

МИНОРНЫЕ КЛОНЫ С ВНУТРЕННЕЙ ТАНДЕМНОЙ ДУПЛИКАЦИЕЙ ГЕНА *FLT3* ПРИ *NPM1*-ПОЗИТИВНОМ ОСТРОМ МИЕЛОИДНОМ ЛЕЙКОЗЕ

Сидорова Ю.В.^{1*}, Костромина М.А.², Северина Н.А.¹, Бидерман Б.В.¹, Чабаева Ю.А.¹, Куликов С.М.¹, Кашлакова А.И.¹, Дробинина А.П.¹, Лукьянова И.А.¹, Судариков А.Б.¹, Паровичникова Е.Н.¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, г. Москва, Российская Федерация

² Факультет фундаментальной медицины МНОИ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова», 119991, г. Москва, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Введение. Внутренние тандемные дупликации (internal tandem duplication, ITD) в гене FMS-подобной тирозинкиназы 3 (*FLT3*) — фактор неблагоприятного прогноза при остром миелоидном лейкозе (ОМЛ). Своевременное обнаружение *FLT3*-ITD позволяет определить группу риска ОМЛ и назначить таргетные препараты.

Цель: оценить частоту выявления минорных клонов *FLT3*-ITD и их ассоциацию с прогнозом и динамикой минимальной остаточной болезни у больных с *NPM1*-позитивным ОМЛ.

Материалы и методы. В исследование включены 58 больных ОМЛ, относившихся к промежуточной или благоприятной группам риска, имевших мутацию гена *NPM1*. Больным проводили терапию по протоколу «ОМЛ-21». Молекулярно-генетическую диагностику мутаций *FLT3* проводили методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) с фрагментным анализом (ПЦР-ФА), ПЦР-ФА с двойной меткой и методом ПЦР с тандемной дупликацией (ТД-ПЦР), мутаций *NPM1* — методами ПЦР-ФА (первичная диагностика), аллель-специфичной ПЦР (для оценки минимальной остаточной болезни (МОБ)).

Результаты. Применение ПЦР-ФА с двойной меткой и ТД-ПЦР позволило идентифицировать минорные клоны *FLT3*-ITD у 12 (36 %) из 33 больных, у которых данные клоны не были выявлены стандартным методом, а также выявить дополнительные мутации *FLT3*-ITD у 52 % (у 13 из 25) «*FLT3*-позитивных» больных. На исследованной когорте значимой ассоциации наличия минорных клонов *FLT3*-ITD с динамикой снижения МОБ, частотой достижения МОБ-негативного статуса, общей и безрецидивной выживаемости у больных с *NPM1*(+) ОМЛ не было обнаружено.

Заключение. Ассоциация минорных клонов *FLT3*-ITD с клиническими особенностями заболевания у больных ОМЛ и мутациями гена *NPM1* минимальна или отсутствует. У этих больных не требуется применение дополнительных более чувствительных методов выявления мутаций *FLT3*-ITD на первичном этапе диагностики и включение ингибиторов тирозинкиназ в программную терапию. Однако окончательные выводы можно будет сделать, если будет показано, что выявление в дебюте минорных клонов с мутацией *FLT3*-ITD не ассоциировано с возникновением рецидивов с учетом выполняемого протокола лечения.

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз, ПЦР, *FLT3*-ITD, минорные клоны, фрагментный анализ, капиллярный электрофорез, *NPM1*, МОБ

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование проведено без спонсорской поддержки.

Для цитирования: Сидорова Ю.В., Костромина М.А., Северина Н.А., Бидерман Б.В., Чабаева Ю.А., Куликов С.М., Кашлакова А.И., Дробинина А.П., Лукьянова И.А., Судариков А.Б., Паровичникова Е.Н. Минорные клоны с внутренней тандемной дупликацией гена *FLT3* при *NPM1*-позитивном остром миелоидном лейкозе. Гематология и трансфузиология. 2026; 71(1):46–59. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2026-71-1-46-59>

MINOR CLONES WITH INTERNAL TANDEM DUPLICATION OF THE *FLT3* GENE IN *NPM1*-POSITIVE ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Sidorova Yu.V.^{1*}, Kostromina M.A.², Severina N.A.¹, Biderman B.V.¹, Chabaeva Yu.A.¹, Kulikov S.M.¹, Kashlakova A.I.¹, Drobinina A.P.¹, Lukyanova I.A.¹, Sudarikov A.B.¹, Parovichnikova E.N.¹

¹ National Medical Research Center for Hematology; 125167, Moscow, Russian Federation

² Faculty of Fundamental Medicine MREI, M.V. Lomonosov Moscow State University; 119991, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Internal tandem duplication (ITD) in the FMS-like tyrosine kinase 3 (*FLT3*) gene is a poor prognostic factor in acute myeloid leukemia (AML). Identification of a group of such patients raises the question of prescribing targeted therapy to them.

Aim: to assess the significance of minor *FLT3*-ITD clones in AML with *NPM1* mutation.

Materials and methods. The study included 58 patients belonging to the intermediate or favorable risk group. Patients underwent therapy according to the AML-21 protocol. Molecular genetic diagnostics of *FLT3* mutations was performed by polymerase chain reaction (PCR) with fragment analysis (PCR-FA), PCR-FA with double label and tandem duplication PCR (TD-PCR), *NPM1* mutations — by PCR-FA (primary diagnostics) and allele-specific PCR to assess minimal residual disease (MRD).

Results. Using double-labeled PCR-FA and TD-PCR, allowed to identify minor *FLT3*-ITD clones in 12 (36 %) of 33 patients in whom these clones were not detected by the standard method. We also identified additional *FLT3*-ITD mutations in 13 (52 %) of 25 *FLT3*-positive patients. In the studied cohort no significant association of minor *FLT3*-ITD clones with the dynamics of MRD reduction, the percentage of patients achieving MRD-negative status, overall and relapse-free survival among patients with *NPM1*(+) AML was found.

Conclusion. The association of minor *FLT3*-ITD clones with clinical features of the disease in patients with AML and *NPM1* gene mutations is minimal or absent. It can be assumed that these patients do not require the use of additional more sensitive methods for detecting *FLT3*-ITD mutations at the primary stage of diagnosis and the inclusion of tyrosine kinase inhibitors in program therapy. However, final conclusions can be made if it is shown that the detection of minor clones with *FLT3*-ITD mutation at the onset is not associated with the occurrence of relapses, taking into account the treatment protocol.

Keywords: acute myeloid leukemia; PCR; *FLT3*-ITD; minor clones; fragment analysis; capillar electrophoresis; *NPM1*; MRD

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Sidorova Yu.V., Kostromina M.A., Severina N.A., Biderman B.V., Chabaeva Yu.A., Kulikov S.M., Kashlakova A.I., Drobinina A.P., Lukyanova I.A., Sudarikov A.B., Parovichnikova E.N. Minor clones with internal tandem duplication of the *FLT3* gene in *NPM1*-positive acute myeloid leukemia. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfuziologiya*). 2026; 71(1):46–59 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2026-71-1-46-59>

Введение

Внутренние тандемные дубликации (internal tandem duplication, ITD) в гене FMS-подобной тирозинкиназы 3 (*FLT3*) — фактор неблагоприятного прогноза при остром миелоидном лейкозе (ОМЛ). FMS-подобная тирозинкиназа, трансмембранный рецептор семейства тирозинкиназ 3, играет ключевую роль в раннем развитии миелоидных и лимфоидных

предшественников в костном мозге [1–3]. Мутация *FLT3*-ITD, представляющая собой внутреннюю тандемную дубликацию в пределах 14–15 экзонов, встречается приблизительно у 25 % больных ОМЛ и ассоциирована с неблагоприятным прогнозом: высоким риском рецидива, худшими показателями общей выживаемости (ОВ) и безрецидивной выживаемости

(БРВ) [4–9]. Своевременное обнаружение *FLT3*-ITD позволяет определить группу риска ОМЛ и назначить таргетные препараты — ингибиторы тирозинкиназ (ИТК). Применение ИТК позволяет достичь лучших долгосрочных результатов ОВ и БРВ [10–14].

Мутации гена *FLT3* в ряде случаев носят характер поздних онкогенных событий и приводят к субклональной гетерогенности опухоли [15, 16]. Субклоны с мутациями *FLT3*-ITD могут составлять лишь незначительную часть основного опухолевого клона, зачастую в дебюте наблюдаются множественные мутации *FLT3*-ITD с различной аллельной нагрузкой, смена доминирующих клонов в процессе лечения или при рецидиве [17–20]. Все вышперечисленное, а также вариативный размер дупликаций от 3 до 300 нуклеотидов и различные локализации вставок затрудняют диагностику.

«Золотым стандартом» определения *FLT3*-ITD является метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим фрагментным анализом (ПЦР-ФА), который выполняют при помощи капиллярного электрофореза [21–23]. Нижний порог выявления клеток с *FLT3*-ITD мутацией при использовании этого метода не превышает 1% [24]. Разработаны более чувствительные методы детекции вставок *FLT3*: дельта ПЦР, ПЦР с тандемной дупликацией (ТД-ПЦР), пациент-специфичная ПЦР, высокопроизводительное секвенирование (ВПС) высокого разрешения [25–31]. Чувствительные методы позволяют выявить минорные клоны *FLT3*-ITD, т.е. клоны с аллельной нагрузкой менее 1%. Таким образом, закономерным следствием увеличения порога детекции становится увеличение числа больных с *FLT3*-ITD, у которых клоны с мутацией не были обнаружены стандартным методом.

Для исследования ассоциации наличия минорных клонов *FLT3*-ITD с прогнозом заболевания была выбрана хорошо охарактеризованная группа больных ОМЛ с мутацией в гене *NPM1* (нуклеофозмин 1). Нуклеофозмин — ядрышковый белок, который играет ключевую роль в биогенезе рибосом, дупликации centrosom, стабильности генома, клеточном цикле и апоптозе. Соматические мутации, вставки 4 нуклеотидов в экзоне 12 гена *NPM1* являются наиболее частой генетической аномалией при ОМЛ у взрослых, обнаруживаемой в 35% всех случаев и в 60% — у больных с нормальным кариотипом [4, 5, 32, 33]. Мутации гена *NPM1* при отсутствии неблагоприятных генетических аномалий считаются фактором благоприятного прогноза при ОМЛ [6, 34, 35]. В половине случаев мутации гена *NPM1* при ОМЛ сочетаются с *FLT3*-ITD, часто с мутациями в генах метилирования ДНК (*DNMT3A*, *TET2*, *IDH1/2*), но крайне редко сочетаются с другими неблагоприятными генетическими аномалиями [36–40]. ОМЛ с мутацией гена *NPM1* выделен в отдельную нозологическую форму в классификации ВОЗ [41].

