терапии показал низкую частоту достижения ремиссии в обеих исследуемых подгруппах: 44,8 % при ПЛЦНС и 35,3 % при вторичном поражением ЦНС против 61,4 % в группе ДВККЛ без вовлечения ЦНС ($p = 0,118$ и $p = 0,008$ соответственно). Общая 3-летняя выживаемости больных ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС составила 8,8 %, что было ниже, чем в подгруппах больных ПЛЦНС (27,6 %, $p = 0,051$) и ДВККЛ без вовлечения ЦНС (54,6 %, $p < 0,001$), и соответствовало зарубежным данным (Pak J., 2017).

Таблица 3 – Характеристика поражения ЦНС при ДВККЛ в группе исследования

Параметры		Первичная лимфома ЦНС (n = 47)	ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС (n = 35)	p-value
		Абс. (%)		
Характер поражения ЦНС	солитарный	27/47 (57,4)	11/35 (31,4)	0,020
	множественный	20/47 (42,6)	12/35 (34,3)	0,448
	оболочки мозга, из них:	3/47 (6,4)	18/35 (51,4)	< 0,001
	- лептоменингеальный	0/3 (0)	12/18 (66,7)	0,031
	- смешанный	3/3 (100,0)	6/18 (33,3)	
Локализация поражений	доли головного мозга, из них:			
	- лобная	23/47 (48,9)	10/35 (28,6)	0,063
	- теменная	21/47 (44,7)	6/35 (17,1)	0,009
	таламус	8/47 (17,0)	1/35 (2,9)	0,043
	черепно-мозговые нервы	0/47 (0)	4/35 (11,4)	0,018
	спинной мозг	0/47 (0)	5/35 (14,3)	0,008
МРТ- признаки	перифокальный отек	29/47 (61,7)	4/23 (17,4)	< 0,001
	дислокация срединных структур	28/47 (59,6)	5/23 (21,7)	0,003
Клинические проявления поражения ЦНС:				
- эмоционально-волевые нарушения		9/47 (19,1)	2/33 (6,1)	0,095
- головокружение		29/47 (61,7)	14/33 (42,4)	0,089
- когнитивные нарушения		14/47 (29,8)	4/33 (12,1)	0,063
- нарушение речи		12/47 (25,5)	3/33 (9,1)	0,064
Парезы/параличи	конечностей	23/47 (48,9)	9/33 (27,3)	0,052
	генерализованные	10/47 (28,6)	2/33 (6,1)	0,061

Факторы риска вторичного вовлечения ЦНС при ДВККЛ. Анализ клинических характеристик больных ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС и без поражения ЦНС по данным CBioPortal for Cancer Genomics database показал, что пациенты с вторичным вовлечением ЦНС имели значимо большую частоту регистрации симптомов опухолевой интоксикации (58,2 % против 34,1 %, $p = 0,002$), III–IV стадий заболевания (85,4 % против 55,8 %, $p < 0,001$), экстранодальных поражений (41,7 % против 16,6 %, $p < 0,001$), два и более статуса по шкале ECOG (45,8 % против 26,8 %, $p = 0,007$) и повышения уровня ЛДГ (70,8 % против 53,8 %, $p = 0,026$), а также высокого и промежуточного/высокого риска по МПИ (58,4 % против 38,6 %, $p < 0,001$), что согласуется с результатами анализа характеристик больных ДВККЛ собственной группы исследования. Также пациенты ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС в 2,1 раза чаще имели поражение яичек (25,9 % против 12,1 %, $p = 0,093$) (см. Таблицы 1 и 2).

