



Липилкин П.В.^{1,2}✉, Кулаева Е.Д.³, Арамова О.Ю.^{3,4}, Корниенко И.В.^{3,4}, Рябикина Е.В.¹, Дегтерева Е.В.¹, Шатохин Ю.В.¹

¹ Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

² Донской государственный технический университет, Ростов-на-Дону, Россия

³ Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии, Ростов-на-Дону, Россия

⁴ Федеральный исследовательский центр Южный научный центр Российской академии наук, Ростов-на-Дону, Россия

Особенности мутации с.1934dupG в гене ASXL1 при миелодиспластическом синдроме

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: поиск данных, концепция и дизайн исследования, текст рукописи – Липилкин П.В.; поиск данных, обработка и статистический анализ, редактирование – Кулаева Е.Д.; техническая часть эксперимента – Арамова О.Ю.; техническая часть эксперимента – Корниенко И.В.; редактирование – Рябикина Е.В.; редактирование – Дегтерева Е.В.; дизайн, редактирование – Шатохин Ю.В.

Благодарность. Авторы выражают благодарность пациентам и медицинскому персоналу Ростовского государственного медицинского университета за участие и помощь в проведении исследования, а также администрации кафедры генетики Академии биологии и биотехнологии Южного федерального университета за предоставленное оборудование.

Соответствие нормам этики. Исследование проводилось согласно нормам Хельсинкской декларации и было одобрено локальным независимым этическим комитетом ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, протокол № 14/20 от 24.09.2020.

Информация о спонсорстве. Работа была поддержана Фондом содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (№ 16236ГУ/2021).

Подана: 09.08.2023

Принята: 26.10.2023

Контакты: leelletter@ro.ru

Резюме

Мутация с.1934dupG в гене ASXL1 при миелодиспластическом синдроме связана с плохим прогнозом и низкой общей 5-летней выживаемостью, а также с высоким риском трансформации в острый миелоидный лейкоз. Большинство исследований этой мутации при миелодиспластическом синдроме проводилось в основном с помощью секвенирования, которое имеет ограниченную ценность в клинической практике из-за сложности рутинного использования. Хотя с.1934dupG является наиболее распространенной мутацией ASXL1 в гематологических опухолях, она мало изучена при миелодиспластическом синдроме с точки зрения ее влияния на тяжесть заболевания.

Поэтому мы провели пилотное исследование, в котором рассмотрели субъективные и объективные критерии течения миелодиспластического синдрома в зависимости от мутационного статуса с.1934dupG. Мы использовали модифицированную аллель-специфическую ПЦР и секвенирование по Сэнгеру для исследования мутации в различных вариантах миелодиспластического синдрома. Наше исследование показало, что мутация с.1934dupG встречается чаще у мужчин с миелодиспластическим синдромом, но не влияет на общую выживаемость и другие клинические, биохимические или иммунофенотипические параметры. Мы ставим под сомнение влияние



c.1934dupG, как наиболее частой мутации в гене ASXL1, на прогноз миелодиспластического синдрома.

Ключевые слова: миелодиспластический синдром, ASXL1, c.1934dupG, пилотное исследование

Lipilkin P.^{1,2}, Kulaeva E.³, Aramova O.^{3,4}, Kornienko I.^{3,4}, Ryabikina E.¹, Degtereva E.¹, Shatokhin Yu.¹

¹ Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

² Don State Technical University, Rostov-on-Don, Russia

³ Southern Federal University, Academy of Biology and Biotechnology, Rostov-on-Don, Russia

⁴ Federal Research Centre The Southern Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences, Rostov-on-Don, Russia

Features of c.1934dupG Mutation in ASXL1 Gene in Myelodysplastic Syndrome

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: data collection, study concept and design, preparation of the manuscript – Lipilkin P.; data collection, interpretation of data, editing – Kulaeva E.; submission of study materials – Aramova O.; submission of study materials – Kornienko I.; editing – Ryabikina E.; editing – Degtereva E.; design and editing – Shatokhin Yu.

Gratitude. The authors express their gratitude to the patients and medical staff of Rostov State Medical University for their participation and assistance in conducting the study, as well as to the administration of the Department of Genetics of the Academy of Biology and Biotechnology of the Southern Federal University for the equipment provided.

Compliance with ethical standards. The study was conducted in accordance with the norms of the Helsinki Declaration and was approved by the local independent Ethics Committee of the Rostov State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Protocol No. 14/20 of 09/24/2020.

Sponsorship. The work was supported by the Fund for Assistance to the Development of Small Forms of Enterprises in the Scientific and Technical Field (No. 16236GU/2021).

Submitted: 09.08.2023

Accepted: 26.10.2023

Contacts: leeletter@ro.ru

Abstract

The c.1934dupG mutation in the ASXL1 gene in myelodysplastic syndrome (MDS) is associated with a poor prognosis for overall 5-year survival and a high risk of transformation into acute myeloid leukemia (AML). Most studies of this mutation in MDS have been performed primarily with sequencing, which has a limited value in clinical practice because of the difficulty of routine use. Although c.1934dupG is the most common mutation in ASXL1 in hematologic tumors, it has been poorly studied in MDS in terms of its effect on the severity of the disease.