Молекулярно-генетические методы позволяют отслеживать минимальную остаточную болезнь (МОБ) методом аллель-специфичной ПЦР по мутации гена *NPM1* с чувствительностью до 10^{-5} [42–45].

Цель настоящего исследования: оценить частоту выявления минорных клонов *FLT3*-ITD и их ассоциацию с прогнозом и динамикой МОБ у больных с *NPM1*-позитивным ОМЛ.

Материалы и методы

В исследование включены 58 больных ОМЛ, имевших мутацию гена *NPM1*, относившиеся к благоприятной или промежуточной группе риска по классификации ELN 2017 [46]. Клинико-лабораторную диагностику и мониторинг выполняли в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России с января 2021 по апрель 2025 г. Больным проводили терапию в рамках пилотного многоцентрового исследования «ОМЛ-21» на базах центров-участников: ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, ОКБ, г. Екатеринбург, ГБУЗ ЯО ОКБ, г. Ярославль, НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой г. Санкт-Петербург, ГКБ № 31, г. Санкт-Петербург, Кировский НИИ ФМБА России, Клиника СамГМУ, Нижегородская ОКБ, БУ ХМАО-Югры Сургутская ОКБ, ГБУЗ ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ [47]. Возраст больных на момент установки диагноза был от 19 до 59 лет, медиана — 45,5 года, соотношение «мужчины/женщины» — 22/36. Основные клинико-лабораторные данные больных приведены в таблице 1.

Группы риска больных по классификации «ELN 2017» [46]: благоприятная (*NPM1* (+) без *FLT3*-ITD или с низким аллельным отношением ($AO < 0,5$) *FLT3*-ITDlow) — 40 больных, промежуточная (*NPM1* (+) с высоким аллельным отношением ($AO \geq 0,5$) *FLT3*-ITD) — 18 больных. У всех больных отслеживали МОБ методом ПЦР, за исключением одной больной с нестандартной вставкой гена *NPM1*. При цитогенетическом исследовании выявлен нормальный кариотип у 47 больных, у 7 больных — отсутствие митозов, у 4 больных — цитогенетические аномалии, которые не относятся к прогностически благоприятным или неблагоприятным.

При отсутствии митозов больным выполняли флуоресцентную гибридизацию *in situ*, позволявшую исключить основные изменения, связанные с благоприятным или неблагоприятным риском: инверсии/транслокации с вовлечением локуса гена *EVI5q26*, моносомия 5, делеция 5q31, делеция 7q31, моносомия 7, транслокация t(8;21) и инверсия/транслокация с вовлечением локуса гена *CBFB/16q22*. Согласно протоколу «ОМЛ-21» [47] всем больным с мутацией *FLT3*-ITD, выявленной стандартным методом, к терапии добавляли мидостаурин. По протоколу «ОМЛ-21» [47] все больные при достижении после первого курса МОБ-негативного статуса по данным проточной цитофлуориметрии были

Таблица 1. Клинико-лабораторные данные больных по группам: «NPM1+FLT3+», «NPM1+FLT3-», «NPM1+FLT3minor+»
Table 1. Clinical and laboratory data of patients by groups: NPM1+FLT3+, NPM1+FLT3-, NPM1+FLT3minor+

Показатели Parameters	NPM1+FLT3+ (n = 25)	NPM1+FLT3- (n = 21)	NPM1+FLT3 minor+ (n = 12)	p
Возраст, годы, медиана (разброс) Age, years, median (range)	46,5 (27–59)	45,5 (19–58)	45,5 (25–59)	0,38
Мужчины / женщины Male / female	10/15	9/12	3/9	0,72
Лейкоциты, ×10⁹/л, медиана (разброс) WBC, ×10 ⁹ /L, median (range)	45 (1–187)	24,5 (1–108)	51 (2–254)	0,12
Доля больных с количеством лейкоцитов >100×10⁹/л Proportion of patients with WBC >100×10 ⁹ /L	6 (24 %)	1 (4,5 %)	3 (27 %)	0,132
ЛДГ, Ед/л, медиана (разброс) LDH, U/L, median (range)	556 (274–2352)	665 (198–1719)	484 (210–1421)	0,14
Тромбоцитопения <50×10⁹/л Thrombocytopenia <50×10 ⁹ /L	15 (60 %)	9 (40 %)	4 (36 %)	0,29
Нейролейкемия Neuroleukemia	3 (12 %)	4 (18 %)	4 (36 %)	0,23
Другие экстрамедуллярные поражения Other extramedullary lesions	0	2 (9 %)	1 (9 %)	0,3

рандомизированы для проведения либо поддерживающей химиотерапии, либо трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). Всем больным, которые были МОБ-позитивными после 1-го курса по данным проточной цитофлуориметрии или достигли морфологической ремиссии только после 2-го курса, предполагалось выполнение алло-ТГСК.

Соблюдение прав больных и правил биоэтики. Протокол исследования соответствовал этическим принципам и одобрен на заседании локального этического комитета ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, протокол № 153 от 25.02.2021.

Выделение нуклеиновых кислот. На всех этапах молекулярно-генетической диагностики исследовали ДНК костного мозга. Тотальную ДНК из клеток костного мозга выделяли по методике, описанной ранее [48]. Концентрацию определяли при помощи флуориметра «Qubit» (Thermo Fisher Scientific, США).

Молекулярно-генетическая диагностика мутаций FLT3-ITD. Молекулярно-генетическую диагностику мутаций FLT3-ITD проводили методами ПЦР с фрагментным анализом (ПЦР-ФА), ПЦР-ФА с двойной меткой, ТД-ПЦР. Метод ПЦР-ФА — стандартный метод для диагностики FLT3-ITD, в котором один из праймеров мечен флуорофором [21, 22]. Полученный ПЦР продукт подвергается капиллярному электрофорезу и фрагментному анализу, при котором определяется «дикий» пик длиной 370 пар нуклеотидов (пн) и пик большей длины, соответствующий мутантному аллелю (рис. 1 А). Аналитическая чувствительность ПЦР-ФА составляет 1 %, т.е. данным методом выявляют вставки, если их аллельная нагрузка превышает 1 %. Метод ПЦР с двойной меткой представляет собой усовершенствованную версию стандартного ПЦР-ФА, позволя-

ющую повысить чувствительность и специфичность диагностики. В этом методе используются праймеры, которые амплифицируют более короткий фрагмент ДНК (164 п.н.). Также оба праймера, прямой и обратный, мечены разными флуорофорами FAM и R6G, что при визуализации дает два пика для одного амплификата, синий (FAM) и зеленый (R6G), с разницей электрофоретической подвижности, достигаемой за счет разных флуорофоров, соответствующей 4 пн. (рис. 1 Б). Чувствительность определения FLT3-ITD методом ПЦР-ФА с двойной меткой примерно в 10 раз превышает чувствительность стандартного метода, что позволяет обнаруживать мутации FLT3-ITD даже при аллельной нагрузке менее 1 %. Специфичность метода ПЦР-ФА с двойной меткой была протестирована на образцах ДНК периферической крови больных хроническим лимфолейкозом (n = 24) и здоровых доноров (n = 24) и составила 100 %.

Метод ПЦР с тандемной дубликацией (ТД-ПЦР) подразумевает использование системы из 8 пар праймеров, которые перекрывают возможную зону дубликации [26, 27]. В каждой паре прямой и обратный (меченый) праймер комплементарны друг другу, что приводит к тому, что ПЦР проходит только в случае, если у больного есть вставка FLT3-ITD (рис. 1 В). Метод ТД-ПЦР применим только для больных, у которых длина вставки превышает 50 пн. Это около половины всех больных с мутациями FLT3-ITD. При первичной диагностике ПЦР ставится в 8 пробирках отдельно с каждой парой праймеров. Визуализация пика происходит при помощи капиллярного электрофореза и фрагментного анализа, при этом ампликон равен сумме длин вставки и праймера. Чем длиннее вставка FLT3-ITD у больного, тем в большем количестве реакций выявляется ампликон искомого длины.

Поскольку при таком виде анализа в реакцию амплификации вступает только опухолевая ДНК, содержащая вставку ITD, достигается высокая аналитическая чувствительность метода, которая превышает чувствительность ПЦР-ФА в 100 раз и составляет 10^{-4} . Специфичность метода ТД-ПЦР достигает 100%, если в образце в нескольких реакциях выявляются ПЦР-продукты одинаковой длины. При этих условиях образец в настоящем исследовании считали положительным.

Для методов ПЦР-ФА, ПЦР-ФА с двойной меткой, ТД-ПЦР использовали праймеры, условия ПЦР и капиллярного электрофореза, описанные ранее [49]. ПЦР проводили на амплификаторе «Т100» (Bio-Rad Laboratories, США). Для капиллярного электрофореза и фрагментного анализа использовали автоматический анализатор нуклеиновых кислот «Нанофор-05» (Институт аналитического приборостроения РАН, Россия). Флуоресценцию, площадь пиков и распределение амплификатов по длине оценивали при помощи компьютерной программы «GeneMapper v. 4.0» (Applied Biosystems, США). Для количественной оценки FLT3-ITD при ПЦР-ФА определяли аллельное от-

ношение (АО) — отношение суммы площадей всех мутантных пиков к площади пика дикого аллеля и для каждого пика АН — отношение площади мутантного пика к сумме площадей «дикого» и мутантных пиков. Все больные с выявленными минорными клонами были протестированы дважды.

Молекулярно-генетическая диагностика мутаций гена NPM1. Диагностику мутаций гена *NPM1* в дебюте проводили методом ПЦР-ФА, описанным ранее [22]. Для определения МОБ использовали количественную аллель-специфичную ПЦР в реальном времени для мутаций гена *NPM1* (*NPM1* МОБ-ПЦР). Мутации *NPM1* определяли с праймерами для вставок А, В, D типов. Последовательности прямых праймеров (5'→3'):

NPM-W	TTCCAGGCTATTCAAGAT(C)T(C)T,
NPM-A	STATCAAGATCTCT(G)TCT(G)GCA,
NPM-B	STATCAAGATCTCTG(C)AT(G)GCA,
NPM-D	STATCAAGATCTCTGCCT(G)GCA.

