Михалева М.А.¹, Мартынкевич И.С.¹, Булдаков И.А.¹, Петров С.В.¹, Мотыко Е.В.¹, Кувшинов А.Ю.¹, Богданов А.Н.², Волошин С.В.^{1,2,3}

¹ Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА, Санкт-Петербург, Россия

² Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

³ Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

Mikhaleva M.¹, Martynkevich I.¹, Buldakov I.¹, Petrov S.¹, Motyko E.¹, Kuvshinov A.¹, Bogdanov A.², Voloshin S.^{1,2,3}

¹ Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Saint-Petersburg, Russia

² Military Medical Academy named after S.M. Kirov, Saint-Petersburg, Russia

³ North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

Секвенирование нового поколения как метод познания природы хронического лимфолейкоза и перехода к персонифицированной терапии

Next Generation Sequencing as a Method for Discovering the Nature of Chronic Lymphocytic Leukemia and Transition to Personalized Treatment

Резюме

Новейший метод – секвенирование нового поколения (Next Generation Sequencing, NGS) – позволяет выявлять генетическое и эпигенетическое разнообразие хронического лимфолейкоза (ХЛЛ), декодируя мутационный статус и оценивая его влияние на течение заболевания. Учитывая, что тактика лечения пациентов с ХЛЛ претерпела революционные изменения в последние два десятилетия, детекция драйверных мутаций позволит выбирать оптимальные терапевтические схемы и содействовать разработке и дальнейшему внедрению новейших таргетных препаратов и их комбинаций. Риск-адаптированный подход к терапии ХЛЛ, основанный на группах генетического риска, будет являться базисом персонифицированного лечения. Целью настоящей работы является оценка мутационного статуса пациентов с ХЛЛ с использованием разработанной лимфоидной таргетной NGS-панели и изучение возможной корреляции мутационного статуса с клиническими характеристиками заболевания. В проспективное исследование было включено 68 пациентов с ХЛЛ: нелеченные (n=56) и рецидивирующие и рефрактерные формы (n=12). С целью апробации «Лимфоидной таргетной NGS панели генов» было выполнено исследование на образцах ДНК пациентов (n=19) с ХЛЛ. Использование NGS позволило выявить генетические aberrации у всех исследуемых пациентов. Общее количество мутаций составило 767. Полученные нами данные пилотного исследования демонстрируют возможность применения технологии NGS в клинической практике. Для оценки корреляции клинико-лабораторных параметров с мутационным статусом пациентов

с ХЛЛ исследование будет продолжено. Учитывая, что информация о прогностической значимости ряда выявленных мутаций в настоящее время отсутствует, требуются дополнительные исследования с целью определения их влияния на течение ХЛЛ.

Ключевые слова: секвенирование нового поколения, таргетное секвенирование, мутация, хронический лимфолейкоз, таргетная терапия.

Abstract

The newest method – Next Generation Sequencing (NGS) – allows detecting the genetic and epigenetic diversity of chronic lymphocytic leukemia (CLL), decoding the mutational status and assessing its effect on the course of the disease. Considering that the tactics of treatment of patients with CLL have undergone revolutionary changes in the past two decades, the detection of driver mutations will allow choosing the optimal therapeutic regimens and promoting the development and further implementation of the latest targeted drugs and their combinations. A risk-adapted approach to CLL therapy based on genetic risk groups will be the base for personalized treatment. This work aims to assess the mutational status of patients with CLL using the developed "Lymphoid targeted NGS panel" and to study the possible correlation of the mutational status with the clinical characteristics of the disease. The prospective study included 68 patients with CLL: untreated (n=56) and relapse/refractory (n=12). In order to test the "Lymphoid targeted NGS gene panel", the study was carried out on DNA samples from patients (n=19) with CLL. The use of NGS let to identify genetic aberrations in all patients. The total number of mutations was 767. Our pilot study data demonstrate the possibility of using NGS technology in clinical practice. The study will be continued to assess the correlation of clinical and laboratory parameters with CLL's mutational status. Considering that there is currently no information on the prognostic significance of several identified mutations, additional studies are required.

Keywords: next-generation sequencing, targeted sequencing, mutation, chronic lymphocytic leukemia, targeted therapy.

■ ВВЕДЕНИЕ

При обсуждении истории ХЛЛ, начало которой по общему соглашению датируется 1845 годом [1, 2], К. Rai признает четыре главных научных достижения, которые привнесли большой вклад в его понимание: 1) иммунологическая классификация; 2) становление и развитие молекулярной генетики; 3) систематические исследования естественного течения заболевания и прогностических факторов; 4) разработка новых терапевтических средств, дающих надежду на долгосрочный контроль заболевания [3]. Данные научные направления актуальны, продолжают изучаться и в настоящее время.

По-прежнему ХЛЛ является одним из распространенных видов злокачественных гемопоэтических опухолей, встречающихся преимущественно в группе лиц пожилого возраста. Заболевание имеет отчетливую связь с возрастом, полом, расой, национальными особенностями, содержит наследственный фактор распространения. Медиана возраста на момент верификации диагноза составляет 72 года [4]. Тем не менее отмечается нарастание пропорции молодых пациентов с минимально выраженными симптомами заболевания, что, вероятно, связано с регулярно проводимыми обследованиями, в том числе с выполнением клинического анализа крови [5].

Согласно критериям iwCLL 2018 [6], ХЛЛ определяется как злокачественное лимфопролиферативное заболевание из малых В-лимфоцитов в количестве не менее $5 \times 10^9/\text{л}$ в периферической крови и коэкспрессирующих CD5 с CD19, CD20 и CD23. Однако наличие цитопении, обусловленной инфильтрацией костного мозга мелкими опухолевыми лимфоцитами, является основанием для постановки диагноза ХЛЛ вне зависимости от количества лимфоцитов в периферической крови.

Клональная эволюция как один из ключевых аспектов патогенеза ХЛЛ объединяет хромосомные нарушения и мутации в генах, обеспечивая более глубокое понимание клинического течения и развития рефрактерных/рецидивирующих (P/P) форм заболевания. К стандартным молекулярно-генетическим методам, используемым в выявлении хромосомных aberrаций при ХЛЛ, можно отнести кариотипирование, флюоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH) и методы полимеразной цепной реакции (ПЦР). Использование цитогенетических методов в диагностике ХЛЛ продемонстрировало связь заболевания с утратой или добавлением большого количества хромосомного материала.