Therefore, we conducted a pilot study that considers subjective and objective criteria for the course of MDS depending on the mutational status of c.1934dupG. We used modified allele-specific PCR and Sanger sequencing to investigate the mutation in different MDS variants. Our study found that the c.1934dupG mutation was associated with male sex, but not with the overall survival, other clinical, biochemical or immunophenotypic parameters. We cast doubt on the influence of C.1934dupG as the most frequent mutation in the ASXL1 gene on the MDS prognosis.

Keywords: myelodysplastic syndrome, ASXL1, c.1934dupG, pilot study

■ ВВЕДЕНИЕ

Миелодиспластические синдромы (МДС) представляют собой гетерогенный спектр клональных заболеваний стволовых клеток. Шесть отдельных форм МДС определены в пересмотренной классификации опухолей кроветворной и лимфоидной ткани ВОЗ от 2017 г. [1]. Факторы, связанные с пациентом, такие как возраст и сопутствующие заболевания, важны для определения прогноза и выбора лечения, особенно при МДС низкого риска. Другие факторы, анализ которых важен для прогноза МДС, включают дисплазию костного мозга (КМ), зависимость от переливания эритроцитов, уровень лактатдегидрогеназы в сыворотке крови (ЛДГ). Наконец, иммунофенотипический анализ периферической крови и КМ также может улучшить стратификацию риска [2].

Международные прогностические системы для определения группы риска МДС включают в себя пересмотренную международную прогностическую балльную систему (IPSS-R), прогностическую балльную систему на основе классификации ВОЗ (WPSS) и индекс коморбидности МДС (MDS-CI) [3–5]. Но в этих прогностических моделях отсутствуют параметры для оценки значимости соматических мутаций. Также на данный момент недостаточно информации в отношении взаимосвязи между соматическими мутациями и определенными группами риска и формами МДС. Поэтому определение соматических мутаций у пациентов различных групп риска может дать значимые данные об их клинической роли.

Большое число соматических мутаций при МДС затрагивает белок эпигенетического регулятора ASXL1 (additional sex combs-like 1). Ген ASXL1 участвует в эпигенетической регуляции как член репрессивного комплекса Polycomb [6, 7]. Также играет важную, хотя еще не описанную на молекулярном уровне роль в эритропоэзе, что было показано с помощью нокдауна белка в CD34+ клетках пуповинной крови [8]. Клональный гемопоэз связан с возникновением соматических мутаций, включающих мутации в ASXL1 [9, 10], которые дают плохой прогноз выживаемости.

В то же время данные, связывающие мутации ASXL1 и клинические параметры, весьма ограничены. Возможность использования их идентификации в комплексной диагностике и прогнозировании МДС сохраняет как научный, так и клинический интерес, поскольку есть данные, что мутации ASXL1 чаще выявляются у пациентов с МДС высокого риска [11–13]. Важно отметить, что в новой шкале оценки риска МДС IPSS-M мутации в ASXL1 учитываются в окончательной модели, хотя они имеют один из самых низких расчетных весов [14]. Многоцентровое исследование данных показало, что мутации ASXL1 у пациентов с МДС низкого риска были связаны с высоким риском прогрессирования заболевания [15]. Поэтому важно понять, каким образом мутации в гене ASXL1 способствуют трансформации МДС в острый миелоидный лейкоз (ОМЛ).

На патогенез МДС могут влиять различные мутации в гене ASXL1. Наиболее часто мутации встречаются в экзоне 12, и самая распространенная из них – дупликация гуанина в положении 1934 в области 8G-гомополимера, что приводит к сдвигу рамки считывания и появлению стоп-кодона на 12 кодонов ниже места дупликации (обозначается как с.1934dupG, p.Gly646fs). Это приводит к трансляции усеченного на С-конце протеина, способствующего нарушению гемопоэза [16–19]. Мутация с.1934dupG является наиболее частой в ASXL1 согласно базе данных COSMIC и недавнему исследованию 6043 пациентов с гематологическими новообразованиями [20].



Согласно недавнему исследованию Wang и соавт., мутации со сдвигом рамки в ASXL1 (включая с.1934dupG) действуют как дестабилизирующие мутации и кодируют крайне стабильные усеченные протеины, а усеченный протеин ASXL1 повышает стабильность белка BAP1, усиливает рекрутирование BAP1 в хроматин и способствует экспрессии пролейкемической транскрипционной сигнатуры [21]. Мутация с.1934dupG долгое время считалась артефактом методов ПЦР или секвенирования из-за сложностей с амплификацией G-гомополимерных участков и получением ложноположительных результатов [22]. Однако проведенный анализ с помощью секвенирования по Сэнгеру не подтвердил артефактную природу мутации с.1934dupG и выявил ее в клетках КМ и крови у пациентов с миелопролиферативными заболеваниями [23].

С учетом ограничений секвенирования по Сэнгеру (15–20% мутационного бремени в образце) [24], необходим простой и эффективный способ обнаружения данной мутации. Удобным является использование методов на основе ПЦР, например аллель-специфической ПЦР, для идентификации 8G- и 9G-вариантов [25] или фрагментного анализа [24].