В скобках указаны LNA (locked nucleotide acid) модифицированные нуклеотиды. Последовательности пробы и обратного праймера (5'→3'):

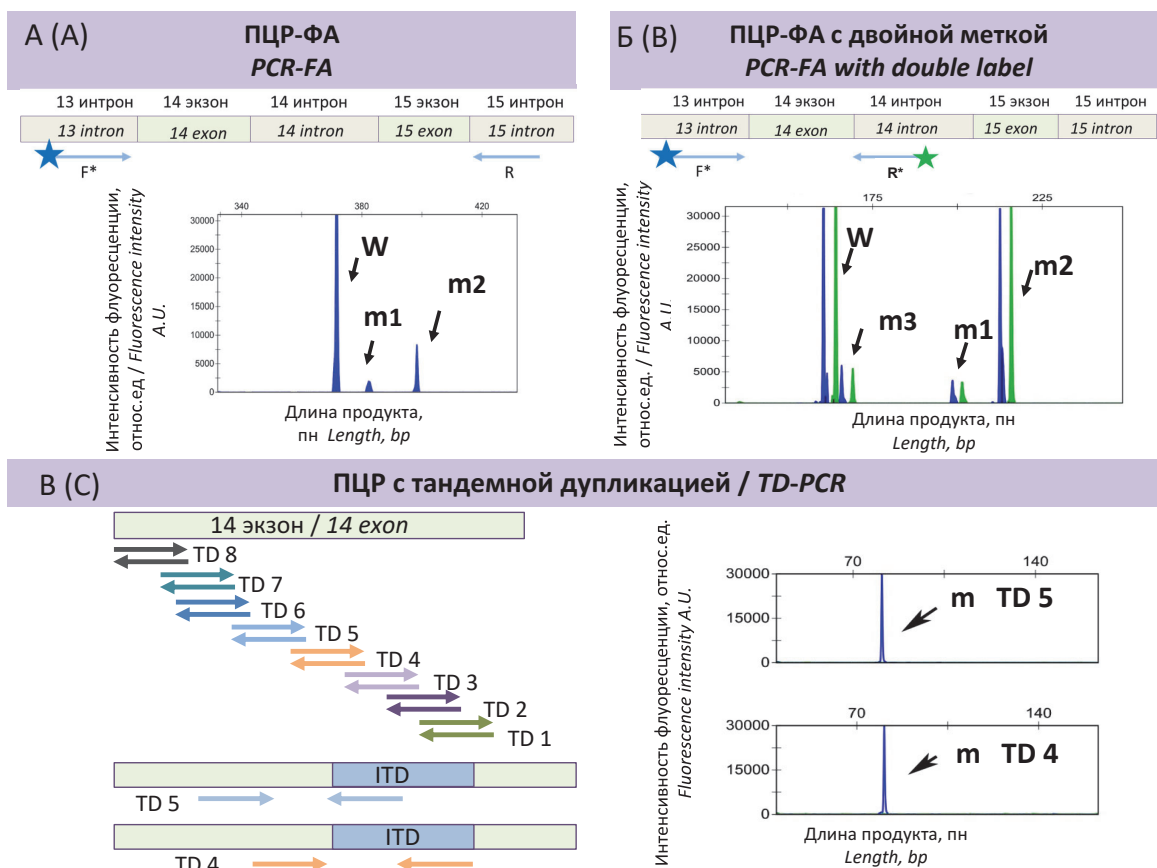


Рисунок 1. Схематичное представление методов ПЦР-ФА (А), ПЦР-ФА с двойной меткой (Б) и ТД-ПЦР (В). На рисунках А и В показано расположение прямых (F) и обратных (R) праймеров, приведены электрофореграммы с результатом исследования одного образца методами ПЦР-ФА и ПЦР-ФА с двойной меткой, сигнал «дикого» аллеля обозначен w, мутантного — m. На рисунке В показана схема картирования системой ТД-праймеров (ТД1-ТД8) и электрофореграмма образца, в котором определяется FLT3-ITD с праймерами ТД4 и ТД5

Figure 1. Schematic representation of the PCR-FA (A), PCR-FA with double label (B), and TD-PCR (C) methods. The figures A and B show the location of the forward (F) and reverse (R) primers, and electropherograms with the results of the study of one sample obtained using PCR-FA and PCR-FA with a double label; the signal of the wild allele is designated w, and the mutant allele — m. Figure B shows the mapping scheme of the TD primer system (TD1-TD8) and the electropherogram of a sample in which FLT3-ITD is determined with primers TD4 and TD5

NPM проба

FAM-TGCAGAGTGAGAACTTCCCTACCGTGT-BHQ1,

NPM-R ACCATTTCCATGTCTGAGCAC.

Подробную информацию о методе см. патент RU 2830545 [50].

Для каждого больного определяли тип вставки *NPM1* и ее аллельную нагрузку в дебютном материале костного мозга. После 1, 2 курсов индукции ремиссии и перед поддерживающей терапией определяли МОБ, для этого выполняли ПЦР в 3 повторах с «диким» и в 3 повторах с мутантным праймером. Для определения МОБ минимальное количество ДНК в каждой реакции составляло 500 нг, что соответствует 100 000 геномов. Критериями положительного ответа были: наличие специфической амплификации с мутантными праймерами хотя бы в 2 из 3 повторов с началом подъема не позднее 39 цикла, с различиями в повторах менее 1,5 циклов, при этом в 3 контрольных реакциях с ДНК здорового донора (500 нг) амплификация отсутствовала или цикл амплификации отставал от амплификации больного более чем на 3 цикла. Подсчет МОБ осуществляли по разнице в циклах амплификации дикого и мутантного праймера (ΔCt) по формуле

$$\frac{100 \times AO}{1 + AO},$$

где AO — результат подсчета аллельного отношения. Расчет АО производили по формуле

$$\frac{5}{2^{\Delta Ct}}.$$

Статистический анализ. При анализе динамики МОБ использовали методы линейного регрессионного анализа с учетом повторных наблюдений. ОВ оценивали по времени от даты начала терапии до даты смерти от любой причины или даты последнего контакта (цензурирование). БРВ оценивали по времени от даты установления ремиссии до даты первого неблагоприятного события (рецидива или смерти) или даты последнего контакта (цензурирование). Вероятность рецидива (ВР) оценивали по времени от даты установления ремиссии до даты рецидива, т.е. больные, умершие в полной ремиссии до развития рецидива, и больные, у которых за время наблюдения не было диагностировано развитие рецидива, были цензурированы на дату смерти или последнего контакта соответственно. При анализе ОВ, БР и ВР для оценки распределений использовали оценки Каплана — Мейера, для оценки статистической значимости различий в группах использовали лог-ранговый тест.

Результаты

В группе больных *NPM1* (+) без *FLT3-ITD* ($n = 33$) применение методов ПЦР-ФА с двойной меткой и ТД-ПЦР позволило выявить минорные клоны *FLT3-ITD* у 12 (36 %) из 33 больных. При этом у 2 больных минорные клоны были выявлены методом ПЦР-ФА с двойной меткой, у 6 — методом ТД-ПЦР, у 4 — обоими методами. Примеры выявления минорных вставок представлены на рисунке 2. Кроме того, у 13 (52 %) из 25 *FLT3*-положительных больных методом ПЦР-ФА с двойной меткой обнаружено большее число вставок.

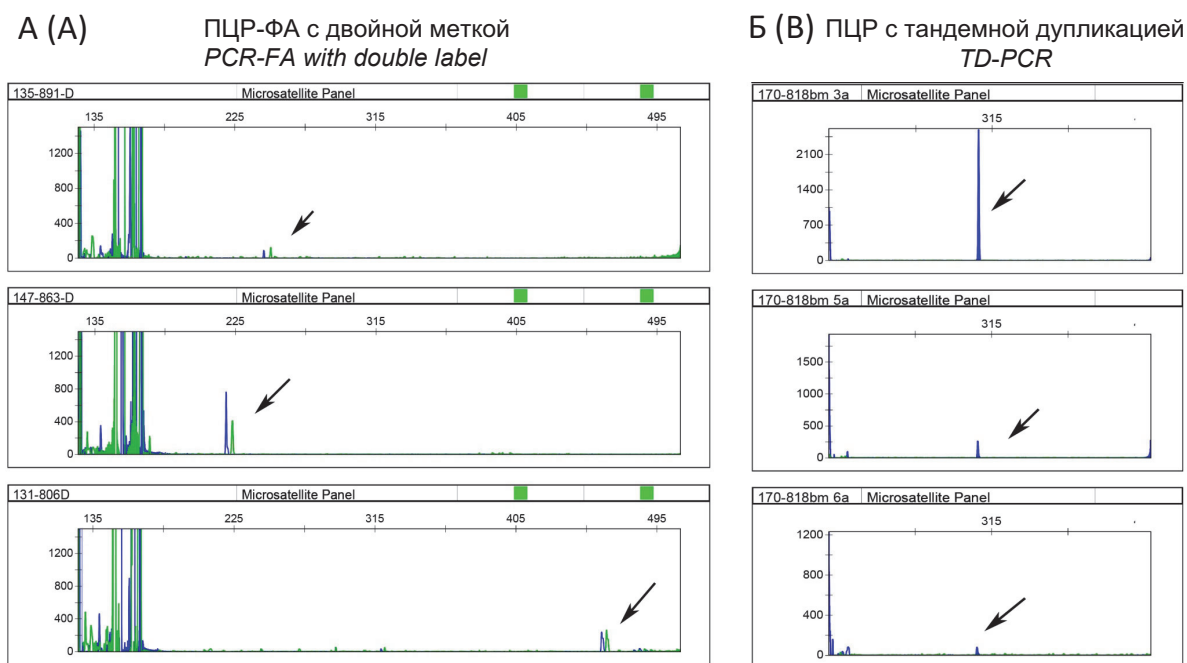


Рисунок 2. Примеры выявления минорных клонов *FLT3-ITD* в дебюте ОМЛ у 3 больных методом ПЦР-ФА с двойной меткой (А) и у 1 больного в 3 реакциях методом ТД-ПЦР (Б). Во всех случаях стандартный метод ПЦР-ФА не выявил мутацию *FLT3-ITD*

Figure 2. Examples of detection of minor *FLT3-ITD* clones at the onset of AML in three patients by the double-label PCR-FA method (A) and in one patient by the TD-PCR method in three reactions (B). In all cases, the standard PCR-FA method did not detect the *FLT3-ITD* mutation

Таким образом, были сформированы 3 группы больных: с выявленной стандартным методом мутацией *FLT3*-ITD («*NPM1(+)**FLT3(+)*»; $n = 25$), с минорными клонами *FLT3*-ITD («*NPM1(+)**FLT3minor*»; $n = 12$) и без выявленной мутации *FLT3*-ITD («*NPM1(+)**FLT3(-)*»; $n = 21$). Статистических различий между группами по полу, возрасту и основным клинико-лабораторным показателям (количество лейкоцитов, лейкоцитоз, активность лактатдегидрогеназы, тромбоцитопения, нейрорлейкемия и другие экстрамедуллярные поражения), которые могли обуславливать высокую летальность или недостаточно глубокий ответ на терапию, не установлено (табл. 1). В 3 группах больных: *NPM1(+)**FLT3(+)*, *NPM1(+)**FLT3minor* и *NPM1(+)**FLT3(-)* изучили динамику МОБ. Количественно МОБ оценивали методом ПЦР по аллельной нагрузке мутации гена *NPM1*. Установлено, что наихудшая динамика снижения МОБ наблюдалась в группе больных с мутацией гена *FLT3*, выявленной стандартным методом (рис. 3). Данная группа статистически значимо отличалась от остальных темпом снижения МОБ ($p = 0,04$). Существенных различий в темпе снижения МОБ между группами с минорными клонами *FLT3*-ITD и без них не обнаружено ($p = 0,92$).