Хромосомные аномалии при ХЛЛ встречаются в 80% случаев [7]. Среди них делеции 11q, 13q, 17p, и трисомия 12-й хромосомы, которые вовлечены в патогенез ХЛЛ и обладают известной прогностической значимостью, определяя клональную эволюцию, исход заболевания и текущие терапевтические стратегии.

С помощью внедрения новейших методов секвенирования нового поколения (Next Generation Sequencing, NGS) стало возможным выявление генетического и эпигенетического разнообразия ХЛЛ. В течение последних пяти лет с применением метода NGS было выявлено более 1000 рекуррентных мутаций более чем в 70 генах (например, TP53, NOTCH1, SF3B1, BIRC3 и другие) [8–11].

Учитывая, что тактика лечения пациентов с ХЛЛ претерпела революционные изменения в последние два десятилетия, распознавание драйверных мутаций позволит выбирать оптимальные терапевтические схемы и содействовать разработке и дальнейшему внедрению новейших таргетных препаратов и их комбинаций. Риск-адаптированный подход к терапии ХЛЛ, основанный на группах генетического риска, будет являться базисом персонифицированного лечения.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка мутационного статуса пациентов с ХЛЛ с использованием разработанной лимфоидной таргетной NGS-панели и изучение возможной корреляции мутационного статуса с клиническими характеристиками заболевания.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проспективное исследование было включено 68 пациентов с ХЛЛ: нелеченые (n=56) и P/P (n=12). Диагноз ХЛЛ был установлен согласно критериям iwCLL (iwCLL, Hallek et al., 2018). Пациенты разделены на прогностические группы согласно результатам стандартного кариотипирования (1), FISH-исследования (2) и данных о мутационном статусе IGHV (3):

«Лимфоидная таргетная NGS панель генов» "Lymphoid targeted NGS panel"								
ABL1	AKT3	ALK	APC	ARID1A	ATM	ATRX	ASXL1	B2M
BCL2	BCOR	BCORL1	BCR	BIRC3	BRAF	BRCA1	BRCA2	BTK
CALR	CARD11	CBL	CCND1	CD79B	CD58	CDKN2A	CDX2	CEBPA
CIITA	CREBBP	CSF3R	CUX1	DDX3X	DEK	DIS3	DNMT3A	EP300
ETV6	EZH2	FAM46C	FAT1	FLT3	FBXW7	GATA1	GATA2	GNA13
GNAS	HISTH1A	HCK	HRAS	ID3	IDH1	IDH2	IKZF1	IKZF3
IRF4	ITPKB	JAK2	JAK3	KDM6A	KDR	KIT	KLF2	KMT2A
KMT2C	KMT2D	KRAS	MAP2K1	MEFB2	MGA	MPL	MSN	MYC
MYD88	NF1	NOTCH1	NOTCH2	NPM1	NRAS	PDGFRA	PHF6	P1K3CB
PIM1	PLCG2	POT1	PRDM1	PTCH1	PTEN	PTPN11	PTPRD	RAD21
RBI	RHOA	RPS15	RUNX1	RYR1	SAMHD1	SETBP1	SF3B1	SH2B3
SMARCA4	SMC1A	SMC3	SOCS1	SRSF2	STAG2	STAT3	STAT6	SUZ12
SYK	TET2	TNFAIP3	TP53	U2AF1	WHSC	WT1	XPOI	ZRSR2

Рис. 1. Лимфоидная таргетная NGS панель генов

Fig. 1. The "Lymphoid targeted NGS panel"

(1) благоприятная (n=44) и неблагоприятная (n=7); у 17 пациентов стандартное кариотипирование выполнить не удалось, что связано с низкой митотической активностью опухолевых клеток;

(2) благоприятная (n=18), нейтральная (n=29) и неблагоприятная (n=19); у двух пациентов данные о результатах FISH-исследования отсутствуют;

(3) благоприятная (n=20) и неблагоприятная (n=27); у 21 пациента отсутствуют данные о мутационном статусеIGHV.

Все пациенты имели показания к началу лечения и получили следующие программы терапии:

- 1) стандартная иммунотерапия с включением анти-CD20-моноклональных антител I и II поколения (n=39);
- 2) таргетная терапия: ингибиторы тирозинкиназы Брутона (n=14), ингибиторы Bcl-2 (n=2), комбинации таргетных препаратов (n=13).

Образцы ДНК пациентов получены из В-лимфоцитов периферической крови с применением стандартного фенол-хлороформного метода. Секвенирование проводилось на платформе MiSeq (Illumina, USA) с применением «Лимфоидной таргетной NGS панели генов» (рис. 1). Данная панель, разработанная нами, основывается на опубликованных современных данных. В нее включены 117 генов основных 8 клеточных сигнальных путей, лежащих в основе патогенеза ХЛЛ. Средняя глубина прочтения составила 1000x. При анализе полученных данных применялся 2% порог частоты встречаемости аллеля (VAF).

Клиническая значимость выявленных мутаций оценивалась с помощью баз данных COSMIC, ClinVar, gnomAD с применением in silico анализа (Cscare, Cancer Genome Interpreter, SNPs&Go). После оценки выявленные мутации в генах распределены на пять групп: 1) неясного значения; 2) вероятно доброкачественная; 3) доброкачественная; 4) вероятно патогенная; 5) патогенная [12].

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

С целью апробации «Лимфоидной таргетной NGS панели генов» было выполнено пилотное исследование на образцах ДНК пациентов (n=19) с ХЛЛ. Использование NGS позволило выявить генетические aberrации у всех исследуемых пациентов. В 85 генах из 177 было выявлено 767 мутаций (рис. 2). Мутации в одном гене встречались в количестве от 1 до 81 (медиана – 4). Наиболее часто встречались мутации в генах KMT2C (13,7%) и его паралоге – KMT2D (3,65%), что ускоряет процесс опухолевой пролиферации. В исследуемой группе выявлена высокая частота мутаций в гене FAT1 (13,2%), который обуславливает рефрактерность к проводимым программам терапии.