В нашем исследовании мы использовали модифицированную аллель-специфическую ПЦР, основанную на протоколе Yapakou и соавт. [25], чтобы оценить частоту мутации с.1934dupG в гене ASXL1 у пациентов с МДС.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить значимость миссенс-мутации с.1934dupG в гене ASXL1 для диагностики и прогнозирования МДС.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты. В исследование были включены 50 пациентов с подтвержденным МДС, получавших лечение в период с сентября 2019 по июнь 2022 г. в клинике Ростовского государственного медицинского университета и ГБУ РО «Городская больница № 7» в г. Ростове-на-Дону. В выборку были включены 33 пациента мужского пола и 17 пациентов женского пола в возрасте от 18 до 83 лет (средний возраст 57 лет). Медиана наблюдения составила 17 месяцев (1,4–34 месяца). Всем пациентам был поставлен диагноз и проведено лечение в соответствии с действующими клиническими рекомендациями и стандартами оказания помощи пациентам Министерства здравоохранения РФ [26]. Информированное согласие было получено в соответствии с протоколами, одобренными этическим комитетом Ростовского государственного медицинского университета. Клиническая характеристика пациентов представлена в табл. 1. Пациенты с МДС на момент включения в исследование либо уже имели верифицированный диагноз (n=11), либо это был впервые выявленный случай заболевания (n=39).

Критерием включения пациента в исследование являлось выполнение всего объема диагностических исследований, необходимого для верификации МДС и его варианта: анализ крови на гематологическом анализаторе с подсчетом клеток крови, подсчетом бластов в периферической крови (ПК) и КМ, оценка дисплазии, цитогенетическое исследование клеток КМ для выявления изолированной аномалии кариотипа по типу делеции 5q или других. Для определения риска по шкале IPSS-M мы использовали веб-калькулятор, предоставленный авторами IPSS-M (<https://mds-risk-model.com/>).

Таблица 1
Клинические и молекулярные характеристики пациентов
Table 1
Clinical and molecular characteristics of patients

Параметр		Число пациентов, абс.
Пол, м/ж		33/17
Возрастные группы, чел.	<65	30
	≥65	20
Эритроциты, 10 ¹² /л	<3,8	47
	≥3,8	3
Гемоглобин, г/л	<100	42
	≥100	18
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	<1,8	31
	≥1,8	19
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	<100	34
	≥100	16
Бласты в периферической крови	<1	29
	≥1	21
Палочки Ауэра	+	1
	–	49
Бласты в костном мозге, %	0–5	31
	6–9	6
	≥10	13
Лактатдегидрогеназа, Ед/л	131–460	29
	>460	21
Фиброз костного мозга		2
Экспрессия CD34+		8
Экспрессия CD13/CD16		7
del5q		3
del7q		6
+8		1
Трансфузионная зависимость	1 или более раз каждые 8 недель за 4 месяца	12
	Менее 1 раза каждые 8 недель за 4 месяца	38
Трансформация в острый миелоидный лейкоз		15
Смерть		10
Классификация ВОЗ	МДС-УЛД	9
	МДС-МЛД	16
	MDS с del(5q)	3
	МДС с кольцевыми сидеробластами	1
	МДС-ИБ-1	10
	МДС-ИБ-2	11
IPSS-R, абс.	Очень низкий	5
	Низкий	15
	Промежуточный	7
	Высокий	21
	Очень высокий	2



Окончание таблицы 1

Параметр		Число пациентов, абс.
WPSS	Очень низкий	2
	Низкий	9
	Промежуточный	21
	Высокий	18
	Очень высокий	0
MDS-CI	Низкий	11
	Промежуточный	33
	Высокий	6
IPSS-M	Очень низкий	1
	Низкий	4
	Умеренно низкий	7
	Умеренно высокий	11
	Высокий	0
	Очень высокий	13

Выделение ДНК. Тотальную ДНК из периферической крови выделяли с помощью наборов ДНК-ЭКСТРАН-1 («Синтол», Россия) и ExtractDNA Blood & Cells (Evrogen, Россия).

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Для выявления мутации с.1934dupG в ASXL1 использовали аллель-специфическую ПЦР с 2 парами праймеров, как описано у Yannakou и соавт. [25]. Суть анализа заключается в параллельной амплификации матрицы с помощью 2 пар праймеров: 8G-, который амплифицирует нормальную матрицу, и 9G-, который амплифицирует матрицу с мутацией. Обратный праймер был оптимизирован с помощью Primer3 (<https://primer3.ut.ee/>) для снижения комплементарности на 3'-конце и уменьшения образования димеров праймеров в реакции.

Секвенирование по Сэнгеру. Результаты ПЦР проверяли секвенированием по Сэнгеру. Продукты ПЦР очищали с помощью спин-колонок GeneJET PCR Purification (Thermo Fisher Scientific, США). Секвенирование ампликонов проводили с использованием набора для секвенирования ДНК BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction v. 3.1 (Thermo Fisher Scientific, США).