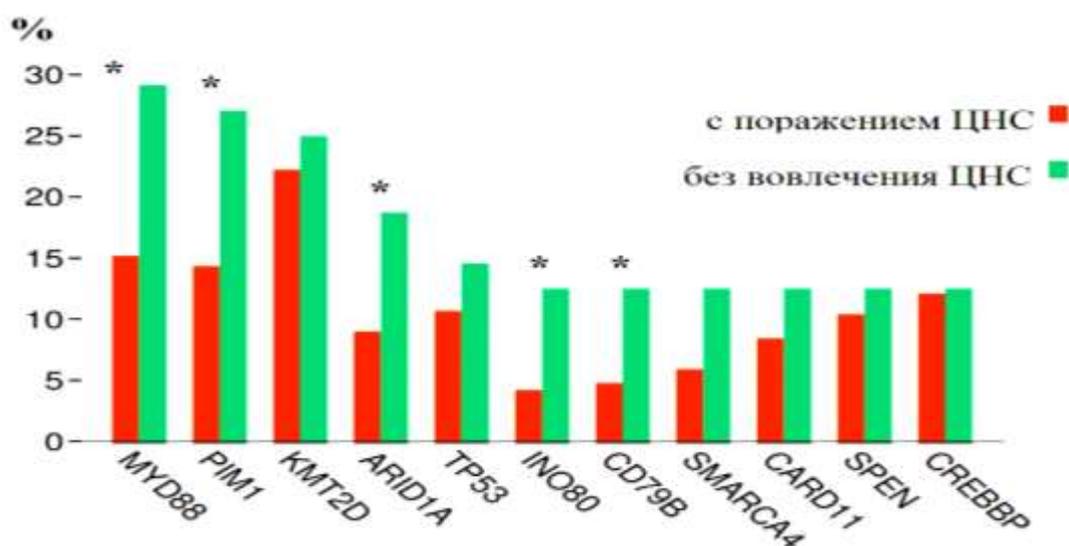
В проанализированной нами группе больных ДВККЛ к факторам риска вторичного поражения ЦНС относились: возраст старше 60 лет (ОШ = 10,2; 95 % ДИ (3,8; 27,3)), два и более статуса по шкале ECOG (ОШ = 15,6; 95 % ДИ (34,6; 52,7)), наличие 2 и более экстранодальных очагов лимфомы (ОШ = 4,4; 95 % ДИ (2,1; 9,4)), группы высокого и промежуточного/высокого риска по МПИ (ОШ=3,7; 95 % ДИ (1,4; 9,9)), наличие хронической патологии почек (ОШ = 4,7; 95 % ДИ (1,8; 12,5)), инфицированность ВИЧ (ОШ = 12,9; 95 % ДИ (2,3; 73,4)), а также наличие анемии любой степени тяжести (ОШ = 2,1; 95 % ДИ (1,0; 4,3)), экспрессия Ki-67 более 75 %

опухолевых клеток (ОШ = 6,0; 95 % ДИ (2,5; 14,5) и *nonGCB* иммуногистохимический подтип опухоли (ОШ = 3,2; 95 % ДИ (1,5; 6,9)).

В совокупности полученные данные свидетельствуют о том, что опухолевые клетки лимфомы в случаях ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС уже на момент диагностики заболевания обладают большим пролиферативным потенциалом, а также способностью к диссеминации по нелимфоидным органам.

Особенности мутационного профиля ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС по данным C-Bioportal for cancer genomics database. Выполненный нами анализ C-Bioportal for cancer genomics database показал, что подгруппы случаев ДВККЛ без поражения ЦНС и с вторичным вовлечением ЦНС практически не различаются по количеству мутаций в образцах ($7,1 \pm 4,8$ и $8,4 \pm 5,1$ соответственно, $p > 0,05$), но отличаются по спектру мутаций.

На рисунке 3 представлены гены, мутации в которых с наибольшей частотой встречались в подгруппе больных ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС.



* – уровень значимости различий $p < 0,05$

Рисунок 3 – Наиболее частые мутации в генах в группе больных ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС

Значимые различия от группы без вовлечения ЦНС были получены по пяти из них: *MID88* ($p = 0,019$), *PIMI* ($p = 0,025$), *CD79* ($p = 0,043$), *ARID1A* ($p = 0,040$) и *INO80* ($p = 0,028$). Также тенденция была получена для мутаций в гене *SMARCA4* ($p = 0,087$). Получены значимые различия по частоте *MYD88* p.L265P между двумя анализируемыми подгруппами: 12/48 (25,0 %) у больных ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС против 32/355 (9,0 %, $p < 0,001$) без такового.

Гены *MID88*, *PIMI*, *CD79B* кодируют ключевые участники NF- κ B и JAK-STAT сигнальных путей. Как по данным литературы (Visco C., 2020), так и анализа C-Bioportal for cancer genomics database мутации в них характерны для ДВККЛ из активированных В-клеток, тогда как гены *ARID1A*, *INO80* и *SMARCA4* кодируют субъединицы комплексов системы ремоделирования хроматина и по данным проведенного анализа базы редко встречаются при системной ДВККЛ вне зависимости от подтипа опухоли (Таблица 4).

Таблица 4 – Частота мутаций в анализируемых генах при различных подтипах ДВККЛ по данным CBioPortal for Cancer Genomics database

Ген	ABC-подтип (n = 67) абс. (%)	GCB-подтип (n = 77) абс. (%)	p-value
<i>MYD88</i>	22 (32,0)	2 (2,6)	0,000
<i>PIM1</i>	22 (32,0)	6 (8,0)	0,000
<i>CD79B</i>	16 (24,0)	3 (4,0)	0,000
<i>ARID1A</i>	1 (1,5)	6 (8,0)	0,083
<i>SMARCA4</i>	2 (3,0)	1 (1,3)	0,448
<i>INO80</i>	2 (3,0)	1 (1,3)	0,448

Примечания: ДВККЛ – диффузная В-крупноклеточная лимфома, ABC – из активированных В-клеток, GCB – из клеток зародышевого центра лимфоузла.