Проанализирована ассоциация статуса *FLT3*-ITD со статусом МОБ-ПЦР в группах больных *NPM1(+)**FLT3(+)*, *NPM1(+)**FLT3minor* и *NPM1(+)**FLT3(-)* после окончания 1 и 2-го индукционного курсов. После 1 индукционного курса обследованы 47 больных: доля МОБ-положительных составила 81% (17 из 21) больных в группе *NPM1(+)**FLT3(+)*, 75% (9 из 12) в группе *NPM1(+)**FLT3minor* и 93% (13 из 14) в группе *NPM1(+)**FLT3(-)*. После второго индукционного курса обследованы 39 больных: оставались МОБ-ПЦР положительными 47% (7 из 15) в группе *NPM1(+)**FLT3(+)*, 14% (1 из 7) в группе *NPM1(+)**FLT3minor* и 47% (8 из 17) в группе *NPM1(+)**FLT3(-)*. Таким образом, не обнаружено статистически значимых различий в достижении МОБ негативного статуса между группами после первого ($p = 0,49$) и второго индукционного курсов ($p = 0,64$). Перед поддерживающей терапией 20 из 27 (74%) больных достигли МОБ-ПЦР негативного статуса. В группе *NPM1(+)**FLT3(+)* 8 из 13 (62%) больных, в группе *NPM1(+)**FLT3minor* 3 из 4 больных и в группе *NPM1(+)**FLT3(-)* 9 из 10 (90%) больных достигли МОБ-ПЦР негативного статуса.

При анализе ОВ не выявлено существенных различий между группами *NPM1(+)**FLT3(-)*, *NPM1(+)**FLT3minor* и *NPM1(+)**FLT3(+)* ($p = 0,3$). ОВ через 12 месяцев от начала лечения составила 64% в группе *NPM1(+)**FLT3(+)*, в группе *NPM1(+)**FLT3minor* — 83%, в группе *NPM1(+)**FLT3(-)* — 81% (рис. 4). Трое больных в группе *NPM1(+)**FLT3(+)* умерли в первые дни после установления диагноза; 2 больных, несмотря на МОБ-положительный статус после 1-го курса, установленный методом иммунофенотипирования, отказались от проведения алло-ТГСК, 1 больной умер от инфекционных осложнений; 3 летальных исхода возникли в связи с прогрессией острого лейкоза. Летальность в первые дни была обусловлена синдромом лизиса опухоли и зарегистрирована у больных с лейкоцитозом (лейкоциты составили $187 \times 10^9/\text{л}$, $100 \times 10^9/\text{л}$ и $42 \times 10^9/\text{л}$), которым проводили лечение в региональных центрах. Существенных различий БРВ в группах *NPM1(+)**FLT3(-)*, *NPM1(+)**FLT3minor*, *NPM1(+)**FLT3(+)* ($p = 0,76$) и ВР ($p = 0,75$) не обнаружено (рис. 5). Алло-ТГСК

Летальность в первые дни была обусловлена синдромом лизиса опухоли и зарегистрирована у больных с лейкоцитозом (лейкоциты составили $187 \times 10^9/\text{л}$, $100 \times 10^9/\text{л}$ и $42 \times 10^9/\text{л}$), которым проводили лечение в региональных центрах. Существенных различий БРВ в группах *NPM1(+)**FLT3(-)*, *NPM1(+)**FLT3minor*, *NPM1(+)**FLT3(+)* ($p = 0,76$) и ВР ($p = 0,75$) не обнаружено (рис. 5). Алло-ТГСК

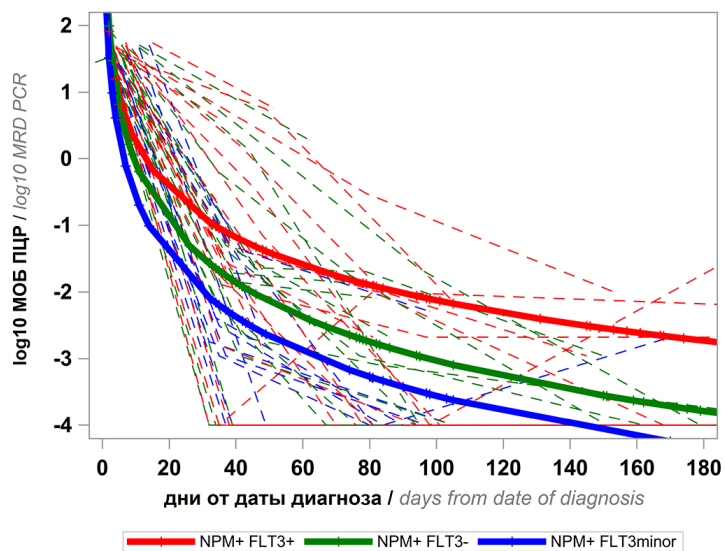


Рисунок 3. Индивидуальные временные графики и усредненные временные графики динамики МОБ в группах *NPM1(+)**FLT3(-)* (зеленая линия), *NPM1(+)**FLT3minor* (синяя линия), *NPM1(+)**FLT3(+)* (красная линия)

Figure 3. Individual time graphs and average time graphs of the dynamics of MRD in the groups *NPM1(+)**FLT3(-)* (green line), *NPM1(+)**FLT3minor* (blue line), *NPM1(+)**FLT3(+)* (red line)

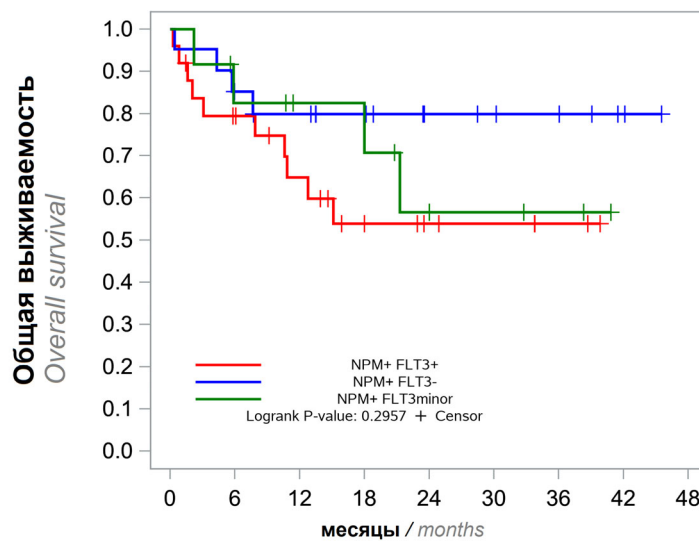


Рисунок 4. ОВ в группах *NPM1(+)**FLT3(-)* (зеленая линия), *NPM1(+)**FLT3minor* (синяя линия), *NPM1(+)**FLT3(+)* (красная линия)

Figure 4. Overall survival in the groups *NPM1(+)**FLT3(-)* (green line), *NPM1(+)**FLT3minor* (blue line), *NPM1(+)**FLT3(+)* (red line)

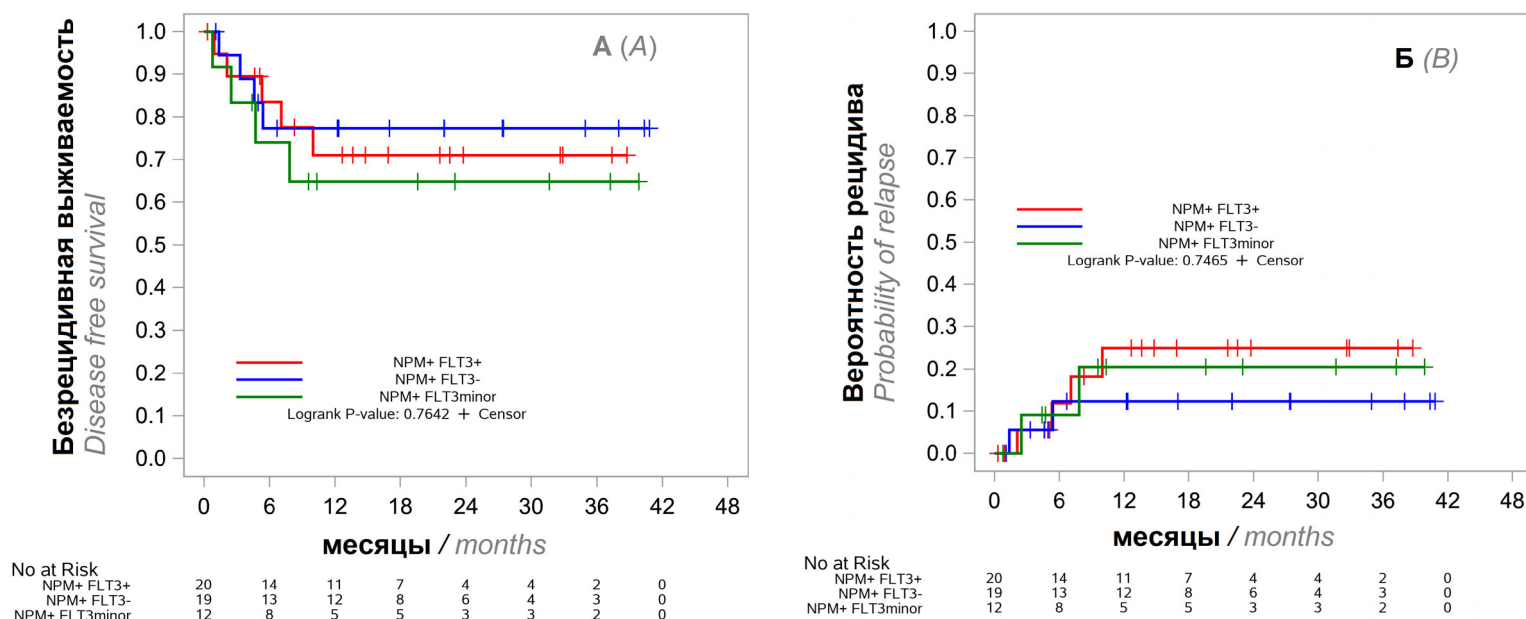


Рисунок 5. БРВ и вероятность рецидивов в группах *NPM1(+)/FLT3(-)* (зеленая линия), *NPM1(+)/FLT3minor* (синяя линия), *NPM1(+)/FLT3(+)* (красная линия). А — БРВ; Б — вероятность рецидивов

Figure 5. Relapse free survival and probability of relapse in the groups *NPM1(+)/FLT3(-)* (green line), *NPM1(+)/FLT3minor* (blue line), *NPM1(+)/FLT3(+)* (red line). А — relapse free survival; В — probability of relapse

была выполнена 5 больным из группы *NPM1(+)/FLT3(+)*, 3 больным из группы *NPM1(+)/FLT3minor* и 2 больным из группы *NPM1(+)/FLT3(-)*.