Реакцию секвенирования проводили в GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, США) с использованием одного из оптимизированных праймеров.

Продукты секвенирования очищали с помощью набора DyeEx 2.0 Spin Kit (Qiagen, США). Капиллярный электрофорез продуктов секвенирования проводили на ДНК-анализаторе ABI PRISM 3130xl (Applied Biosystems, США). Анализ нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программного обеспечения Sequencing Analysis (версия 5.3).

Статистический анализ и визуализация. Статистический анализ данных и визуализация были выполнены с помощью R 4.3.0. Анализ выживаемости проводился с помощью пакетов survival и survminer, результаты регрессионного анализа визуализировались с помощью пакетов sjPlot, sjlabelled и sjmisc, для визуализации результатов корреляционного анализа использовался пакет corrplot.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты детекции мутации с.1934dupG. Выявление мутации с.1934dupG в гене ASXL1 было возможно для 43 из 50 пациентов с МДС, так как у 7 пациентов ДНК не могла быть выделена в достаточной для ПЦР концентрации из-за лейкопении (количество лейкоцитов $\leq 2,81 \times 10^9/\text{л}$). Распределение мутантных образцов в зависимости от клинического варианта МДС на основании пересмотренной классификации ВОЗ 2017 г. представлено в табл. 2.

Мутация с.1934dupG в гене ASXL1 была обнаружена при МДС у 28 мужчин (84,8%) и 8 женщин (47,1%), $p=0,03$. Медиана возраста пациентов без мутации составила 56 лет (18–82), с мутацией – 56,5 (32–81).

Анализ выживаемости. Для оценки влияния пола, возраста (отсечка для группировки – 65 лет), статуса мутации с.1934dupG, blasts в КМ (более и менее 5%) и варианта МДС были построены кривые Каплана – Мейера. Только

Таблица 2
Результаты детекции мутации ASXL1 с.1934dupG в зависимости от варианта МДС
Table 2
Results of detection of the ASXL1 с.1934dupG mutation depending on the MDS variant

Вариант МДС	Общее число пациентов, абс.	Число пациентов с мутацией с.1934dupG, абс.	%
МДС с однолинейной дисплазией	7	4	57
МДС с мультилинейной дисплазией	13	8	61
МДС с изолированной делецией 5q	3	2	67
МДС с избытком бластов, тип 1	8	6	75
МДС с избытком бластов, тип 2	11	7	63
МДС с кольцевыми сидеробластами	1	1	100

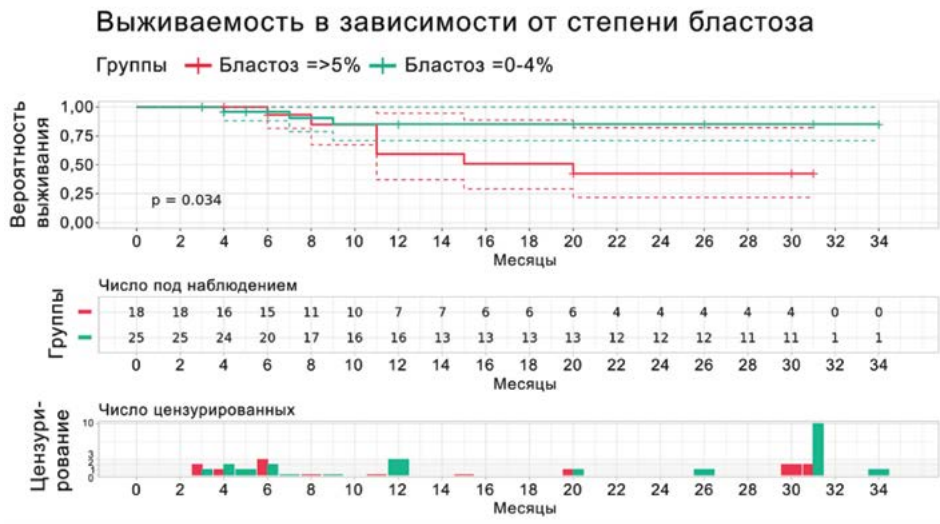


Рис. 1. Кривые Каплана – Мейера для бластов в КМ
Fig. 1. Kaplan – Meyer curves for blasts in BM