Было отмечено, что у больных ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС мутации в генах *MYD88*, *PIM1* и *CD79B* носили сочетанный характер. Мутации в генах *INO80*, *ARID1A* и *SMARCA4*, напротив, имели тенденцию к взаимному исключению и редко сочетались с изменениями в генах *MYD88*, *PIM1* и *CD79B* (Таблица 5).

Таблица 5 – Оценка сочетаний мутаций в анализируемых генах при ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС по данным CBioPortal for Cancer Genomics database

Ген 1	Ген 2	Log2 Odds Ratio	p-value	Тенденция
<i>MYD88</i>	<i>CD79B</i>	> 3	< 0,001	Сочетание
<i>MYD88</i>	<i>PIM1</i>	> 3	< 0,001	Сочетание
<i>PIM1</i>	<i>CD79B</i>	2,874	0,038	Сочетание
<i>INO80</i>	<i>SMARCA4</i>	< -3	0,427	Взаимное исключение
<i>ARID1A</i>	<i>INO80</i>	-0,234	0,688	Взаимное исключение
<i>ARID1A</i>	<i>SMARCA4</i>	-0,234	0,688	Взаимное исключение

Расчет отношения шансов вовлечения ЦНС при ДВККЛ показал (Таблица 6), что мутации в генах *MYD88*, *PIM1*, *CD79B*, *INO80* и *ARID1A* имеют близкую прогностическую ценность. Для рекуррентной мутации *MYD88* p.L265P значения составили ОШ = 3,365; 95 % ДИ (1,593; 7,105).

Таблица 6 – Ассоциация мутаций в анализируемых генах с вторичным вовлечением ЦНС при ДВККЛ по данным CBioPortal for Cancer Genomics database

Гены в генах	Частота вовлечения ЦНС у больных, абс. (%)		p-value	ОШ (95 % ДИ)
	с мутациями	без мутаций		
<i>MYD88</i>	14/69 (20,3)	34/334 (10,2)	0,019	2,246 (1,132; 4,458)
<i>MYD88</i> p.L265P	12/44 (27,3)	36/359 (10,0)	< 0,001	3,365 (1,593; 7,105)
<i>PIM1</i>	13/64 (20,3)	35/339 (10,3)	0,024	2,214 (1,097; 4,469)
<i>ARID1A</i>	9/41 (22,0)	39/362 (10,8)	0,037	2,329 (1,035; 5,240)
<i>CD79B</i>	6/23 (26,1)	42/380 (11,1)	0,031	2,840 (1,061; 7,601)
<i>SMARCA4</i>	6/27 (22,2)	42/376 (11,2)	0,049	2,272 (0,868; 5,948)
<i>INO80</i>	6/21 (28,6)	42/382 (11,0)	0,009	3,238 (1,192; 8,798)

Результаты собственного исследования с применением высокопроизводительного секвенирования (NGS). Результаты собственного исследования с применением методов высокопроизводительного секвенирования в целом подтверждают данные анализа CBioPortal for Cancer Genomics database.

В исследованных образцах наиболее частыми были варианты нуклеотидных последовательностей (ВНП) в генах NF-kB сигнального пути – 6/9 образцов, нарушения в онкосупрессорных генах системы ремоделирования хроматина – 5/9 образцов, ВНП в генах JAK-STAT сигнального пути – 5/9 образцов, а также ВНП в главном онкосупрессорном гене *TP53* – 3/9 образцов (Рисунок 4). Из четырех находок в гене *MYD88* – 3 составила рекуррентная замена 265 кодона. Как и при анализе базы данных, мы отметили наличие сочетанных ВНП в генах NF-kB и JAK-STAT сигнальных путей.