При оценке выявленных мутаций по текущей клинической значимости 81,9% мутаций были определены как вероятно доброкачественные (n=370) и доброкачественные (n=258) (рис. 3). Клиническое значение 16% мутаций (n=123) не известно в настоящее время.

У 11/19 пациентов с неблагоприятным прогнозом течения заболевания (неблагоприятный прогноз по цитогенетике/FISH с мутированным

Рис. 2. Частота встречаемости мутаций в генах пациентов с ХЛЛ

Fig. 2. The frequency of mutations in CLL

Рис. 3. Частота встречаемости выявленных мутаций согласно клинической значимости

Fig. 3. The frequency of mutations according to clinical significance

Рис. 4. Мутационный профиль 19 пациентов с ХЛЛ

Fig. 4. Mutational profile of 19 patients with CLL

IGHV или без него) были выявлены известные патогенные варианты (n=13) мутаций: SF3B1 K700E (n=3), SF3B1 G742D, TP53 Lys120Glu, NOTCH1 P2514fs*4, NOTCH1 Q2404*, BRAF D594G, BRAF K601N, PTEN (c.1321-2A>T), MGA R1246X, JAK3 V722L, IDH2 T352P (рис. 4). Вероятно патогенными вариантами (n=3) были ATM Y2080, CNF1 M2217V и XPO1 E571K.

Патогенный вариант по типу сдвига рамки считывания c.7541_7542delCT (p.P2514fs*4) в гене NOTCH1, описанный при ХЛЛ, приводит к синтезу укороченной формы белка с полноценным рецепторным доменом, но нарушенным С-концевым доменом (NICD), ответственным за передачу сигнала в ядро клетки. Укороченный NICD теряет сигнал деградации (C-PEST), что приводит к его накоплению в цитоплазме и, как следствие, усилению сигнала NOTCH1 (вариант описан в базах данных COSMIC (ID: COSM33946) и ClinVar (ID: 581973)) [13].

У пациента CLL-005 выявлен патогенный вариант c.2098A>G (p.K700E) в гене SF3B1. Фактор сплайсинга РНК SF3B1 является одним из наиболее часто мутирующих генов при ХЛЛ. Мутации часто связаны с плохим прогнозом, однако механизм их влияния на прогрессию заболевания еще не до конца изучен. Существует предположение, что экспрессия SF3B1-K700E может ускорить развитие ХЛЛ с del(13q) за счет альтернативного сплайсинга РНК и активации mTORC1 [14–16]. У данного пациента в 3,0% интерфазных ядер обнаружена биаллельная делеция локуса гена DLEU/13q14.2; в 2,5% клеток – моноаллельная делеция локуса гена DLEU/13q14.2. Прогрессия заболевания после терапии 1-й линии – через 13,87 месяца.

Обнаружен патогенный вариант c.1803A>C (p.K601N) в гене BRAF: мутации сигнального пути RAS/RAF находят у 5–9% пациентов с ХЛЛ. Мутация K601N приводит к изменению аминокислоты в позиции 601 гена BRAF, находящейся в пределах высококонсервативного участка киназного домена. BRAF с мутацией в 601 кодоне обладает повышенной киназной активностью, вовлеченной в сигнальные пути генов RAF/MEK/Erk [17, 18].

Патогенный вариант мутации (Lys120Glu) в гене TP53 зачастую ассоциирован с наличием делеции 17p13 [19], что подтверждается FISH-исследованием, проведенным пациенту CLL-003, и коррелировало с неблагоприятным клиническим течением заболевания. Данный вариант нуклеотидной последовательности в гене TP53 (Lys120Glu) приводит к потере сайта ацетилирования белка и блокированию проапоптотической функции TP53 [20, 21].

Выявлено 123 мутации, патогенность которых в настоящее время не определена, в количестве от 2 до 15 (медиана – 5,5) мутаций на пациента.

Так, выявленный вариант нуклеотидной последовательности в гене KMT2C (MLL3) – c.1173C>A (p.C391X) приводит к образованию стоп-кодона, преждевременной терминации синтеза белка и потере его функции. Согласно литературным данным, наличие мутаций, приводящих к образованию стоп-кодона в гене KMT2C, одиночно является недостаточным для развития лейкозогенеза, однако в сочетании с другими абберациями, например с потерей функционального белка p53, приводит к блоку дифференцировки гемопоэтических стволовых клеток [22].

Существующий подход к интерпретации результатов не позволяет сделать однозначный вывод о клиническом значении варианта T352P в гене IDH2 и V722L в гене JAK3, несмотря на известное патогенное влияние вариантов.

Так, популяционная частота встречаемости выявленного варианта мутации в гене IDH2 говорит о его возможном фенотипическом проявлении только при доминантном типе аллеля. Однако алгоритмы предсказания говорят о патогенном влиянии варианта, а сам вариант был описан у пациента с ОМЛ [23], и информация о нем представлена в базе данных COSMIC (ID: COSM1658762).

Стоит отметить, что у двух пациентов (CLL-003 и CLL-011) с неблагоприятным прогнозом были выявлены мутации в генах и BCR, и NOTCH2 неясного значения.

Мутации в гене KRAS, в том числе выявленный патогенный вариант c.37G>T (p.G13C), ассоциируются с неблагоприятным прогнозом и низкой чувствительностью к терапии [11, 24, 25].

Обнаружена патогенная нуклеотидная замена в кодирующей последовательности гена ASXL1 2412_2419delACCCACCG по типу сдвига рамки считывания (P805fsX15), приводящая к образованию стоп-кодона и обрыву синтеза белка. Однако данные о клинической значимости данной мутации в базе данных ClinVar не представлены [26].

Полученные данные пилотного исследования демонстрируют возможность применения технологии NGS в клинической практике. Для оценки корреляции клинико-лабораторных параметров с мутационным статусом пациентов с ХЛЛ исследование будет продолжено. Учитывая, что информация о прогностической значимости ряда выявленных мутаций в настоящее время отсутствует, требуются дополнительные исследования с целью определения их влияния на течение ХЛЛ.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Биология опухоли: хромосомные и генетические нарушения

Использование цитогенетических методов в диагностике ХЛЛ предоставило важную информацию о биологии опухолевого клона, продемонстрировав, что заболевание часто связано с утратой или добавлением большого количества хромосомного материала: делеции 17p (del17p), 13q (del13q), 11q (del11q) и трисомия 12-й хромосомы (+12) [4]. Последующее развитие области молекулярной генетики позволило выявлять точечные мутации, например, ATM и TP53, которые ассоциированы с del11q и del17p соответственно.