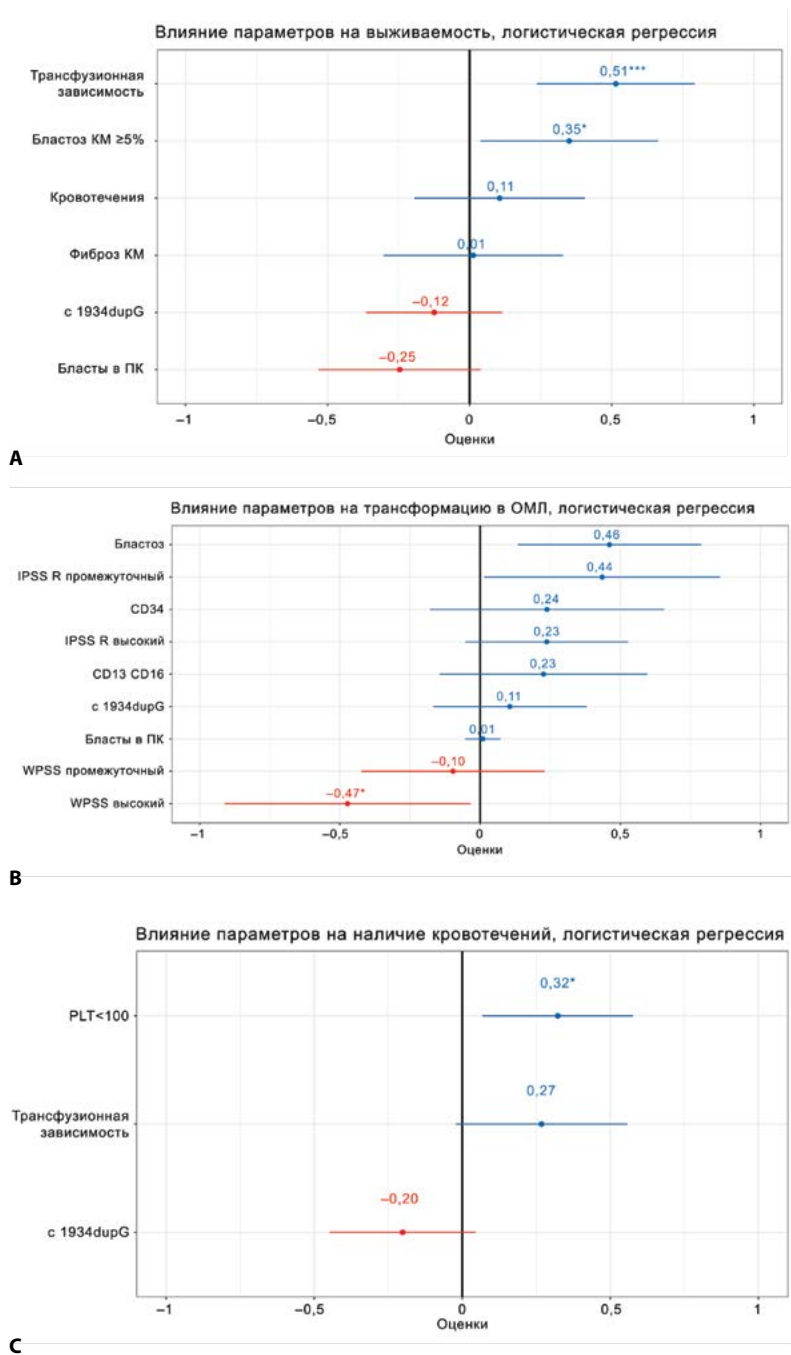


Рис. 2. Регрессионный анализ для оценки общей выживаемости (А), трансформации в ОМЛ (В) и кровотечений (С) у пациентов с МДС
Fig. 2. Regression analysis to assess overall survival (A), transformation to AML (B) and bleeding (C) in patients with MDS

бласты в КМ выше 5% оказали отрицательное влияние на выживаемость пациентов с МДС ($p=0,0035$), но после проведения поправки на множественные сравнения это влияние не было статистически значимым, а оставалось на уровне тенденции. Мутация c.1934dupG также не влияла на выживаемость пациентов с МДС. Выживаемость в исследовании считалась от первого дня терапии до дня смерти от любой причины. Точкой цензурирования была дата последнего контакта с пациентом или дата проведения любого лабораторного анализа для пациентов, находившихся в это время под наблюдением в гематологическом отделении.

Регрессионный анализ. Мы провели логистический регрессионный анализ для предсказания общей выживаемости и трансформации в ОМЛ (рис. 2А; 2В). Выживаемость пациентов с МДС была статистически значимо связана с наличием трансфузионной зависимости, а вероятность трансформации в ОМЛ была связана с абсолютным количеством бластов в КМ. Мы также провели линейный регрессионный анализ для изучения взаимосвязи между кровотечениями, количеством тромбоцитов, трансфузионной зависимостью и мутацией c.1934dupG у пациентов с МДС (рис. 2С). Кровотечения в модели были статистически значимо связаны только с низким уровнем тромбоцитов. Примечательно, что наличие мутации c.1934dupG не было связано ни с одним из показателей, оцененных в регрессионных моделях.

Ассоциация между мутацией c.1934dupG и клиническими параметрами крови и костного мозга. Чтобы оценить влияние мутации c.1934dupG на клинические параметры крови и КМ, мы провели однофакторный дисперсионный анализ