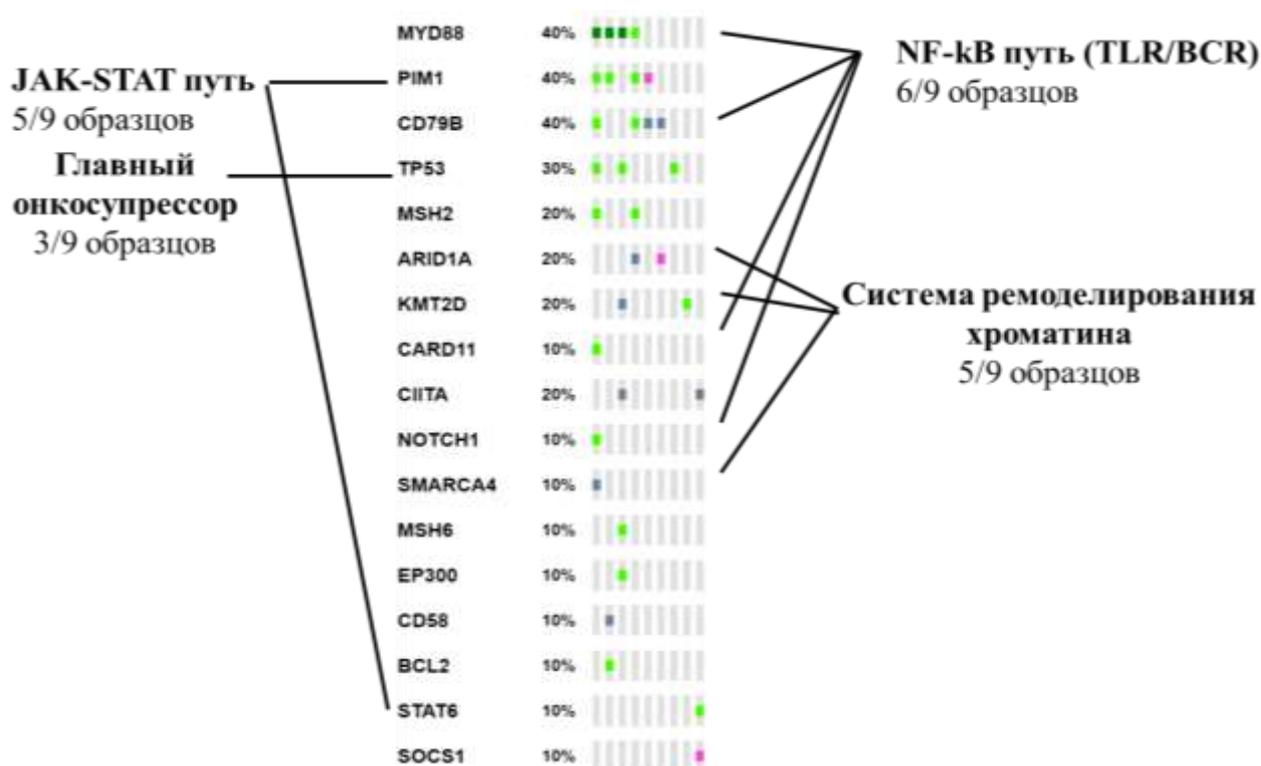


Рисунок 4 – Совместное выявление и взаимное исключение вариантов нуклеотидных последовательностей в группе исследования

Совокупность полученных данных свидетельствует, что панель из 6 генов, часто мутирующих при ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС, позволяет выделить, по меньшей мере, две подгруппы случаев. Первая по спектру мутаций в генах NF-kB и JAK-STAT сигнальных каскадов близка ПЛЦНС (Lauw M. I. S., 2020). Вторая подгруппа, для которой характерны мутации в генах *INO80*, *ARID1A* и *SMARCA4*, как показал литературный поиск, была близка лимфоме Беркитта (Wagener R., 2019; Smith M. C., 2015; Greenough A., 2014). При данном заболевании мутации в генах *SMARCA4* и *ARID1A* занимают 4 и 5 место, а частота вовлечения в опухолевый процесс ЦНС достигает 30–35%. К каждой из этих подгрупп, согласно данным CBioPortal for Cancer Genomics database, могут быть отнесены около трети

случаев ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС (18/48 (37,5 %) и 15/48 (31,2 %) соответственно).

Функциональный анализ вариантов нуклеотидных последовательностей, выявленных в группе исследования. Оценка распределения выявленных в группе исследования ВМП анализируемых генов показала, что подавляющая часть aberrаций была сосредоточена по основным функциональным доменам. Все миссенс-замены, за исключением *MYD88* p.V204F, по результатам анализа функциональной значимости с помощью пяти предикторных программ были отнесены к патогенным заменам.

Несмотря на кажущуюся гетерогенность мутационного профиля ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС, в большей части случаев, как по данным анализа CBioPortal for Cancer Genomics database, так и результатам собственного исследования с применением высокопроизводительного секвенирования, для опухолевых клеток были характерны мутации, приводящие к аутокринной поддержке роста, неоангиогенезу и избеганию опухоли иммунного надзора (Hasanain M., 2020; Vlagih J., 2020; Cortez M. A., 201).

Категоризация онкогенности обнаруженных в группе исследования ВМП, согласно «Объединенным рекомендациям по Стандартам классификации патогенности соматических вариантов при раке», показала, что 14/33 (42,4 %) из них могут быть отнесены к вариантам неизвестного значения, остальные являются онкогенными или вероятно-онкогенными (Таблица 7).