Примерно в 55% случаев встречается хромосомная aberrация – del(13q14), которая при изолированном выявлении определяет благоприятный прогноз течения заболевания [4, 27].

Частота встречаемости del11q варьирует от 10 до 25% в зависимости от стадии заболевания [28, 29]. Выявление данной хромосомной aberrации зачастую ассоциировано с мутацией в гене ATM, кодирующем киназу ATM в ответ на проксимальное повреждение ДНК [4]. Для пациентов с del11q характерными клиническими признаками являются массивное увеличение лимфатических узлов, быстрая прогрессия заболевания, низкая эффективность химиотерапевтических программ и снижение выживаемости [29, 30].

Трисомия 12-й хромосомы выявляется у 10–20% пациентов [4], однако гены, вовлеченные в патогенез ХЛЛ с участием данной генетической аберрации, в настоящее время неизвестны. Прогностическая значимость трисомии 12-й хромосомы является предметом дебатов [31], несмотря на общепринятое решение определять наличие трисомии 12-й хромосомы как нейтральный прогноз.

Делеция 17p выявляется в 5–8% случаев и часто ассоциирована с мутацией в гене TP53 (80% случаев) [4]. Течение ХЛЛ при наличии del17p характеризуется выраженной резистентностью к стандартным программам химиотерапии, которая не может быть преодолена с добавлением анти-CD20-моноклональных антител [32]. Мутация в гене TP53 выявляется в 4–37% случаев, ассоциирована с крайне неблагоприятным прогнозом течения заболевания [33].

К настоящему времени не определен единственный генетический дефект, необходимый и достаточный для развития ХЛЛ. Можно предполагать, что развитие заболевания ассоциировано с множеством генетических поломок в клеточных сигнальных путях, обуславливающих гетерогенность клинического течения ХЛЛ.

В дополнение к уже известным генетическим аберрациям эксперименты с использованием технологии NGS позволили выявить более 1000 рекуррентных мутаций более чем в 70 генах [8–11].

Результатом полноэкзомного и полногеномного секвенирования при ХЛЛ стало понимание роли сигнальных путей в патогенезе ХЛЛ, благодаря выявлению как новых драйверных мутаций, так и мутаций в некодирующих областях. Предполагается, что из известных 12 клеточных сигнальных путей [34] в патогенезе ХЛЛ задействованы 8 основных [8–11, 15, 27, 35–47]:

- 1) сигнальный путь NOTCH: NOTCH1, FBXW7;
- 2) сигнальный путь Wnt: LRP1B, MED12, FAT1, NkD2;
- 3) путь передачи сигнала через B-клеточный рецептор: BTK, PLCG2, NRAS и KRAS, BRAF, ITPKB, KLHL6;
- 4) врожденный воспалительный ответ: MYD88, RIPK1, BIRC3, MAP2K1 и MAP2K3, MAPK1;
- 5) модификация хроматина: ZMYM3, CHD2, HIST1H1E, HIST1H1C;
- 6) процессинг и транспорт мРНК: SF3B1, DDX3X, XPO1, RPS15, POLR3B и RANBP2;
- 7) дифференцировка B-клеток: BCOR, EGR2, IKZF3;
- 8) ответ на повреждения ДНК, контроль клеточного цикла: TP53, ATM, SAMHD1, POT1, BRCC3.

Исследования NGS при ХЛЛ выявили новые генетические мутации, которые связаны с характеристиками опухолевого клона и оказывают влияние на прогноз течения заболевания. Так, активация сигнального пути NOTCH может привести к более агрессивному течению заболевания и плохому прогнозу. Активация мутаций в гене NOTCH1 наблюдается у 10% пациентов с ХЛЛ на этапе верификации диагноза, но значительно чаще в группе химиорезистентных пациентов и пациентов с трансформацией в диффузную крупноклеточную B-клеточную лимфому – 20% и 30% соответственно [27]. Ряд исследований демонстрируют, что наличие мутации NOTCH1 связано со снижением общей выживаемости (ОВ) [30, 48, 49], другие не выявляют данной связи [50], что безусловно требует дальнейших исследований.

Мутации в гене BIRC3 встречаются с низкой частотой (4%) на этапе диагностики ХЛЛ. Однако у пациентов с рефрактерностью к пуриновым аналогам частота детекции мутации возрастает до 24%. Прогностическая значимость данной мутации в настоящее время не определена [27].

Ген SF3B1 был мутирован у 9,7% пациентов и ассоциируется с сокращением ОБ и беспрогрессивной выживаемости (БПВ) пациентов [8, 27, 30]. Мутации в гене SF3B1 ассоциированы с del11q и является предиктором короткого периода «наблюдай и жди» [51].

Получены данные о неблагоприятном течении заболевания в виде сокращения времени до начала 1-й линии терапии при наличии мутаций в генах TP53, ATM, NOTCH1 и SF3B1 [30].

Интересным остается вопрос о встречаемости и, главное, значимости выявляемых генетических аномалий в группах с уже доказанным прогнозом (например, в зависимости от статуса тяжелых цепей иммуноглобулинов (IGHV)). Как известно, статус тяжелых цепей иммуноглобулинов является важным предиктором течения ХЛЛ: у пациентов с мутированным статусом IGHV (M-IGHV) заболевание протекает благоприятно по сравнению с пациентами с немутированным статусом IGHV (UM-IGHV) [52]. Мутации в генах NOTCH1 и XPO1 более часто встречались у пациентов с UM-IGHV, в то время как мутации в MYD88 и KHLN6 преобладали в случаях с M-IGHV [9]. Прогностическую значимость полученных данных еще предстоит изучить.