Обсуждение

В настоящей работе использование более чувствительных, чем ПЦР-ФА, методов (ПЦР-ФА с двойной меткой и ТД-ПЦР) позволило выявить минорные клоны *FLT3-ITD* у трети больных с мутацией гена *NPM1*, у которых стандартный метод определения *FLT3-ITD* не выявил наличие вставки, а также наличие дополнительных вставок у 52% *FLT3*-позитивных больных. Полученные данные сопоставимы с результатами других исследований, в которых были использованы методы, обладающие большей чувствительностью по сравнению со стандартным методом ПЦР-ФА [25–28, 50–53]. Авторы отмечают выявление большего количества вставок *FLT3-ITD* при использовании методов дельта-ПЦР или ТД-ПЦР [25–28]. К. Schranz и соавт. [51] установили большее количество выявляемых вставок *FLT3-ITD* методом ВПС по сравнению со стандартным ПЦР-ФА. Zuffa E.C и соавт. [52], используя метод ультраглубокого секвенирования (чувствительность определения 0,1%), выявили у 2 (10%) из 20 больных минорные вставки *FLT3-ITD*, не определявшиеся стандартными методами, и у 8 (36%) из 22 больных — дополнительные вставки. При этом авторы [52] показали, что рецидив за счет минорных клонов произошел у 4 из 5 исследуемых больных.

В другом исследовании Т. Ottone и соавт. [53] применили пациент-специфичную ПЦР в реальном времени для обнаружения *FLT3-ITD* у 6 больных ОМЛ, у которых во время рецидива была обнаружена мута-

ция *FLT3-ITD*, но она не была выявлена стандартным методом на первичном этапе. Метод позволил ретроспективно обнаружить *FLT3-ITD* в 4 образцах. У всех больных наблюдался ранний рецидив, хотя на первичном этапе все они были отнесены в благоприятную группу прогноза *NPM1(+)/FLT3-ITD(-)*. Авторы [53] подчеркнули необходимость выявления малых клонов с *FLT3-ITD* на первичном этапе.

В выборке больных в настоящем исследовании ассоциации минорных клонов *FLT3-ITD* с динамикой МОБ, частотой достижения МОБ-негативного статуса, ОВ и БРВ у больных с *NPM1(+)* ОМЛ не было обнаружено. Можно предполагать, что незначительные различия между исследуемыми группами больных могли быть связаны с высокой терапевтической эффективностью протокола «ОМЛ-21», а именно применением МОБ-ориентированного подхода к терапии, применением мидостаурина у всех *FLT3*-позитивных больных и высокой трансплантационной активностью в рамках протокола. Эти выводы являются предварительными, так как получены на небольшой выборке больных.

Настоящая работа подтверждает многочисленные выводы других исследователей [54–58], о том, что влияние *FLT3-ITD* с низким АО на прогноз ОМЛ минимально, и, наоборот, чем выше АО *FLT3-ITD*, тем хуже ОВ и БРВ у больных ОМЛ. В рекомендациях ELN 2017 г. [46] важная роль отведена оценке АО *FLT3-ITD* при определении прогноза и группы риска. При отсутствии неблагоприятных цитогенетических аномалий и выявлении мутации гена *NPM1* при АО менее 0,5 (*FLT3-ITD*^{low}) прогноз определяли как благоприятный, при АО более 0,5 (*FLT3-ITD*^{high}) — как промежуточный [46].

В соответствии с классификацией ELN 2022 г. [59] все больные с *FLT3*-ITD, независимо от АО, с отсутствием других неблагоприятных генетических аномалий попадают в группу промежуточного риска. В качестве причин такого изменения указаны: 1) методологические проблемы измерения АО *FLT3*-ITD и невозможность его точного измерения методами ВПС, которые широко внедряются в диагностическую практику; 2) возрастающая роль оценки МОБ как независимого прогностического предиктора при принятии клинических решений; 3) улучшение прогноза при применении терапевтических схем на основе мидостаурина при лечении больных с *FLT3*-ITD без мутации гена *NPM1* [59].

В отечественных и зарубежных клинических рекомендациях есть указание на добавление к программе лечения, начиная с индукции, *FLT3*-ингибиторов всем больным ОМЛ с мутациями гена *FLT3* [59–63]. Таким образом, современные рекомендации по диагностике и лечению ОМЛ не учитывают при стратификации на группы риска и при назначении ИТК ни размер выявляемого клона *FLT3*-ITD, ни метод, который используется для первичной диагностики мутаций.

Литература

1. Kazi J.U., Rönstrand L. FMS-like Tyrosine Kinase 3/FLT3: From Basic Science to Clinical Implications. *Physiol Rev.* 2019;99(3):1433–66. DOI: 10.1152/physrev.00029.2018.
2. Grafone T., Palmisano M., Nicci C., Storti S. An overview on the role of FLT3-tyrosine kinase receptor in acute myeloid leukemia: Biology and treatment. *Oncol. Rev.* 2012;6:e8. DOI: 10.4081/oncol.2012.e8.
3. Kiyoi H., Naoe T. FLT3 in human hematologic malignancies. *Leuk Lymphoma.* 2002;43(8):1541–7. DOI: 10.1080/1042819021000002866.
4. Schneider F., Hoster E., Schneider S., et al. Age-dependent frequencies of NPM1 mutations and FLT3-ITD in patients with normal karyotype AML (NK-AML) *Ann. Hematol.* 2012;91:9–18. DOI: 10.1007/s00277-011-1280-6.
5. Ley T.J., Miller C., Ding L., et al. The Cancer Genome Atlas Research Network. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2013;368:2059–74. DOI: 10.1056/nejmoa1301689.
6. Papaemmanuil E., Gerstung M., Bullinger L., et al. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2016;374:2209–21. DOI: 10.1056/NEJMoa1516192.
7. Kayser S., Schlenk R.F., Londono M.C., et al. German-Austrian AML Study Group (AMLSG). Insertion of FLT3 internal tandem duplication in the tyrosine kinase domain-1 is associated with resistance to chemotherapy and inferior outcome. *Blood.* 2009;114(12):2386–92. DOI: 10.1182/blood-2009-03-209999.
8. Fröhling S., Schlenk R.F., Breitnick J., et al. Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: A study of the AML Study Group Ulm. *Blood.* 2002;100:4372–80. DOI: 10.1182/blood-2002-05-1440.
9. Gale R.E., Green C., Allen C., et al. The impact of FLT3 internal tandem duplication mutant level, number, size, and interaction with NPM1 mutations in a large cohort of young adult patients with acute myeloid leukemia. *Blood.* 2008;111:2776–84. DOI: 10.1182/blood-2007-08-109090.
10. Stone R.M., Mandrekar S.J., Sanford B.L., et al. Midostaurin plus Chemotherapy for Acute Myeloid Leukemia with a FLT3 Mutation. *N. Engl. J. Med.* 2017;377:454–64. DOI: 10.1056/NEJMoa1614359.

Все это ставит ряд вопросов: 1) целесообразно ли назначение ИТК больным с минорными клонами *FLT3*-ITD, 2) следует ли ограничивать чувствительность методов для первичной диагностики *FLT3*-ITD, 3) в какую прогностическую группу должны стратифицироваться больные с минорными клонами *FLT3*-ITD.

С учетом полученных данных о том, что ассоциация минорных клонов *FLT3*-ITD с клиническими особенностями заболевания у больных ОМЛ и мутациями гена *NPM1* минимальна или отсутствует, можно предполагать, что у таких больных на первичном этапе диагностики нет необходимости применения дополнительных более чувствительных методов выявления мутаций *FLT3*-ITD и включение в программную терапию ИТК не требуется. Однако окончательные выводы можно будет сделать, если будет показано, что минорные клоны *FLT3*-ITD, выявленные в дебюте, не обуславливают возникновение рецидивов. Таким образом, обнаружение минорных клонов *FLT3*-ITD более чувствительными методами у значительного числа больных — крайне важный аспект, который нуждается в дальнейшем изучении.

References

1. Kazi J.U., Rönstrand L. FMS-like Tyrosine Kinase 3/FLT3: From Basic Science to Clinical Implications. *Physiol Rev.* 2019;99(3):1433–66. DOI: 10.1152/physrev.00029.2018.
2. Grafone T., Palmisano M., Nicci C., Storti S. An overview on the role of FLT3-tyrosine kinase receptor in acute myeloid leukemia: Biology and treatment. *Oncol. Rev.* 2012;6:e8. DOI: 10.4081/oncol.2012.e8.
3. Kiyoi H., Naoe T. FLT3 in human hematologic malignancies. *Leuk Lymphoma.* 2002;43(8):1541–7. DOI: 10.1080/1042819021000002866.
4. Schneider F., Hoster E., Schneider S., et al. Age-dependent frequencies of NPM1 mutations and FLT3-ITD in patients with normal karyotype AML (NK-AML) *Ann. Hematol.* 2012;91:9–18. DOI: 10.1007/s00277-011-1280-6.
5. Ley T.J., Miller C., Ding L., et al. The Cancer Genome Atlas Research Network. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2013;368:2059–74. DOI: 10.1056/nejmoa1301689.
6. Papaemmanuil E., Gerstung M., Bullinger L., et al. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2016;374:2209–21. DOI: 10.1056/NEJMoa1516192.
7. Kayser S., Schlenk R.F., Londono M.C., et al. German-Austrian AML Study Group (AMLSG). Insertion of FLT3 internal tandem duplication in the tyrosine kinase domain-1 is associated with resistance to chemotherapy and inferior outcome. *Blood.* 2009;114(12):2386–92. DOI: 10.1182/blood-2009-03-209999.
8. Fröhling S., Schlenk R.F., Breitnick J., et al. Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: A study of the AML Study Group Ulm. *Blood.* 2002;100:4372–80. DOI: 10.1182/blood-2002-05-1440.
9. Gale R.E., Green C., Allen C., et al. The impact of FLT3 internal tandem duplication mutant level, number, size, and interaction with NPM1 mutations in a large cohort of young adult patients with acute myeloid leukemia. *Blood.* 2008;111:2776–84. DOI: 10.1182/blood-2007-08-109090.
10. Stone R.M., Mandrekar S.J., Sanford B.L., et al. Midostaurin plus Chemotherapy for Acute Myeloid Leukemia with a FLT3 Mutation. *N. Engl. J. Med.* 2017;377:454–64. DOI: 10.1056/NEJMoa1614359.