Категоризация терапевтической значимости выявленных aberrаций согласно «Руководству по интерпретации клинически значимых соматических мутаций с целью их клинического использования» позволила выделить ВМП, которые могут быть отнесены к важным для выбора лечебной стратегии биомаркерам, имеющим отношение к химиоиммунотерапии, терапии ингибиторами тирозинкиназы Брутона (БТК) и контрольных иммунных точек (КИТ) (см. Таблицу 7).

В связи с этим можно предположить несколько потенциально эффективных направлений терапии ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС, а именно применение ингибиторов БТК (ибрутиниб, тирабрутиниб), ингибиторов JAK-STAT сигнального каскада (руксолитиниб) и ингибиторов КИТ (ниволумаб, пембролизумаб).

Перечисленные препараты проникают через ГЭБ и в клинических исследованиях уже показали свою эффективность при ПЛЦНС (Graham M. S., 2018). Можно предполагать, что раннее их назначение при ДВККЛ с высоким риском вторичного вовлечения ЦНС может способствовать санации ЦНС от опухолевых клеток еще на досимптомных этапах поражения.

Таблица 7 – Категоризация обнаруженных в группе исследования вариантов нуклеотидных последовательностей согласно современным рекомендациям

Мутация	Онкогенность (баллов)	Терапевтическая значимость (в отношении вида терапии)
<i>MYD88</i> p.L265P	Онкогенный (13)	Класс I, уровень A (ингибиторов БТК)
<i>MYD88</i> p.V204F	ВНЗ (0)	Класс III
<i>MSH2</i> p.E262K	ВНЗ (4)	Класс II, уровень E (ингибиторов КТИ)
<i>MSH2</i> p.D475H	ВНЗ (4)	Класс II, уровень E (ингибиторов КТИ)
<i>PIM1</i> p.E135Q	Вероятно-онкогенный (8)	Класс II, уровень D (ингибиторов БТК)
<i>PIM1</i> p.K194N	Вероятно-онкогенный (8)	Класс II, уровень D (ингибиторов БТК)
<i>PIM1</i> p.G78E	Вероятно-онкогенный (8)	Класс II, уровень D (ингибиторов БТК)
<i>PIM1</i> p.195_198del	Вероятно-онкогенный (8)	Класс II, уровень D (ингибиторов БТК)
<i>PIM1</i> p.L80L	ВНЗ (2)	Класс III
<i>CARD11</i> p.D230N	Онкогенный (10)	Класс II, уровень E (ингибиторов БТК)
<i>NOTCH1</i> p.P1390T	Вероятно-онкогенный (8)	Класс II, уровень D (ингибиторов БТК)
<i>TP53</i> p.R116Q	Вероятно-онкогенный (7)	Класс I, уровень A (химиоиммунотерапии)
<i>TP53</i> p.M105T	Онкогенный (10)	Класс I, уровень A (химиоиммунотерапии)
<i>TP53</i> p.R141H	Онкогенный (10)	Класс I, уровень A (химиоиммунотерапии)
<i>CD79B</i> p.L95P	ВНЗ (5)	Класс II, уровень D (ингибиторов БТК)
<i>CD79B</i> p.Y196N	ВНЗ (5)	Класс II, уровень D (ингибиторов БТК)
<i>CD79B</i> p.G198_D202del	Вероятно-онкогенный (6)	Класс II, уровень D (ингибиторов БТК)
<i>CD79B</i> p.G160VfsX4	ВНЗ (5)	Класс II, уровень D (ингибиторов БТК)
<i>CD79B</i> p.E197GfsX6	Вероятно-онкогенный (6)	Класс II, уровень D (ингибиторов БТК)
<i>KMT2D</i> p.G2279R	ВНЗ (2)	Класс III
<i>KMT2D</i> p.Q3683X	Вероятно-онкогенный (9)	Класс III
<i>MSH6</i> p.V921I	ВНЗ (2)	Класс II, уровень E (ингибиторов КТИ)
<i>EP300</i> p.F1448S	ВНЗ (3)	Класс III
<i>BCL2</i> p.G193R	ВНЗ (2)	Класс III
<i>STAT6</i> p.E444K	ВНЗ (2)	Класс III
<i>CIITA</i> p.L641R	ВНЗ (2)	Класс III
<i>CIITA</i> p.Q1118X	Вероятно-онкогенный (9)	Класс III
<i>CIITA</i> p.R809fs	Вероятно-онкогенный (9)	Класс III
<i>CD58</i> p.C22X	Вероятно-онкогенный (9)	Класс III
<i>SOCS1</i> p.R66_A70del	ВНЗ (2)	Класс III
<i>ARID1A</i> p.Q1334del	Вероятно-онкогенный (9)	Класс III
<i>ARID1A</i> p.Q1212HfsX4	Вероятно-онкогенный (9)	Класс III
<i>SMARCA4</i> p.E187fs	Вероятно-онкогенный (9)	Класс III