Клиническая значимость мутаций в генах ХЛЛ [10, 11, 30, 51, 53–58]

Ген	Частота встречаемости	Ассоциация	Прогноз
TP53	5,3–50%	del(17p13) UM-IGHV	Неблагоприятный
ATM	8–25,6%	del(11q23) UM-IGHV	Неблагоприятный
SF3B1	5–24,9%	del(11q22-q23) ATM UM-IGHV ZAP70 POT1	Неблагоприятный
NOTCH1	4–24,1%	+12 XPO1 TP53 UM-IGHV	Неблагоприятный
RPS15	0,88–19,5%	UM-IGHV	Неблагоприятный
BIRC3	4–15,5%	del(11q22-q23) UM-IGHV +12	Неблагоприятный
XPO1	1,8–11,5%	NOTCH1 UM-IGHV	Вероятно неблагоприятный
MYD88	1,5–10%	del(13q14) M-IGHV	Благоприятный
SAMHD1	2–9,8%	Потеря гетерозиготности 20-й хромосомы	Вероятно неблагоприятный
POT1	2,5–7%	SF3B1 UM-IGHV	Неопределенный
FBXW7	1,3–5%	+12 UM-IGHV	Вероятно неблагоприятный

The clinical significance of mutations in CLL genes [10, 11, 30, 51, 53–58]

Gene	Frequency	Association	Prognostic Value
TP53	5.3–50%	del(17p13) UM-IGHV	Poor
ATM	8–25.6%	del(11q23) UM-IGHV	Poor
SF3B1	5–24.9%	del(11q22-q23) ATM UM-IGHV ZAP70 POT1	Poor
NOTCH1	4–24.1%	+12 XPO1 TP53 UM-IGHV	Poor
RPS15	0.88–19.5%	UM-IGHV	Poor
BIRC3	4–15.5%	del(11q22-q23) UM-IGHV +12	Poor
XPO1	1.8–11.5%	NOTCH1 UM-IGHV	Probably poor
MYD88	1.5–10%	del(13q14) M-IGHV	Favorable
SAMHD1	2–9.8%	Loss of heterozygosity of chromosome 20	Probably poor
POT1	2.5–7%	SF3B1 UM-IGHV	Unknown
FBXW7	1.3–5%	+12 UM-IGHV	Probably poor

Исследования, проведенные на больших когортах пациентов с применением NGS, позволили оценить ассоциации между драйверными мутациями. К уже известным TP53/del(17p13) и ATM-BIRC3/del(11q22-23) ассоциациям с помощью NGS были открыты новые: SETD2/del(3p21), NFKB2/del(10q24), MGA/del(15q15.1) [53] неопределенной прогностической значимости. Также были выявлены значимые взаимосвязи между мутацией в гене NOTCH1 и трисомией 12-й хромосомы, а также ранее не описываемая высокая частота ассоциации между мутациями BIRC3 и трисомией 12-й хромосомы, мутациями в генах SF3B1 и POT1, NOTCH1 и MGA [11, 25, 51]. Синергизм взаимодействия между генетическими aberrациями усиливает процесс опухолевого роста [53]. Большинство выявленных мутаций указывают на возможную прогностическую роль некоторых новых мутаций в генах ХЛЛ (см. таблицу).

Таким образом, молекулярно-генетическая неоднородность опухолевого клона ХЛЛ определяет разнообразие его клинических проявлений: от пациентов, прогрессирующих на этапе активного лечения в течение нескольких месяцев, до пациентов, которые наблюдаются годами и десятилетиями. При этом выявление драйверных мутаций становится приоритетным направлением, связанным с поиском возможной точки приложения для использования персонифицированной таргетной терапии.

Риск-адаптированный подход к терапии

С момента применения цитостатиков хлорамбуцила [59] и флударабина [60] для лечения ХЛЛ в монорежиме либо в комбинации последовал длительный период времени, прежде чем в программы терапии были введены новые таргетные лекарственные препараты – моноклональные антитела [61, 62], повысившие эффективность терапии.

Стандарты лечения ХЛЛ претерпели значимые изменения с момента внедрения таргетных препаратов. В проводимых исследованиях были доказаны высокая эффективность и относительно низкий профиль токсичности ингибиторов В-клеточного сигнального пути (ибрутиниб [63, 64], акалабрутиниб [65], иделалисиб [66]), ингибитора Bcl-2 (венетоклакс [67, 68]) и иммуномодуляторов (леналидомид [69, 70]).

Учитывая впечатляющее количество вариантов, выбор оптимального лечения ХЛЛ у пациента стал нетривиальной задачей.

Обычно при выборе тактики лечения ХЛЛ учитываются следующие параметры [4]:

- 1) стадия;
- 2) наличие симптомов опухолевой интоксикации;
- 3) общесоматический статус пациента;
- 4) группа генетического риска;
- 5) линия терапии.

Продолжается изучение эффективности таргетных препаратов в зависимости от наличия мутаций в генах. Например, в исследовании MURANO (NCT02005471) было выявлено 9 драйверных мутаций у 74,8% пациентов (234/313) с Р/Р ХЛЛ [71]. Мутации в гене ATM выявлены у 30,7%, TP53 – 24,9%, SF3B1 – 22,0%, NOTCH1 – 13,7%, BRAF – 8,3%, BIRC3 – 8,0%, и NRAS/KRAS/MYD88 – 1,6%. Преимущество в длительности беспрогрессивной выживаемости у пациентов с мутациями в генах ATM, TP53, SF3B1, NOTCH1 и BIRC3 было выявлено у пациентов, получавших терапию венетоклакс + ритуксимаб, по сравнению с группой бендамустин + ритуксимаб.

Несмотря на то что на сегодняшний день лишь del17p, мутации в гене TP53 и статус IGVH являются решающими в определении стратегии лечения, относительно высокая частота выявленных соматических мутаций в генах при помощи NGS указывает на то, что данные мутации, задействованные в сигнальных клеточных путях патогенеза ХЛЛ, могут стать «мишенями» для новейших таргетных препаратов. Действительно, ряд молекул, направленных на выявленные гены, находятся в стадиях разработок: ингибиторы NOTCH сигнального пути (γ -secretase ингибиторы) [72]; ингибиторы сплайсеосом [73], экспорта ядерной РНК [74] и теломераз [75].

Будущие задачи

Применение технологии NGS в исследованиях генома ХЛЛ дополнило наши знания о генетической архитектуре опухолевого клона и, как следствие, важно в определении прогностической группы и оптимизации тактики ведения пациентов.