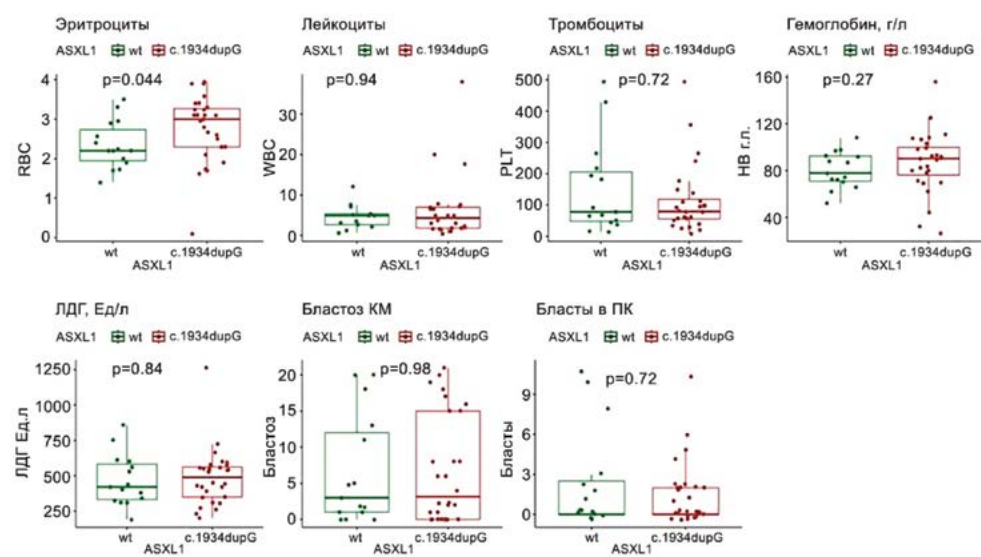


Рис. 3. Однофакторный дисперсионный анализ для различных параметров у пациентов с МДС с мутацией c.1934dupG и без нее

Fig. 3. One-factor analysis of variance for various parameters in patients with MDS with and without c.1934dupG mutation



для оценки числа эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, содержания гемоглобина, уровня бластов в КМ и периферической крови, а также концентрации ЛДГ (рис. 3). Только количество эритроцитов было выше у пациентов с МДС и мутацией с.1934dupG и имело уровень значимости $p < 0,05$, но после поправки на множественные сравнения эта разница не была статистически значимой.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

В данном исследовании мы обнаружили, что мутация с.1934dupG в ASXL1 встречается при различных клинических вариантах МДС, а также у пациентов разного возраста и групп риска прогностических балльных систем. Мы не обнаружили ассоциации между наличием с.1934dupG и трансформацией МДС в ОМЛ, в то время как это было продемонстрировано в других исследованиях [11]. Однако важно отметить, что в нашем исследовании доля мужчин с мутацией с.1934dupG в ASXL1 была выше, чем у женщин. Как известно, предыдущие исследования не показали ассоциации между мутацией с.1934dupG и полом пациентов с МДС [11, 27, 28]. Широко известно, что мужской пол является фактором риска развития МДС, а выживаемость мужчин с МДС ниже, чем у женщин [29]. Различия в мутационном и эпигенетическом ландшафте гематологических новообразований активно изучаются. Например, метаанализ 1689 пациентов с МДС и хроническим миеломоноцитарным лейкозом показал связь мутаций в ASXL1 с мужским полом только для пациентов с МДС [13]. Однако неизвестно, была ли эта ассоциация обнаружена из-за того, что МДС чаще встречается у мужчин в целом, или из-за функциональной корреляции между мужским полом и мутациями.

Мутация с.1934dupG не влияла на общую выживаемость при МДС в нашей когорте пациентов, что согласуется с результатами исследования Sallman и соавт. [28]. Фактически не было проведено ни одного масштабного исследования или метаанализа, направленного на оценку влияния непосредственно мутации с.1934dupG на выживаемость при МДС, что делает выводы по этой теме крайне ограниченными. Несмотря на то, что мутации в ASXL1 в целом негативно влияют на прогноз при МДС, а с.1934dupG является одной из наиболее частых мутаций в этом гене, исследования, изучающие взаимосвязь этой мутации и выживаемости, демонстрируют низкую корреляцию. Это может означать, что другие мутации в ASXL1, которые встречаются реже, могут иметь больший потенциал влияния на выживаемость при МДС. Но при этом низкая частота таких мутаций ограничивает возможность применения их идентификации при МДС в реальной клинической практике.

Известно, что мутации в ASXL1 появляются либо в миелоидных предшественниках, либо в процессе миелоидной дифференцировки. Мутация с.1934dupG может возникать на ранних этапах гемопоэза по сравнению с другими мутациями ASXL1 [30]. В нашей работе мы оценили связь этой мутации с основными лабораторными параметрами крови и КМ, которые часто используются в диагностике. Мы не обнаружили связи между с.1934dupG и клиническими, биохимическими или иммунофенотипическими параметрами с помощью корреляционного анализа. Это может подтвердить предположение о том, что, хотя мутация с.1934dupG является частой, она может не вносить существенного вклада в течение МДС [24].

Наше исследование имеет ряд ограничений: во-первых, оно имеет небольшой размер выборки. Во-вторых, мы не оценивали другие мутации в ASXL1, чтобы определить их влияние на прогноз и другие изученные параметры. Кроме того, частота

мутации с.1934dupG в нашем исследовании выше по сравнению с аналогичными исследованиями, анализирующими мутации в ASXL1 в целом, что является необычным фактом для интерпретации. Но, как было сказано выше, секвенирование по Сэнгеру дает положительный результат при большей мутационной нагрузке с.1934dupG, чем модифицированная аллель-специфическая ПЦР (15–20% против 3%) [24, 25], что приводит к мысли о том, что реальная частота мутации с.1934dupG при МДС может быть выше, чем предполагалось в предыдущих исследованиях, так как это зависит от чувствительности используемого в исследовании молекулярно-генетического метода.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном экспериментальном исследовании мы оценили частоту мутации с.1934dupG в ASXL1 при МДС с помощью аллель-специфической ПЦР и обнаружили, что она не связана с клиническими или другими параметрами МДС. Однако мутация с.1934dupG в ASXL1 встречается чаще у мужчин, чем у женщин с МДС.