Примечания: Класс I – варианты нуклеотидной последовательности с сильной клинической значимостью и доказательной базой, Уровень A – играют существенную роль в терапии, сильную клиническую значимость и доказательную базу, Класс II – варианты нуклеотидной последовательности с потенциальной клинической значимостью, а также варианты, связанные с таргетной терапией, находящейся на стадии доклинических испытаний, Уровень D – имеют терапевтическую и прогностическую значимость, выявленные на основании множества небольших исследований, Уровень E – обладают вероятной терапевтической значимостью, выявленной в доклинических исследованиях, Класс III – варианты нуклеотидной последовательности с неизвестным клиническим значением

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенная работа является первым системным отечественным исследованием клинических и молекулярно-генетических особенностей ДВККЛ с поражением ЦНС.

Показано, что проявления заболевания при ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС и ПЛЦНС имеют свои особенности по числу и размеру опухолевых очагов, локализации поражений вещества головного мозга и частоте вовлечения СП, оболочек мозга и ЧМН, а также выраженности неврологической симптоматики, опухолевой интоксикации и параклинической активности. Отмечено более частое сочетание ПЛЦНС с заболеваниями, потенциально дезорганизующими ГЭБ.

Полученные данные свидетельствуют о том, что опухолевые клетки ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС на момент диагностики лимфомы обладают большим пролиферативным потенциалом, а также способностью к диссеминации по нелимфоидным органам в сравнении с клетками ДВККЛ без поражения ЦНС. К факторам риска вторичного вовлечения ЦНС при ДВККЛ, согласно полученным нами данным, помимо неблагоприятных групп прогноза по МПИ и ЦНС-МПИ, относятся: возраст старше 60 лет, статус 2 и выше по шкале ECOG, наличие 2 и более экстранодальных очагов лимфомы, инфицированность ВИЧ, хронические заболевания почек в анамнезе, а также экспрессия Ki-67 более чем 75 % опухолевых клеток, nonGCB иммуногистохимический подтип опухоли и наличие анемии.

Анализ C-Bioportal for cancer genomics database, а также результаты собственного эксперимента по высокопроизводительному секвенированию показали, что, для опухолевых клеток ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС характерны генетические нарушения, приводящие к аутокринной поддержке роста, неоангиогенезу и избеганию опухоли иммунного надзора.

В целом, среди ДВККЛ с рецидивами в ЦНС можно выделить, по меньшей мере, 2 подгруппы случаев, к каждой из которых может быть отнесено до трети больных. Первая имеет нарушения в генах NF- κ B и JAK-STAT сигнальных каскадов (*MYD88*, *PIM1*, *CD79B*) и по спектру драйверных мутаций близка ПЛЦНС. Для второй характерны мутации в генах системы ремоделирования хроматина (*INO80*, *ARID1A*, *SMARCA4*), что делает данные случаи близкими лимфоме Беркитта.

Полученные данные свидетельствуют, что в ряде случаев ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС на момент первичной диагностики опухоли имеются мутации с доказанной терапевтической значимостью по отношению к ингибиторам тирозинкиназы Брутона (БТК) и контрольных иммунных точек (КИТ), что может служить обоснованием проведения у больных таргетной терапии лимфомы препаратами, проникающими через ГЭБ.

ВЫВОДЫ

1. К клиническим особенностям вторичного вовлечения центральной нервной системы при диффузной В-крупноклеточной лимфоме в сравнении с первичной лимфомой центральной нервной системы относятся мультифокальный характер ($p = 0,020$) и отсутствие типичной локализаций поражений в паренхиме головного мозга ($p < 0,05$), вовлечение в опухолевый процесс спинного мозга ($p = 0,008$) и черепно-мозговых нервов ($p = 0,018$), частое поражение оболочек мозга ($p < 0,001$), в том числе в виде изолированных лептоменингеальных форм ($p = 0,031$), наряду с меньшим объемом опухолевых очагов ($p < 0,009$), более низкой частотой смещения срединных структур ($p = 0,003$) и перифокального отека вещества головного мозга ($p < 0,001$).

2. Пациенты с первичной лимфомой центральной нервной системы в сравнении с больными диффузной В-крупноклеточной лимфомой с вторичным поражением центральной нервной системы и без такового чаще имели указания на другие злокачественные новообразования (в 3,5 раза, $p = 0,002$ и 3,3 раза, $p = 0,078$ соответственно), диффузно-узловой зоб (в 5,1 раза, $p < 0,001$ и $p = 0,070$ соответственно), гипертоническую болезнь (в 2,2 раза, $p < 0,001$) и хронические заболевания почек (6,8 раза, $p < 0,001$ и 1,8 раза, $p = 0,095$).