Мутационный профиль ХЛЛ характеризуется относительно небольшим количеством соматических мутаций, несколькими часто встречающимися рекуррентными мутациями и достаточно большим количеством рекуррентных мутаций, которые встречаются с низкой частотой. Такое обилие генетических aberrаций обуславливает выраженную клиническую гетерогенность ХЛЛ.

Исследования методом NGS доказали применимость, чувствительность и воспроизводимость при ХЛЛ. Пожалуй, ближайшая задача – это внедрение NGS в рутинную клиническую практику. Однако предстоит

большая работа по валидации данного метода и установлению единого межлабораторного стандарта.

Полученные данные должны быть использованы для разработки таргетных панелей генов, что обеспечит получение более точных прогностических данных, позволит скорректировать протоколы терапии и выявлять новые «мишени» для разработки таргетных лекарственных препаратов.

Вклад авторов / Authors' contribution

Концепция и дизайн исследования, сбор материала, обработка, написание текста – Михалева М.А., сбор материала, проведение секвенирования – Булдаков И.А., Петров С.В., Мотыко Е.В., концепция и дизайн исследования, редактирование – Волошин С.В., Мартынкевич И.С., Кувшинов А.Ю., Богданов А.Н.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Bennett J.H. (1845) Case of hypertrophy of the spleen and liver, in which death took place from suppuration of the blood. *Edinburgh Med Surg J*, vol. 64, pp. 413–423.
2. Virchow R. (1845) Weisses blut. *Froiep Notizen*, vol. 36, pp. 151–156.
3. Rai K.R. (1993) Progress in chronic lymphocytic leukaemia: A historical perspective. *Baillieres. Clin. Haematol.*, vol. 6, pp. 757–765. doi: 10.1016/S0950-3536(05)80174-X.
4. Hallek M. (2019) Chronic lymphocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification and treatment. *Am. J. Hematol.*, vol. 94, pp. 1266–1287. doi: 10.1002/ajh.25595.
5. Mauro F.R., Foa R., Giannarelli D. (1999) Clinical characteristics and outcome of young chronic lymphocytic leukemia patients: a single institution study of 204 cases. *Blood. J. Am. Soc. Hematol.*, vol. 94, pp. 448–454.
6. Hallek M., Cheson B.D., Catovsky D. (2018) iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*, vol. 131, pp. 2745–2760. doi: 10.1182/blood-2017-09-806398.
7. Puiggros A., Blanco G., Espinet B. (2014) Genetic abnormalities in chronic lymphocytic leukemia: Where we are and where we go. *Biomed Res. Int.*, vol. 214. doi: 10.1155/2014/435983.
8. Quesada V., Conde L., Villamor N. (2012) Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia. *Nat. Genet.*, vol. 44, p. 47. doi: 10.1038/ng.1032.
9. Puente X.S., Pinyol M., Quesada V. (2011) Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature*, vol. 475, pp. 101–105. doi:10.1038/nature10113.
10. Landau D.A., Carter S.L., Stojanov P. (2013) Evolution and impact of subclonal mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Cell*, vol. 152, pp. 714–726. doi: 10.1016/j.cell.2013.01.019.
11. Landau D.A., Tausch E., Taylor-Weiner A.N. (2015) Mutations driving CLL and their evolution in progression and relapse. *Nature*, vol. 526, pp. 525–530. doi: 10.1038/nature15395.
12. Richards S., Aziz N., Bale S. (2015) Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet. Med.*, vol. 17, pp. 405–423.
13. Benedetti D., Tissino E., Pozzo F. (2018) NOTCH1 mutations are associated with high CD49d expression in chronic lymphocytic leukemia: link between the NOTCH1 and the NF-κB pathways. *Leukemia*, vol. 32, pp. 654–662.
14. Zhang B., Iyer P., Jin M. (2020) Expression of Sf3b1-K700E accelerates the Development of Chronic Lymphocytic Leukemia in a Del(13q) Murine Model. *Blood*, vol. 136, pp. 4–5. doi: 10.1182/blood-2020-139096.
15. Wang L., Lawrence M.S., Wan Y. (2011) SF3B1 and other novel cancer genes in chronic lymphocytic leukemia. *N. Engl. J. Med.*, vol. 365, pp. 2497–2506. doi: 10.1056/NEJMoa1109016.
16. Foy A., McMullin M.F. (2019) Somatic SF3B1 mutations in myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts and chronic lymphocytic leukaemia. *J. Clin. Pathol.*, vol. 72, pp. 778–782.
17. Wang J., Morrisette J., Lieberman D.B. (2018) Utilization of next generation sequencing identifies potentially actionable mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Br. J. Haematol.*, vol. 180, pp. 299–301.
18. Yao Z., Torres N.M., Tao A. (2015) BRAF mutants evade ERK-dependent feedback by different mechanisms that determine their sensitivity to pharmacologic inhibition. *Cancer Cell*, vol. 28, pp. 370–383.
19. Lionetti M., Barbieri M., Manzoni M. (2016) Molecular spectrum of TP53 mutations in plasma cell dyscrasias by next generation sequencing: an Italian cohort study and overview of the literature. *Oncotarget*, vol. 7, pp. 21353.
20. Rokudai S., Laptenko O., Arnal S.M. (2013) MOZ increases p53 acetylation and premature senescence through its complex formation with PML. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 110, pp. 3895–3900.
21. Monteith J.A., Mellert H., Sammons M.A. (2016) A rare DNA contact mutation in cancer confers p53 gain-of-function and tumor cell survival via TNFAIP8 induction. *Mol. Oncol.*, vol. 10, pp. 1207–1220.