11. Perl A.E., Martinelli G., Cortes J.E., et al. Gilteritinib or Chemotherapy for Relapsed or Refractory FLT3-Mutated AML. *N. Engl. J. Med.* 2019;381:1728–40. DOI: 10.1056/NEJMoa1902688.
12. Badar T., Kantarjian H.M., Nogueras-Gonzalez G.M., et al. Improvement in clinical outcome of FLT3 ITD mutated acute myeloid leukemia patients over the last one and a half decade. *Am J Hematol.* 2015;90(11):1065–70. DOI: 10.1002/ajh.24140.
13. Oñate G., Pratorcorona M., Garrido A. et al. Survival improvement of patients with FLT3 mutated acute myeloid leukemia: results from a prospective 9 years cohort. *Blood Cancer J.* 2023;13(1):69. DOI: 10.1038/s41408-023-00839-1.
14. Daver N., Schlenk R.F., Russell N.H., Levis M.J. Targeting FLT3 mutations in AML: Review of current knowledge and evidence. *Leukemia.* 2019;33:299–312. DOI: 10.1038/s41375-018-0357-9.
15. Shouval R., Shlush L.I., Yehudai-Resheff S., et al. Single cell analysis exposes intratumor heterogeneity and suggests that FLT3-ITD is a late event in leukemogenesis. *Exp Hematol.* 2014;42(6):457–63. DOI: 10.1016/j.exphem.2014.01.010.
16. Onecha E., Rapado I., Luz Morales M., et al. Monitoring of clonal evolution of acute myeloid leukemia identifies the leukemia subtype, clinical outcome and potential new drug targets for post-remission strategies or relapse. *Haematologica.* 2021;106(9):2325–33. DOI: 10.3324/haematol.2020.254623.
17. McCormick S.R., McCormick M.J., Grutkoski P.S., et al. FLT3 mutations at diagnosis and relapse in acute myeloid leukemia: Cytogenetic and pathologic correlations, including cuplike blast morphology. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2010;134:1143–51. DOI: 10.5858/2009-0292-OA.1
18. Tiesmeier J., Müller-Tidow C., Westermann A., et al. Evolution of FLT3-ITD and D835 activating point mutations in relapsing acute myeloid leukemia and response to salvage therapy. *Leuk Res.* 2004 Oct;28(10):1069–74. DOI: 10.1016/j.leukres.2004.02.009.
19. Cloos J., Goemans B.F., Hess C.J., et al. Stability and prognostic influence of FLT3 mutations in paired initial and relapsed AML samples. *Leukemia.* 2006;20(7):1217–20. DOI: 10.1038/sj.leu.2404246.
20. Kottaridis P.D., Gale R.E., Langabeer S.E., et al. Studies of FLT3 mutations in paired presentation and relapse samples from patients with acute myeloid leukemia: implications for the role of FLT3 mutations in leukemogenesis, minimal residual disease detection, and possible therapy with FLT3 inhibitors. *Blood.* 2002;100(7):2393–8. DOI: 10.1182/blood-2002-02-0420.
21. Murphy K.M., Levis M., Hafez M.J., et al. Detection of FLT3 internal tandem duplication and D835 mutations by a multiplex polymerase chain reaction and capillary electrophoresis assay. *J Mol Diagn.* 2003;5(2):96–102. DOI: 10.1016/S1525-1578(10)60458-8.
22. Диагностика заболеваний системы крови. Практическое руководство. Под ред. Е.Н. Паровичниковой, И.В. Гальцевой. М.: Практика; 2024. 560 с.
23. Кашлакова А.И., Паровичникова Е.Н., Бидерман Б.В. и др. Определение молекулярно-генетического профиля у взрослых больных острыми миелоидными лейкозами методом секвенирования нового поколения. *Гематология и трансфузиология.* 2020;65(4):444–59. DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-4-444-459.
24. Sakaguchi M., Nakajima N., Yamaguchi H., et al. The sensitivity of the FLT3-ITD detection method is an important consideration when diagnosing acute myeloid leukemia. *Leuk Res Rep.* 2020;13:100198. DOI: 10.1016/j.lrr.2020.100198.
25. Beierl K., Tseng L.H., Beierl R., et al. Detection of minor clones with internal tandem duplication mutations of FLT3 gene in acute myeloid leukemia using delta-PCR. *Diagn Mol Pathol.* 2013;22(1):1–9. DOI: 10.1097/PDM.0b013e31825d81f4.
26. Lin M.T., Tseng L.H., Beierl K., et al. Tandem duplication PCR: an ultrasensitive assay for the detection of internal tandem duplications of the FLT3 gene. *Diagn Mol Pathol.* 2013;22(3):149–55. DOI: 10.1097/PDM.0b013e31828308a1.
11. Perl A.E., Martinelli G., Cortes J.E., et al. Gilteritinib or Chemotherapy for Relapsed or Refractory FLT3-Mutated AML. *N. Engl. J. Med.* 2019;381:1728–40. DOI: 10.1056/NEJMoa1902688.
12. Badar T., Kantarjian H.M., Nogueras-Gonzalez G.M., et al. Improvement in clinical outcome of FLT3 ITD mutated acute myeloid leukemia patients over the last one and a half decade. *Am J Hematol.* 2015;90(11):1065–70. DOI: 10.1002/ajh.24140.
13. Oñate G., Pratorcorona M., Garrido A. et al. Survival improvement of patients with FLT3 mutated acute myeloid leukemia: results from a prospective 9 years cohort. *Blood Cancer J.* 2023;13(1):69. DOI: 10.1038/s41408-023-00839-1.
14. Daver N., Schlenk R.F., Russell N.H., Levis M.J. Targeting FLT3 mutations in AML: Review of current knowledge and evidence. *Leukemia.* 2019;33:299–312. DOI: 10.1038/s41375-018-0357-9.
15. Shouval R., Shlush L.I., Yehudai-Resheff S., et al. Single cell analysis exposes intratumor heterogeneity and suggests that FLT3-ITD is a late event in leukemogenesis. *Exp Hematol.* 2014;42(6):457–63. DOI: 10.1016/j.exphem.2014.01.010.
16. Onecha E., Rapado I., Luz Morales M., et al. Monitoring of clonal evolution of acute myeloid leukemia identifies the leukemia subtype, clinical outcome and potential new drug targets for post-remission strategies or relapse. *Haematologica.* 2021;106(9):2325–33. DOI: 10.3324/haematol.2020.254623.
17. McCormick S.R., McCormick M.J., Grutkoski P.S., et al. FLT3 mutations at diagnosis and relapse in acute myeloid leukemia: Cytogenetic and pathologic correlations, including cuplike blast morphology. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2010;134:1143–51. DOI: 10.5858/2009-0292-OA.1
18. Tiesmeier J., Müller-Tidow C., Westermann A., et al. Evolution of FLT3-ITD and D835 activating point mutations in relapsing acute myeloid leukemia and response to salvage therapy. *Leuk Res.* 2004 Oct;28(10):1069–74. DOI: 10.1016/j.leukres.2004.02.009.
19. Cloos J., Goemans B.F., Hess C.J., et al. Stability and prognostic influence of FLT3 mutations in paired initial and relapsed AML samples. *Leukemia.* 2006;20(7):1217–20. DOI: 10.1038/sj.leu.2404246.
20. Kottaridis P.D., Gale R.E., Langabeer S.E., et al. Studies of FLT3 mutations in paired presentation and relapse samples from patients with acute myeloid leukemia: implications for the role of FLT3 mutations in leukemogenesis, minimal residual disease detection, and possible therapy with FLT3 inhibitors. *Blood.* 2002;100(7):2393–8. DOI: 10.1182/blood-2002-02-0420.
21. Murphy K.M., Levis M., Hafez M.J., et al. Detection of FLT3 internal tandem duplication and D835 mutations by a multiplex polymerase chain reaction and capillary electrophoresis assay. *J Mol Diagn.* 2003;5(2):96–102. DOI: 10.1016/S1525-1578(10)60458-8.
22. Diagnostics of blood system diseases. Practical guide. Edited by. Parovichnikova E.N., Galtseva I.V. ed. Moscow: Praktika, 2024:560 (In Russian).
23. Kashlakova A.I., Parovichnikova E.N., Biderman B.V., et al. Next-generation sequencing-based molecular genetic profiling in adults with acute myeloid leukaemia. *Gematologiya i transfuziologiya* 2020;65(4):444–59 (In Russian). DOI: 10.35754/0234-5730-2020-65-4-444-459.
24. Sakaguchi M., Nakajima N., Yamaguchi H, et al. The sensitivity of the FLT3-ITD detection method is an important consideration when diagnosing acute myeloid leukemia. *Leuk Res Rep.* 2020;13:100198. DOI: 10.1016/j.lrr.2020.100198.
25. Beierl K., Tseng L.H., Beierl R., et al. Detection of minor clones with internal tandem duplication mutations of FLT3 gene in acute myeloid leukemia using delta-PCR. *Diagn Mol Pathol.* 2013;22(1):1–9. DOI: 10.1097/PDM.0b013e31825d81f4.
26. Lin M.T., Tseng L.H., Beierl K., et al. Tandem duplication PCR: an ultrasensitive assay for the detection of internal tandem duplications of the FLT3 gene. *Diagn Mol Pathol.* 2013;22(3):149–55. DOI: 10.1097/PDM.0b013e31828308a1.