3. К клиническим факторам риска вторичного вовлечения центральной нервной системы при диффузной В-крупноклеточной лимфоме можно отнести статус 2 и более по шкале ECOG (ОШ = 15,6; 95 % ДИ (4,6; 52,7), инфицированность ВИЧ (ОШ = 12,9; 95 % ДИ (2,3; 73,4), возраст старше 60 лет (ОШ = 10,2; 95 % ДИ (3,8; 27,3), хронические заболевания почек в анамнезе (ОШ = 4,7; 95 % ДИ (1,8; 12,5), наличие 2 и более экстранодальных очагов лимфомы (ОШ = 4,4; 95 % ДИ (2,1; 9,4), группу высокого и промежуточного/высокого риска по международному прогностическому индексу (ОШ = 3,7; 95 % ДИ (1,4; 9,9) и группу высокого и среднего риска по международному прогностическому индексу центральной нервной системы (ОШ = 2,7; 95 % ДИ (1,3; 5,6)).

4. К лабораторным факторам риска вторичного вовлечения центральной нервной системы при диффузной В-крупноклеточной лимфоме относятся высокая пролиферативная активность (экспрессия Ki-67 более 75 %) опухолевых клеток (ОШ = 6,0; 95 % ДИ (2,5; 14,5), popGCB иммуногистохимический подтип опухоли (ОШ = 3,2; 95 % ДИ (1,5; 6,9), а также наличие анемии любой степени тяжести (ОШ = 2,1; 95 % ДИ (1,0; 4,3)).

5. На момент дебюта заболевания мутационный профиль диффузной В-крупноклеточной лимфомы с вторичным поражением центральной нервной системы в 37,5 % случаев характеризовался наличием мутаций в генах JAK/STAT и NF-kB сигнальных путей (*MYD88*, *PIM1* и *CD79B*), в 31,2 % случаев – наличием мутаций в генах системы ремоделирования хроматина (*INO80*, *ARID1A* и *SMARCA4*).

6. С высоким риском вторичного вовлечения центральной нервной системы при диффузной В-крупноклеточной лимфоме ассоциированы рекуррентная мутация p.L265R *MYD88* (ОШ = 3,365; 95 % ДИ (1,593; 7,105), а также мутации в генах *PIM1* (ОШ = 2,214; 95 % ДИ (1,097; 4,469), *CD79B* (ОШ = 2,840; 95 % ДИ (1,061; 7,601), *INO80* (ОШ = 3,238; 95 % ДИ (1,192; 8,798) и *ARID1A* (ОШ = 2,329; 95 % ДИ (1,035; 5,240)).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. На этапах диагностики системной диффузной В-крупноклеточной лимфомы с целью выделения группы пациентов, имеющих высокий риск вторичного вовлечения в опухолевый процесс центральной нервной системы, необходимо проводить скрининговое тестирование на наличие мутации p.L265P в гене *MYD88*.

2. При доступности на этапах диагностики системной диффузной В-крупноклеточной лимфомы анализа мутационного спектра методами высокопроизводительного секвенирования (NGS) в панель анализируемых генов помимо *MID88*, *PIM1*, *CD79*, необходимо включение генов *ARID1A*, *INO80* и *SMARCA4*, мутации в которых ассоциированы с рецидивами лимфомы в центральной нервной системе.

3. Выполнение молекулярно-генетического тестирования на этапах диагностики системной диффузной В-крупноклеточной лимфомы может способствовать выявлению у больного мутаций с доказанной терапевтической значимостью и проведению у него