22. Garg M., Nagata Y., Kanojia D. (2015) Profiling of somatic mutations in acute myeloid leukemia with FLT3-ITD at diagnosis and relapse. *Blood, J. Am. Soc. Hematol.*, vol. 126, pp. 2491–2501.
23. Conte N., Varela I., Grove C. (2013) Detailed molecular characterisation of acute myeloid leukaemia with a normal karyotype using targeted DNA capture. *Leukemia*, vol. 27, pp. 1820–1825. doi: 10.1038/leu.2013.117.
24. Vendramini E., Bomben R., Pozzo F. (2019) KRA5, NRAS, and BRAF mutations are highly enriched in trisomy 12 chronic lymphocytic leukemia and are associated with shorter treatment-free survival. *Leukemia*, vol. 33, pp. 2111–2115.
25. Puente X.S., Beà S., Valdés-Mas R. (2015) Non-coding recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature*, vol. 526, pp. 519–524. doi: 10.1038/nature14666.
26. Asada S., Kitamura T. (2019) Aberrant histone modifications induced by mutant ASXL1 in myeloid neoplasms. *Int. J. Hematol.*, vol. 110, pp. 179–186.
27. Zent C.S., Burack W.R. (2014) Mutations in chronic lymphocytic leukemia and how they affect therapy choice: focus on NOTCH1, SF3B1. *Hematology*, vol. 2014, pp. 119–124. doi: 10.1182/asheducation-2014.1.119.
28. Zenz T., Mertens D., Küppers R. (2010) From pathogenesis to treatment of chronic lymphocytic leukaemia. *Nat. Rev. Cancer*, vol. 10, pp. 37–50.
29. Döhner H., Stilgenbauer S., James M.R. (1997) 11q deletions identify a new subset of B-cell chronic lymphocytic leukemia characterized by extensive nodal involvement and inferior prognosis. *Blood, J. Am. Soc. Hematol.*, vol. 89, pp. 2516–2522.
30. Hurtado A.M., Chen-Liang T.H., Przychodzen B. (2015) Prognostic signature and clonality pattern of recurrently mutated genes in inactive chronic lymphocytic leukemia. *Blood Cancer J.*, vol. 5, pp. e342–e342. doi: 10.1038/bcj.2015.65.
31. Seiffert M., Dietrich S., Jethwa A. (2012) Exploiting biological diversity and genomic aberrations in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Lymphoma*, vol. 53, pp. 1023–1031.
32. Hallek M., Fischer K., Fingerle-Rowson G. (2010) Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet*, vol. 376, pp. 1164–1174.
33. Zenz T., Vollmer D., Trbusek M. (2010) TP53 mutation profile in chronic lymphocytic leukemia: evidence for a disease specific profile from a comprehensive analysis of 268 mutations. *Leukemia*, vol. 24, pp. 2072.
34. Vogelstein B., Papadopoulos N., Velculescu V.E. (2013) Cancer genome landscapes. *Science*, vol. 340, pp. 1546–1558. doi: 10.1126/science.1235122.
35. Mäkinen N., Mehine M., Tolvanen J. (2011) MED12, the mediator complex subunit 12 gene, is mutated at high frequency in uterine leiomyomas. *Science*, vol. 334, pp. 252–255. doi: 10.1126/science.1208930.
36. Woyach J.A., Furman R.R., Liu T.M. (2014) Resistance mechanisms for the Bruton's tyrosine kinase inhibitor ibrutinib. *N. Engl. J. Med.*, vol. 370, pp. 2286–2294. doi: 10.1056/NEJMoa1400029.
37. Messina M., Del Giudice I., Khiabani H. (2014) Genetic lesions associated with chronic lymphocytic leukemia chemo-refractoriness. *Blood*, vol. 123, pp. 2378–2388. doi: 10.1182/blood-2013-10-534271.
38. Landau D.A., Stewart C., Reiter J.G. (2014) Novel Putative Driver Gene Mutations in Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL): Results from a Combined Analysis of Whole-Exome Sequencing of 262 Primary CLL Samples. *Blood*, vol. 124, p. 1952. doi: 10.1182/blood.v124.21.1952.1952.
39. Bos J.L. (1989) Ras Oncogenes in Human Cancer: A Review. *Cancer Res.*, vol. 49, pp. 4682–4689.
40. Damm F., Mylonas E., Cosson A. (2014) Acquired initiating mutations in early hematopoietic cells of CLL patients. *Cancer Discov.*, vol. 4, pp. 1088–1011. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-0104.
41. Jebaraj B.M.C., Kienle D., Bühler A. BRAF mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Lymphoma*, vol. 54, pp. 1177–1182. doi: 10.3109/10428194.2012.742525.
42. Maréchal Y., Quéant S., Polizzi S. (2011) Inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase B controls survival and prevents anergy in B cells. *Immunobiology*, vol. 216, pp. 103–109. doi: 10.1016/j.imbio.2010.03.012.
43. Hosgood H.D., Baris D., Zhang Y. (2009) Genetic variation in cell cycle and apoptosis related genes and multiple myeloma risk. *Leuk. Res.*, vol. 12, pp. 1609–1614. doi: 10.1016/j.leukres.2009.03.013.
44. Alami R., Fan Y., Pack S. (2003) Mammalian linker-histone subtypes differentially affect gene expression in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 100, pp. 5920–5925. doi: 10.1073/pnas.0736105100.
45. Grossmann V., Tiacchi E., Holmes A.B. (2011) Whole-exome sequencing identifies somatic mutations of BCOR in acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Blood*, vol. 118, pp. 6153–6163. doi: 10.1182/blood-2011-07-365320.
46. Unoki M., Nakamura Y. (2003) EGR2 induces apoptosis in various cancer cell lines by direct transactivation of BNIP3L and BAK. *Oncogene*, vol. 22, pp. 2172–2185. doi: 10.1038/sj.onc.1206222.
47. Rice G.L., Bond J., Asipu A. (2009) Mutations involved in Aicardi-Goutières syndrome implicate SAMHD1 as regulator of the innate immune response. *Nat. Genet.*, vol. 41, pp. 829–832. doi: 10.1038/ng.373.
48. Rossi D., Rasi S., Fabbri G. (2012) Mutations of NOTCH1 are an independent predictor of survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood, J. Am. Soc. Hematol.*, vol. 119, pp. 521–529.
49. Oscier D.G., Rose-Zerilli M.J.J., Winkelmann N. (2013) The clinical significance of NOTCH1 and SF3B1 mutations in the UK LRF CLL4 trial. *Blood, J. Am. Soc. Hematol.*, vol. 121, pp. 468–475.
50. Stilgenbauer S., Schnaiter A., Paschka P. (2014) Gene mutations and treatment outcome in chronic lymphocytic leukemia: results from the CLL8 trial. *Blood*, vol. 123, pp. 3247–3254.
51. Braggio E., Egan J.B., Fonseca R., Stewart A.K. (2013) Lessons from next-generation sequencing analysis in hematological malignancies. *Blood Cancer J.*, vol. 3, p. e127. doi: 10.1038/bcj.2013.26.
52. Hamblin T.J., Davis Z., Gardiner A. (1999) Unmutated Ig VH Genes Are Associated With a More Aggressive Form of Chronic Lymphocytic Leukemia. *Blood*, vol. 94, pp. 1848–1854. doi: 10.1182/blood.v94.6.1848.418k05_1848_1854.
53. Rodríguez-Vicente A.E., Bikos V.M., Hernández-Sánchez M. (2017) Next-generation sequencing in chronic lymphocytic leukemia: Recent findings and new horizons. *Oncotarget*, vol. 8, pp. 71234–71248. doi: 10.18632/oncotarget.19525.
54. Sandoval-Sus J.D., Stingo F.E., Knepper T.C. (2016) Mutational Landscape of Chronic Lymphocytic Leukemia Using Next Generation Sequencing Technologies in the Real World Clinical Setting. *Blood*, vol. 128, pp. 4366. doi: 10.1182/blood.V128.22.4366.4366.
55. Rigolin G.M., Saccenti E., Bassi C. (2016) Extensive next-generation sequencing analysis in chronic lymphocytic leukemia at diagnosis: Clinical and biological correlations. *J. Hematol. Oncol.*, vol. 9, pp. 1–9. doi: 10.1186/s13045-016-0320-z.
56. Guillermin Y., Lopez J., Chabane K. (2018) What Does This Mutation Mean? The Tools and Pitfalls of Variant Interpretation in Lymphoid Malignancies. *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 19, p. 1251. doi: 10.3390/ijms19041251.
57. Guizé R., Wu C.J. (2015) Genomic and epigenomic heterogeneity in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, vol. 126, pp. 445–453. doi: 10.1182/blood-2015-02-585042.