Необходимо исследовать менее частые мутации в гене ASXL1, чтобы определить, какие из них вносят значимый вклад в прогноз и клиническое течение МДС, и установить функциональную связь (или ее отсутствие) между этими мутациями и мужским полом пациентов с МДС.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2391–405. Available at: <https://ashpublications.org/blood/article/127/20/2391/35255/The-2016-revision-to-the-World-Health-Organization> (accessed 2023 Feb 5).
2. Fu B, Ok CY, Goswami M, Xei W, Jaso JM, Muzzafar T, et al. The clinical importance of moderate/severe bone marrow fibrosis in patients with therapy-related myelodysplastic syndromes. *Ann Hematol*. 2013 Oct 10;92(10):1335–43. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00277-013-1776-3> (accessed 2023 Feb 5).
3. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, Garcia-Manero G, Solé F, et al. Revised International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes. *Blood*. 2012 Sep 20 ;120(12):2454–65. Available at: <https://ashpublications.org/blood/article/120/12/2454/30571/Revised-International-Prognostic-Scoring-System> (accessed 2023 Feb 5).
4. Malcovati L, Porta MGD, Strupp C, Ambaglio I, Kuendgen A, Nachtigal K, et al. Impact of the degree of anemia on the outcome of patients with myelodysplastic syndrome and its integration into the WHO classification-based Prognostic Scoring System (WPSS). *Haematologica*. 2011 Oct;96(10):1433. Available at: <https://pmc/articles/PMC3186303/> (accessed 2023 Feb 5).
5. Breccia M, Federico V, Loggisci G, Salaroli A, Serrao A, Alimena G. Evaluation of overall survival according to myelodysplastic syndrome-specific comorbidity index in a large series of myelodysplastic syndromes. *Haematologica*. 2011 Oct 1;96(10):e41–2. Available at: <https://haematologica.org/article/view/6111> (accessed 2023 Feb 5).
6. Montalban-Bravo G, Garcia-Manero G. Myelodysplastic syndromes: 2018 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol*. 2018 Jan 1;93(1):129–47. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ajh.24930> (accessed 2023 Feb 5).
7. Benlabiod C, Dagher T, Marty C, Villeval JL. Lessons from mouse models of MPN. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2022 Jan 1;366:125–85.
8. Shi H, Yamamoto S, Sheng M, Bai J, Zhang P, Chen R, et al. ASXL1 plays an important role in erythropoiesis. *Scientific Reports*. 2016 Jun 29;6(1):1–11. Available at: <https://www.nature.com/articles/srep28789> (accessed 2023 Apr 25).
9. Voso MT, Lo-Coco F, Fianchi L. Epigenetic therapy of myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Curr Opin Oncol*. 2015 Oct;9(27):532–9. Available at: https://journals.lww.com/co-oncology/Fulltext/2015/11000/Epigenetic_therapy_of_myelodysplastic_syndromes.16.aspx (accessed 2023 Feb 5).
10. Asada S, Fujino T, Goyama S, Kitamura T. The role of ASXL1 in hematopoiesis and myeloid malignancies. *Cellular And Molecular Life Sciences*. 2019;76(13):2511–23.
11. Thol F, Friesen I, Damm F, Yun H, Weissinger EM, Krauter J, et al. Prognostic significance of ASXL1 mutations in patients with myelodysplastic syndromes. *Journal of Clinical Oncology*. 2011 Jun 20;29(18):2499–506.
12. Inoue D, Kitaura J, Matsui H, Hou HA, Chou WC, Nagamachi A, et al. SETBP1 mutations drive leukemic transformation in ASXL1-mutated MDS. *Leukemia*. 2014 Oct 13;29(4):847–57. Available at: <https://www.nature.com/articles/leu2014301> (accessed 2023 Feb 5).
13. Lin Y, Zheng Y, Wang ZC, Wang SY. Prognostic significance of ASXL1 mutations in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukemia: A meta-analysis. *Hematology*. 2016 Sep 13;21(8):454–61. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10245332.2015.1106815> (accessed 2023 Mar 5). doi: 10.1080/10245332.2015.1106815
14. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, Garcia-Manero G, Solé F, et al. Revised International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes. *Blood*. 2012 Sep 20;120(12):2454–65. Available at: <https://ashpublications.org/blood/article/120/12/2454/30571/Revised-International-Prognostic-Scoring-System> (accessed 2023 Apr 25).