27. Loo S., Dillon R., Ivey A., et al. Pretransplant FLT3-ITD MRD assessed by high-sensitivity PCR-NGS determines posttransplant clinical outcome. *Blood*. 2022;140:2407–11. DOI: 10.1182/blood.2022016567.
28. Grob T., Sanders M.A., Vonk C.M., et al. Prognostic Value of FLT3-Internal Tandem Duplication Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2023;41:756–65. DOI: 10.1200/JCO.22.00715.
29. Lin M.T., Tseng L.H., Dudley J.C., et al. A Novel Tandem Duplication Assay to Detect Minimal Residual Disease in FLT3/ITD AML. *Mol Diagn Ther.* 2015;19(6):409–17. DOI: 10.1007/s40291-015-0170-3.
30. Blätte T.J., Schmalbrock L.K., Skambraks S., et al. getITD for FLT3-ITD-based MRD monitoring in AML. *Leukemia*. 2019;33(10):2535–9. DOI: 10.1038/s41375-019-0483-z.
31. Bibault J.E., Figeac M., Hélevaut N., et al. Next-generation sequencing of FLT3 internal tandem duplications for minimal residual disease monitoring in acute myeloid leukemia. *Oncotarget*. 2015;6(26):22812–21. DOI: 10.18632/oncotarget.4333.
32. Falini B., Nicoletti I., Martelli M.F., Mecucci C. Acute myeloid leukemia carrying cytoplasmic/mutated nucleophosmin (NPMc+ AML): Biologic and clinical features. *Blood*. 2007;109:874–85. DOI: 10.1182/blood-2006-07-012252.
33. Heath E.M., Chan S.M., Minden M.D., et al. Biological and clinical consequences of NPM1 mutations in AML. *Leukemia*. 2017;31:798–807. DOI: 10.1038/leu.2017.30.
34. Kihara R, Nagata Y, Kiyoi H., et al. Comprehensive analysis of genetic alterations and their prognostic impacts in adult acute myeloid leukemia patients. *Leukemia*. 2014;28(8):1586–95. DOI: 10.1038/leu.2014.55.
35. Döhner K., Schlenk R.F., Habdank M., et al. Mutant nucleophosmin (NPM1) predicts favorable prognosis in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: Interaction with other gene mutations. *Blood*. 2005;106:3740–6. DOI: 10.1182/blood-2005-05-2164.
36. Jahn N., Jahn E., Saadati M., et al. Genomic landscape of patients with FLT3-mutated acute myeloid leukemia (AML) treated within the CALGB 10603/RATIFY trial. *Leukemia*. 2022;36(9):2218–27. DOI: 10.1038/s41375-022-01650-w.
37. Severens J.F., Karakaslar E.O., van der Reijden, B.A., et al. Mapping AML heterogeneity — multi-cohort transcriptomic analysis identifies novel clusters and divergent ex-vivo drug responses. *Leukemia*. 2024;38:751–61. DOI: 10.1038/s41375-024-02137-6.
38. Tyner J.W., Tognon C.E., Bottomly D., et al. Functional genomic landscape of acute myeloid leukaemia. *Nature*. 2018;562:526–53. DOI: 10.1038/s41586-018-0623-z.
39. Yu J., Sun J., Du Y., Chang C. Genomic Landscape of Acute Myeloid Leukemia (AML) on the Basis of 2017 ELN Classification and Other Mutations in Adult AML — Single Healthcare System Data. *Blood*. 2020;136(Suppl. 1):3–4. DOI: 10.1182/blood-2020-139976.
40. Пехова К.А., Сидорова Ю.В., Северина Н.А. и др. Генетический ландшафт острых миелоидных лейкозов, протекающих с лейкоцитозом. *Онкогематология*. 2023;18(3):102–14. DOI: 10.17650/1818-8346-2023-18-3-102-114.
41. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., et al. WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC, 2017:130–55.
42. Krönke J., Schlenk R.F., Jensen K-O., et al. Monitoring of minimal residual disease in NPM1-mutated acute myeloid leukemia: a study from the German-Austrian acute myeloid leukemia study group. *J Clin Oncol*. 2011;29:2709–16. DOI: 10.1200/JCO.2011.35.0371.
43. Ivey A., Hills R.K., Simpson M.A., et al. Assessment of minimal residual disease in standard-risk AML. *N. Engl. J. Med.* 2016;374:422–33. DOI: 10.1056/NEJMoa1507471.
27. Loo S., Dillon R., Ivey A., et al. Pretransplant FLT3-ITD MRD assessed by high-sensitivity PCR-NGS determines posttransplant clinical outcome. *Blood*. 2022;140:2407–11. DOI: 10.1182/blood.2022016567.
28. Grob T., Sanders M.A., Vonk C.M., et al. Prognostic Value of FLT3-Internal Tandem Duplication Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2023;41:756–65. DOI: 10.1200/JCO.22.00715.
29. Lin M.T., Tseng L.H., Dudley J.C., et al. A Novel Tandem Duplication Assay to Detect Minimal Residual Disease in FLT3/ITD AML. *Mol Diagn Ther.* 2015;19(6):409–17. DOI: 10.1007/s40291-015-0170-3.
30. Blätte T.J., Schmalbrock L.K., Skambraks S., et al. getITD for FLT3-ITD-based MRD monitoring in AML. *Leukemia*. 2019;33(10):2535–9. DOI: 10.1038/s41375-019-0483-z.
31. Bibault J.E., Figeac M., Hélevaut N., et al. Next-generation sequencing of FLT3 internal tandem duplications for minimal residual disease monitoring in acute myeloid leukemia. *Oncotarget*. 2015;6(26):22812–21. DOI: 10.18632/oncotarget.4333.
32. Falini B., Nicoletti I., Martelli M.F., Mecucci C. Acute myeloid leukemia carrying cytoplasmic/mutated nucleophosmin (NPMc+ AML): Biologic and clinical features. *Blood*. 2007;109:874–85. DOI: 10.1182/blood-2006-07-012252.
33. Heath E.M., Chan S.M., Minden M.D., Murphy T., Shlush L.I., Schimmer A.D. Biological and clinical consequences of NPM1 mutations in AML. *Leukemia*. 2017;31:798–807. DOI: 10.1038/leu.2017.30.
34. Kihara R, Nagata Y, Kiyoi H., et al. Comprehensive analysis of genetic alterations and their prognostic impacts in adult acute myeloid leukemia patients. *Leukemia*. 2014;28(8):1586–95. DOI: 10.1038/leu.2014.55.
35. Döhner K., Schlenk R.F., Habdank M., et al. Mutant nucleophosmin (NPM1) predicts favorable prognosis in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: Interaction with other gene mutations. *Blood*. 2005;106:3740–6. DOI: 10.1182/blood-2005-05-2164.
36. Jahn N., Jahn E., Saadati M., et al. Genomic landscape of patients with FLT3-mutated acute myeloid leukemia (AML) treated within the CALGB 10603/RATIFY trial. *Leukemia*. 2022;36(9):2218–27. DOI: 10.1038/s41375-022-01650-w.
37. Severens J.F., Karakaslar E.O., van der Reijden, B.A. et al. Mapping AML heterogeneity — multi-cohort transcriptomic analysis identifies novel clusters and divergent ex-vivo drug responses. *Leukemia*. 2024;38:751–61. DOI: 10.1038/s41375-024-02137-6.
38. Tyner J.W., Tognon C.E., Bottomly D. et al. Functional genomic landscape of acute myeloid leukaemia. *Nature*. 2018;562:526–53. DOI: 10.1038/s41586-018-0623-z.
39. Yu J., Sun J., Du Y., Chang C. Genomic Landscape of Acute Myeloid Leukemia (AML) on the Basis of 2017 ELN Classification and Other Mutations in Adult AML — Single Healthcare System Data. *Blood*. 2020;136(Suppl. 1):3–4. DOI: 10.1182/blood-2020-139976.
40. Pekhova K.A., Sidorova Yu.V., Severina N.A., et al. Genetic landscape of acute myeloid leukemias with leukocytosis. *Oncohematologiya*. 2023;18(3):102–14 (In Russian). DOI 10.17650/1818-8346-2023-18-3-102-114.
41. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., et al. WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC, 2017:130–55.
42. Krönke J., Schlenk R.F., Jensen K-O., et al. Monitoring of minimal residual disease in NPM1-mutated acute myeloid leukemia: a study from the German-Austrian acute myeloid leukemia study group. *J Clin Oncol*. 2011;29:2709–16. DOI: 10.1200/JCO.2011.35.0371.
43. Ivey A., Hills R.K., Simpson M.A., et al. Assessment of minimal residual disease in standard-risk AML. *N. Engl. J. Med.* 2016;374:422–33. DOI: 10.1056/NEJMoa1507471.