58. Gruber M., Wu C.J. (2014) Evolving Understanding of the CLL Genome. *Semin. Hematol.*, vol. 51, pp. 177–187. doi: 10.1053/j.seminhematol.2014.05.004.
59. Galton D.A.G., Israels L.G., Nabarro J.D.N., Till M. (1955) Clinical Trials of p-(Di-2-chloroethylamine)-phenylbutyric Acid (CB 1348) in Malignant Lymphoma. *Br. Med. J.*, vol. 2, pp. 1172.
60. Rai K.R., Peterson B.L., Appelbaum F.R. (2000) Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia. *N. Engl. J. Med.*, vol. 343, pp. 1750–1757.
61. Byrd J.C., Murphy T., Howard R.S. (2001) Rituximab using a thrice weekly dosing schedule in B-cell chronic lymphocytic leukemia and small lymphocytic lymphoma demonstrates clinical activity and acceptable toxicity. *J. Clin. Oncol.*, vol. 19, pp. 2153–2164.
62. Warner J.L., Arnason J.E. (2012) Alemtuzumab use in relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia: A history and discussion of future rational use. *Ther. Adv. Hematol.*, vol. 3, pp. 375–389. doi.org/10.1177/2040620712458949
63. Burger J.A., Barr P.M., Robak T. (2020) Long-term efficacy and safety of first-line ibrutinib treatment for patients with CLL/SLL: 5 years of follow-up from the phase 3 RESONATE-2 study. *Leukemia*, vol. 34, pp. 787–798.
64. Woyach J.A., Ruppert A.S., Heerema N.A. (2018) Ibrutinib regimens versus chemoimmunotherapy in older patients with untreated CLL. *N. Engl. J. Med.*, vol. 379, pp. 2517–2528. doi: 10.1056/NEJMoa1812836
65. Awan F.T., Schuh A., Brown J.R. (2019) Acalabrutinib monotherapy in patients with chronic lymphocytic leukemia who are intolerant to ibrutinib. *Blood Adv.*, vol. 3, pp. 1553–1562.
66. Sharman J.P., Coutre S.E., Furman R.R. (2019) Final results of a randomized, phase III study of rituximab with or without idelalisib followed by open-label idelalisib in patients with relapsed chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 37, pp. 1391–1402.
67. Fischer K., Al-Sawaf O., Bahlo J. (2019) Venetoclax and obinutuzumab in patients with CLL and coexisting conditions. *N. Engl. J. Med.*, vol. 380, pp. 2225–2236.
68. Seymour J.F., Kipps T.J., Eichhorst B. (2018) Venetoclax-rituximab in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. *N. Engl. J. Med.*, vol. 378, pp. 1107–1120. doi: 10.1056/NEJMoa1713976.
69. Ferrajoli A., Lee B.-N., Schlette E.J. (2008) Lenalidomide induces complete and partial remissions in patients with relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood, J. Am. Soc. Hematol.*, vol. 111, pp. 5291–5297.
70. Fink A.M., Bahlo J., Robrecht S. (2017) Lenalidomide maintenance after first-line therapy for high-risk chronic lymphocytic leukaemia (CLLM1): final results from a randomised, double-blind, phase 3 study. *Lancet Haematol.*, vol. 4, pp. 475–486.
71. Wu J., Bolen C., Seymour J.F. (2019) Impact of major genomic alterations on outcome of relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia patients receiving venetoclax plus rituximab in the phase 3 Murano Study. *Hematol. Oncol.*, vol. 37, pp. 106–108.
72. Groth C., Fortini M.E. (2012) Therapeutic approaches to modulating Notch signaling: current challenges and future prospects. In *Proceedings of the Seminars in cell & developmental biology. Elsevier*, vol. 23, pp. 465–472.
73. Bonnal S., Vigevari L., Válcárcel J. (2012) The spliceosome as a target of novel antitumour drugs. *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 11, pp. 847–859.
74. Lapalombella R., Sun Q., Williams K. (2012) Selective inhibitors of nuclear export show that CRM1/XPO1 is a target in chronic lymphocytic leukemia. *Blood, J. Am. Soc. Hematol.*, vol. 120, pp. 4621–4634.
75. Ruden M., Puri N. (2013) Novel anticancer therapeutics targeting telomerase. *Cancer Treat. Rev.*, vol. 39, pp. 444–456.

Подана/Submitted: 31.05.2021

Принята/Accepted: 03.06.2021

Контакты/Contacts: masha@kashirova.spb.ru