высокоэффективной таргетной терапии лимфомы, в том числе препаратами, проникающими через гематоэнцефалический барьер.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Мутации в генах *ARID1A* и *SMARCA4* при рецидивах диффузной В-крупноклеточной лимфомы с поражением ЦНС / Е. Н. Воропаева, Т. И. Поспелова, В. Н. Максимов [и др., в том числе **В. С. Карпова**] // **Медицинская генетика**. – 2020. – Т. 19, № 6 (215). – С. 90–92. СА (pt)
2. Мутационный профиль диффузной В-крупноклеточной лимфомы с рецидивами в центральной нервной системе / Е. Н. Воропаева, Т. И. Поспелова, **В. С. Карпова** [и др.] // **Успехи молекулярной онкологии**. – 2022. – Т. 9, № 3. – С. 69–84. Scopus
3. Современные представления о роли гематоэнцефалического барьера в развитии лимфом центральной нервной системы / Е. Н. Воропаева, **В. С. Карпова**, Т. И. Поспелова [и др.] // **Journal of Siberian Medical Sciences**. – 2022. – № 2. – 131–147.
4. Поражение центральной нервной системы при диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме / Т. И. Поспелова, Е. Н. Воропаева, **В. С. Карпова** [и др.] // **Journal of Siberian Medical Sciences**. 2022;(4):112-132.
5. **Патент № 2756909 С1** Российская Федерация, (51) МПК С12Q 1/68, С12N 15/00, (52) СПК С12/Q 1/68, С12N 15/00. Способ выявления мутации Р.Л265Р в гене *MYD88* : 2020138892 : заявл. 25.11.2020; опубл. 06.10.2021/ Воропаева Е. Н., Поспелова Т. И., Максимов В. Н., Воевода М. И., Агеева Т. А., Гуражева А. А., Иванова А. А., Мельникова Е. С., Чуркина М. И., Карпова В. С.; заявители и патентообладатели: Новосибирский государственный медицинский университет, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. – 10 с.
6. Mutational profile of diffuse large B-cell lymphoma with central nervous system relapse: analysis of CBioportal for cancer genomics database / Т. Pospelova, Е. Voropaeva, **V. Karpova** [et al.] / 2020 Cognitive Sciences, Genomics and Bioinformatics, CSGB 2020, Novosibirsk // **Proceedings-2020 Cognitive Sciences, Genomics and Bioinformatics, CSGB 2020**. – С. 190–194.
7. Мутации в генах *ARID1A* и *SMARCA4* при ДВККЛ с поражением ЦНС в рецидиве заболевания / Е. Н. Воропаева, Т. И. Поспелова, М. И. Воевода [и др., в том числе **В. С. Карпова**] / **Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов** : тезисы 9-й Всероссийской научно-практической конференции. – Новосибирск, 2020. – С. 35–36.
8. Изучение мутационного профиля ДВККЛ с вторичным вовлечением ЦНС методами секвенирования нового поколения / Е. Н. Воропаева, Т. И. Поспелова, Т. А. Агеева [и др., в том числе **В. С. Карпова**] // **Материалы конференции // Гематология и трансфузиология**. – 2020. – Т. 65, № S1. – С. 127–128.
9. **Карпова, В. С.** Характеристика поражения центральной нервной системы при диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме / **В. С. Карпова**, Е. Н. Воропаева, Т. И. Поспелова // **Актуальные вопросы трансфузиологии, онкогематологии и клеточной терапии** : сборник материалов Международной научно-практической конференции. – Киров, 2021. – С. 127–132.
10. Особенности мутационного профиля на момент дебюта заболевания случаев диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы с рецидивами в центральной нервной системе / Т. И. Поспелова, Е. Н. Воропаева, **В. С. Карпова** [и др.] // **Злокачественные лимфомы** : материалы 19-й Российской конференции с международным участием, 26–28 октября 2022 г. – Москва, 2022. – С. 27–28.

11. Поспелова, Т. И. Мутационный профиль диффузной В-крупноклеточной лимфомы с вторичным вовлечением центральной нервной системы: анализ баз и собственные данные / Т. И. Поспелова, Е. Н. Воропаева, **В. С. Карпова** / Материалы конференции // Вестник гематологии. – 2021. – Т. 17, № 2. – С. 49–50.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БТК	– тирозинкиназа Брутона
ВИЧ	– вирус иммунодефицита человека
ВНЗ	– вариант неизвестного значения
ВНП	– вариант нуклеотидной последовательности
ГБ	– гипертоническая болезнь
ГМ	– головной мозг
ГЭБ	– гематоэнцефалический барьер
ДВККЛ	– диффузная В-крупноклеточная лимфома
ДИ	– доверительный интервал
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДУЗ	– диффузный узловой зоб
ЗНО	– злокачественное новообразование
КТИ	– контрольные иммунные точки
ЛДГ	– лактатдегидрогеназа
МПИ	– международный прогностический индекс
МПИ-ЦНС	– международный прогностический индекс центральной нервной системы
МРТ	– магнитно-резонансная томография
НД	– нет данных
ОШ	– отношение шансов
ПЛЦНС	– первичная лимфома центральной нервной системы
СОЭ	– скорость оседания эритроцитов
СРБ	– С-реактивный белок
ХБП	– хронические болезни почек
ЦНС	– центральная нервная система
ЧМН	– черепно-мозговые нервы
ЩФ	– щелочная фосфатаза
ECOG	– Eastern Cooperative Oncology Group
GCB	– В-клетки зародышевого центра лимфоузла
NGS	– секвенирование нового поколения (next generation sequencing)