44. Schuurhuis G.J., Heuser M., Freeman S., et al. Minimal/measurable residual disease in AML: A consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood*. 2018;131:1275–91. DOI: 10.1182/blood-2017-09-801498.
45. Heuser M., Freeman S.D., Ossenkoppele G.J., et al. 2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood*. 2021;138(26):2753–67. DOI: 10.1182/blood.2021013626.
46. Dohner H., Estey E., Grimwade D., et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017;129:424–47. DOI: 10.1182/blood-2016-08-733196.
47. Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. Под ред. Паровичниковой Е.Н. М.: Практика; 2024:621–81.
48. Сидорова Ю.В., Сорокина Т.В., Бидерман Б.В. и др. Определение минимальной остаточной болезни у больных В-клеточным хроническим лимфолейкозом методом пациент-специфичной ПЦР. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2011; (12): 22–35.
49. Сидорова Ю.В., Северина Н.А., Бидерман Б.В. и др. Определение мутаций FLT3 и мониторинг МОБ минимальной остаточной болезни при FLT3-позитивном остром миелоидном лейкозе. *Гематология и трансфузиология*. 2025;70(1):8–26. DOI: 10.35754/0234-5730-2025-70-1-8-26.
50. Сидорова Ю.В., Северина Н.А., Судариков А.Б. Тест-система и способ выявления А, В, D мутаций гена NPM1 для количественного определения минимальной остаточной болезни. Изобретения и полезные модели. 2024. Бюл. 33. Патент № 2830545.
51. Schranz K., Hubmann M., Harin E., et al. Clonal heterogeneity of FLT3-ITD detected by high-throughput amplicon sequencing correlates with adverse prognosis in acute myeloid leukemia. *Oncotarget*. 2018;9(53):30128–45. DOI: 10.18632/oncotarget.25729.
52. Zuffa E., Franchini E., Papayannidis C., et al. Revealing very small FLT3 ITD mutated clones by ultra-deep sequencing analysis has important clinical implications in AML patients. *Oncotarget*. 2015;6(31):31284–94. DOI: 10.18632/oncotarget.5161.
53. Ottone T., Zaza S., Divona M., et al. Identification of emerging FLT3 ITD-positive clones during clinical remission and kinetics of disease relapse in acute myeloid leukaemia with mutated nucleophosmin. *Br J Haematol*. 2013;161(4):533–40. DOI: 10.1111/bjh.12288.
54. Sakaguchi M., Yamaguchi H., Najima Y., et al. Prognostic impact of low allelic ratio FLT3-ITD and NPM1 mutation in acute myeloid leukemia. *Blood Adv*. 2018;2(20):2744–54. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018020305.
55. Thiede C., Steudel C., Mohr B., et al. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. *Blood*. 2002;99(12):4326–35. DOI: 10.1182/blood.v99.12.4326.
56. Chen F., Sun J., Yin, C., et al. Impact of FLT3-ITD allele ratio and ITD length on therapeutic outcome in cytogenetically normal AML patients without NPM1 mutation. *Bone Marrow Transplant*. 2020;55:740–8. DOI: 10.1038/s41409-019-0721-z.
57. Schlenk R.F., Kayser S., Bullinger L., et al. German-Austrian AML Study Group. Differential impact of allelic ratio and insertion site in FLT3-ITD-positive AML with respect to allogeneic transplantation. *Blood*. 2014;124(23):3441–9. DOI: 10.1182/blood-2014-05-578070.
58. Abou Dalle I., Ghorab A., Patel K., et al. Impact of numerical variation, allele burden, mutation length and co-occurring mutations on the efficacy of tyrosine kinase inhibitors in newly diagnosed FLT3- mutant acute myeloid leukemia. *Blood Cancer J*. 2020;10(5):48. DOI: 10.1038/s41408-020-0318-1 48.
59. Döhner H., Wei A.H., Appelbaum F.R., et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood*. 2022;140:1345–77. DOI: 10.1182/blood.2022016867.
44. Schuurhuis G.J., Heuser M., Freeman S., et al. Minimal/measurable residual disease in AML: A consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood*. 2018;131:1275–91. DOI: 10.1182/blood-2017-09-801498.
45. Heuser M., Freeman SD, Ossenkoppele GJ, et al. 2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood*. 2021;138(26):2753–67. DOI: 10.1182/blood.2021013626.
46. Dohner H., Estey E., Grimwade D., et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017;129:424–47. DOI: 10.1182/blood-2016-08-733196.
47. Diagnostic algorithms and protocols for the treatment of diseases of the blood system. Ed. Parovichnikova E.N. Moscow: Praktika; 2024:621–81 (In Russian).
48. Sidorova Yu.V., Sorokina T.V., Biderman B.V., et al. The detection of minimal residual disease in patients with chronic B-cell lymphatic leukemia using patient-specified polymerase chain reaction. *Klinicheskaya i Laboratornaya Diagnostika*. 2011;12:22–35 (In Russian). DOI: 10.35754/0234-5730-2025-70-1-8-26.
49. Sidorova Yu.V. 1, Severina N.A. 1, Biderman B.V., et al. Determination of FLT3 mutations and MRD minimal residual disease monitoring in FLT3-positive acute myeloid leukemia/AML. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2025;70(1):8–26 (In Russian). DOI: 10.35754/0234-5730-2025-70-1-8-26.
50. Sidorova Yu.V., Severina N.A., Sudarikov A.B. Test system and method for detecting A, B, D mutations of NPM1 gene for quantitative determination of minimal residual disease. *Izobreteniya i poleznye modeli*. Bull. 33. Patent № 2830545 (In Russian).
51. Schranz K., Hubmann M., Harin E., et al. Clonal heterogeneity of FLT3-ITD detected by high-throughput amplicon sequencing correlates with adverse prognosis in acute myeloid leukemia. *Oncotarget*. 2018;9(53):30128–45. DOI: 10.18632/oncotarget.25729.
52. Zuffa E., Franchini E., Papayannidis C., et al. Revealing very small FLT3 ITD mutated clones by ultra-deep sequencing analysis has important clinical implications in AML patients. *Oncotarget*. 2015;6(31):31284–94. DOI: 10.18632/oncotarget.5161.
53. Ottone T., Zaza S., Divona M., et al. Identification of emerging FLT3 ITD-positive clones during clinical remission and kinetics of disease relapse in acute myeloid leukaemia with mutated nucleophosmin. *Br J Haematol*. 2013;161(4):533–40. DOI: 10.1111/bjh.12288.
54. Sakaguchi M., Yamaguchi H., Najima Y., et al. Prognostic impact of low allelic ratio FLT3-ITD and NPM1 mutation in acute myeloid leukemia. *Blood Adv*. 2018;2(20):2744–54. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018020305.
55. Thiede C, Steudel C, Mohr B, et al. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. *Blood* 2002;99(12):4326–35. DOI: 10.1182/blood.v99.12.4326.
56. Chen F, Sun J, Yin, C., et al. Impact of FLT3-ITD allele ratio and ITD length on therapeutic outcome in cytogenetically normal AML patients without NPM1 mutation. *Bone Marrow Transplant*. 2020;55:740–8. DOI: 10.1038/s41409-019-0721-z.
57. Schlenk R.F., Kayser S., Bullinger L., et al. German-Austrian AML Study Group. Differential impact of allelic ratio and insertion site in FLT3-ITD-positive AML with respect to allogeneic transplantation. *Blood*. 2014;124(23):3441–9. DOI: 10.1182/blood-2014-05-578070.
58. Abou Dalle I, Ghorab A, Patel K, et al. Impact of numerical variation, allele burden, mutation length and co-occurring mutations on the efficacy of tyrosine kinase inhibitors in newly diagnosed FLT3- mutant acute myeloid leukemia. *Blood Cancer J*. 2020;10(5):48. DOI: 10.1038/s41408-020-0318-1 48.
59. Döhner H., Wei A.H., Appelbaum F.R., et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood*. 2022;140:1345–77. DOI: 10.1182/blood.2022016867.

60. Larson R.A., Mandrekar S.J., Huebner L.J., et al. Midostaurin reduces relapse in FLT3-mutant acute myeloid leukemia: the Alliance CALGB 10603/RATIFY trial. *Leukemia*. 2021;35(9):2539–51. DOI: 10.1038/s41375-021-01179-4.

61. Döhner H., Weber D., Krzykalla J., et al. Midostaurin plus intensive chemotherapy for younger and older patients with AML and FLT3 internal tandem duplications. *Blood Adv*. 2022;6:5345–55. DOI: 10.1182/bloodadvances.2022007223.

62. Клинические рекомендации № 131 «Острые миелоидные лейкозы. Взрослые». 2024. URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/view-cr/131_2

63. Pollyea D.A., Bixby D., Perl A., et al. NCCN Guidelines Insights: Acute Myeloid Leukemia, Version 2.2021. *J Natl Compr Canc Netw*. 2021;19(1):16–27. DOI: 10.6004/jnccn.2021.0002.

Информация об авторах

Сидорова Юлия Владимировна*, кандидат медицинских наук, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: sidorova.y@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1936-0084>

Костромина Мария Александровна, студентка МНОИ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова», e-mail: mariya.kostromina.01@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-2774-1938>

Северина Наталия Александровна, кандидат биологических наук, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: severina.n@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7036-9968>

Бидерман Белла Вениаминовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: biderman.b@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6253-3334>

Чабаяева Юлия Александровна, кандидат технических наук, заместитель начальника информационно-аналитического отдела ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: chabaeva.y@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8044-598X>

Куликов Сергей Михайлович, кандидат технических наук, начальник информационно-аналитического отдела ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: kulikov.s@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6288-7570>

60. Larson R.A., Mandrekar S.J., Huebner L.J., et al. Midostaurin reduces relapse in FLT3-mutant acute myeloid leukemia: the Alliance CALGB 10603/RATIFY trial. *Leukemia*. 2021;35(9):2539–51. DOI: 10.1038/s41375-021-01179-4.

61. Döhner H., Weber D., Krzykalla J., et al. Midostaurin plus intensive chemotherapy for younger and older patients with AML and FLT3 internal tandem duplications. *Blood Adv*. 2022;6:5345–55. DOI: 10.1182/bloodadvances.2022007223.

62. Clinical recommendations No. 131. "Acute myeloid leukemia. Adult" (In Russian). 2024. URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/view-cr/131_2

63. Pollyea D.A., Bixby D., Perl A., et al. NCCN Guidelines Insights: Acute Myeloid Leukemia, Version 2.2021. *J Natl Compr Canc Netw*. 2021;19(1):16–27. DOI: 10.6004/jnccn.2021.0002.

Information about the authors

Yulia V. Sidorova*, Cand. Sci. (Med.), Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Laboratory of Molecular Hematology, National Medical Research Center for Hematology, e-mail: sidorova.y@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1936-0084>

Maria A. Kostromina, student M.V. Lomonosov Moscow State University, e-mail: mariya.kostromina.01@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-2774-1938>

Nataliya A. Severina, Cand. Sci. (Biol.), Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Laboratory of Molecular Hematology, National Medical Research Center for Hematology, e-mail: severina.n@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7036-9968>

Bella V. Biderman, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Hematology, National Medical Research Center for Hematology, e-mail: biderman.b@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6253-3334>

Yulia A. Chabaeva, Cand. Sci. (Tech.), Deputy Head of the Informational Analytical Department, National Medical Research Center for Hematology, e-mail: chabaeva.y@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8044-598X>

Sergey M. Kulikov, Cand. Sci. (Tech.), Head of the Informational Analytical Department, National Medical Research Center for Hematology, e-mail: kulikov.s@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6288-7570>

Кашлакова Анастасия Игоревна, гематолог отделения химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с блоком трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: kashlakova.a@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3548-8929>

Дробинина Анна Павловна, гематолог дневного стационара онкологии и химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: drobinina.a@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-7001-0493>

Лукьянова Ирина Анатольевна, кандидат медицинских наук, заведующая дневным стационаром онкологии и химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: lukyanova.i@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8337-2242>

Судариков Андрей Борисович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной гематологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: dusha@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9463-9187>

Паровичникова Елена Николаевна, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: parovichnikova.e@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

* **Автор, ответственный за переписку**

Поступила: 10.04.2025

Принята к печати: 13.11.2025

Anastasia I. Kashlakova, Hematologist, Department of Chemotherapy of Hemoblastosis and Hematopoietic Depressions with Bone marrow and Hematopoietic Stem Cell Transplantation Unit, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: kashlakova.a@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3548-8929>

Anna P. Drobinina, Hematologist of the Department of Chemotherapy of Hemoblastosis and Hematopoietic Depressions, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: drobinina.a@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-7001-0493>

Irina A. Lukyanova, Cand. Sci. (Med.), Head of the Day clinic of Chemotherapy of Hemoblastosis and Hematopoietic Depressions, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: lukyanova.i@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8337-2242>

Andrey B. Sudarikov, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Molecular Hematology, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: dusha@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9463-9187>

Elena N. Parovichnikova, Dr. Sci. (Med.), Corresponding Member of the RAS, CEO of the National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: parovichnikova.e@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

* **Corresponding author**

Received 10 Apr 2025

Accepted 13 Nov 2025