15. Polprasert C, Niparuck P, Rattanathammethee T, Chuncharunee S, Kobbuaklee S, Songserm K, et al. Excellent Prognosis of Low-Risk Myelodysplastic Syndromes (MDS) Without Detectable Myeloid-Related Mutations. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2022 May 1;22(5):e293–9.
16. Gelsi-Boyer V, Brecqueville M, Devillier R, Murati A, Mozziconacci MJ, Birnbaum D. Mutations in ASXL1 are associated with poor prognosis across the spectrum of malignant myeloid diseases. *J Hematol Oncol*. 2012 Mar 21;5(1):1–6. Available at: <https://jhoonline.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-8722-5-12> (cited 2023 Feb 5).
17. Montes-Moreno S, Routbort MJ, Lohman EJ, Barkoh BA, Kanagal-Shamanna R, Bueso-Ramos CE, et al. Clinical molecular testing for ASXL1 c.1934dupG p.Gly646fs mutation in hematologic neoplasms in the NGS era. *PLoS One*. 2018 Sep 1;13(9):e0204218. Available at: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0204218> (accessed 2023 Feb 5).
18. Zhang A, Wang S, Ren Q, Wang Y, Jiang Z. Prognostic value of ASXL1 mutations in patients with myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia: A meta-analysis. *Asia Pac J Clin Oncol*. 2022 Dec 5. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36471477/> (accessed 2023 Feb 5).
19. Wang L, Birch NW, Zhao Z, Nestler CM, Kazmer A, Shilati A, et al. Epigenetic targeted therapy of stabilized BAP1 in ASXL1 gain-of-function mutated leukemia. *Nature Cancer*. 2021 May 25;2(5):515–26. Available at: <https://www.nature.com/articles/s43018-021-00199-4> (accessed 2023 Feb 5).
20. Mutation overview page ASXL1 – p.G646Wfs*12 (Insertion – Frameshift). Available at: <https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/mutation/overview?id=116477554> (accessed 2023 Feb 5).
21. S J, J H, L R, J G, C C, D R, et al. *Comprehensive Genomic Profiling Reveals Molecular Subsets of ASXL1-Mutated Myeloid Neoplasms*. 2022 Oct 11. Available at: <https://europepmc.org/article/ppr/ppr556674> (accessed 2023 Feb 5).
22. Abdel-Wahab O, Kilpivaara O, Patel J, Busque L, Levine RL. The most commonly reported variant in ASXL1 (c.1934dupG;p.Gly646TrpfsX12) is not a somatic alteration. *Leukemia*. 2010 Jul 1;24(9):1656–7. Available at: <https://www.nature.com/articles/leu2010144> (accessed 2023 Feb 5).
23. Metzeler KH, Becker H, Maharry K, Radmacher MD, Kohlschmidt J, Mrózek K, et al. ASXL1 mutations identify a high-risk subgroup of older patients with primary cytogenetically normal AML within the ELN Favorable genetic category. *Blood*. 2011 Dec 22;118(26):6920–9. Available at: <https://ashpublications.org/blood/article/118/26/6920/29459/ASXL1-mutations-identify-a-high-risk-subgroup-of> (accessed 2023 Feb 5).
24. Friedrich C, Zalmāi L, Gay J, Coude MM, Bravetti C, Vazquez R, et al. PCR-Fluo-ASXL1-FA: A fast, sensitive and inexpensive complementary method to detect ASXL1 mutations in haematological malignancies. *Int J Lab Hematol*. 2022 Oct 1;44(5):928–33. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ijlh.13931> (accessed 2023 Feb 5).
25. Yannakou CK, Jones K, McBean M, Thompson ER, Ryland GL, Doig K, et al. ASXL1 c.1934dup;p.Gly646Trpfs*12 – a true somatic alteration requiring a new approach. *Blood Cancer Journal*. 2017 Dec 20;7(12):1–4. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41408-017-0025-8> (accessed 2023 Feb 5).
26. Rubricator of clinical recommendations. Available at: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/141_1 (accessed 2023 Feb 5).
27. Johnson SM, Ramkissoon L, Haberberger J, Ferguson NL, Galeotti J, Richardson DR, et al. Comprehensive Genomic Characterization of ASXL1 C.1934dupG (p.G646fs*12) Versus Other ASXL1 mutations in Myeloid Neoplasia. *Blood*. 2021 Nov 23;138(Supplement 1):3466.
28. Sallman D, Padron E, Vaupel C, Cluzeau T, Al Ali NH, Lancet JE, et al. Prognostic Impact of ASXL1 Mutations in MDS and CMML. *Blood*. 2015 Dec 3;126(23):1673.
29. Wang F, Ni J, Wu L, Wang Y, He B, Yu D. Gender disparity in the survival of patients with primary myelodysplastic syndrome. *J Cancer*. 2019;10(5):1325. Available at: <https://pmc/articles/PMC6400681/> (accessed 2023 Mar 5).
30. Hartmann L, Hecker JS, Rothenberg-Thurley M, Rivière J, Jentzsch M, Ksienzyk B, et al. Compartment-specific mutational landscape of clonal hematopoiesis. *Leukemia*. 2022 Sep 21;36(11):2647–55. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41375-022-01700-3> (accessed 2023 Mar 5).