

ОБЗОРЫ

<https://doi.org/10.21320/2500-2139-2025-18-1-21-37>

Хронический лимфоцитарный лейкоз: геномный ландшафт и сигнальные клеточные пути

М.А. Михалева¹, **Е.О. Куневич**¹,
А.Ю. Кувшинов¹, **С.В. Волошин**^{1,2,3}

¹ ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России», ул. 2-я Советская, д. 16, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 191024

² ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, ул. Академика Лебедева, д. 6, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 194044

³ ГБУЗ «Ленинградская областная клиническая больница», пр-т Луначарского, д. 45, корп. 2А, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 194291

РЕФЕРАТ

Развитие и совершенствование геномных методов диагностики в последние десятилетия позволяют глубже раскрыть разнообразие патогенеза хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ): от концепций клеточного происхождения и реактивного микроокружения опухоли до молекулярного ландшафта и генетических маркеров с прогностическим значением. В настоящем обзоре обсуждаются клинически значимые молекулярно-генетические aberrации, которые необходимо учитывать при стратификации пациентов с ХЛЛ на группы риска и выборе персонализированного лечения. Представлен современный взгляд на молекулярный ландшафт ХЛЛ, включая информацию о сигнальных клеточных механизмах и биомаркерах, имеющих клиническое значение. Рассматриваются вопросы, связанные с гетерогенностью клинического течения ХЛЛ как отражением биологических событий на мультиомном уровне: геноме, эпигеноме, транскриптоме, протеоме и метаболоме. Кроме того, в обзоре представлена информация о новейших технологиях и подчеркивается актуальность применения мультиомного профилирования с целью создать в перспективе новые подклассификации ХЛЛ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хронический лимфоцитарный лейкоз, сигнальный путь, молекулярная генетика, эпигенетика.

REVIEWS

<https://doi.org/10.21320/2500-2139-2025-18-1-21-37>

Chronic Lymphocytic Leukemia: A Genomic Landscape and Cellular Signal Pathways

M.A. Mikhaleva¹, **E.O. Kunevich**¹,
A.Yu. Kuvshinov¹, **S.V. Voloshin**^{1,2,3}

¹ Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, 16 2-ya Sovetskaya ul., Saint Petersburg, Russian Federation, 191024

² SM Kirov Military Medical Academy, 6 Akademika Lebedeva ul., Saint Petersburg, Russian Federation, 194044

³ Leningrad Regional Clinical Hospital, 45 korp. 2A Lunacharskogo pr-t, Saint Petersburg, Russian Federation, 194291

ABSTRACT

Genomic diagnostic methods, developed and improved in recent decades, allow a deeper understanding of pathogenic diversity of chronic lymphocytic leukemia (CLL) across all aspects from the concepts of tumor cellular origin and its reactive microenvironment to molecular landscape and genetic prognostic markers. This review discusses clinically significant molecular genetic abnormalities to be considered for risk stratification of CLL patients and personalized treatment decision making. It provides a current view of molecular landscape of CLL including information on cell signaling mechanisms and clinically significant biomarkers. This review also focuses on heterogeneity of CLL clinical course reflecting biological events at the multi-omics level: genome, epigenome, transcriptome, proteome, and metabolome. It also covers the latest technologies and emphasizes the relevance of multi-omic profiling for giving rise to new CLL subclassifications.

KEYWORDS: chronic lymphocytic leukemia, signaling pathway, molecular genetics, epigenetics.

Получено: 11 сентября 2024 г.

Принято в печать: 15 декабря 2024 г.

Received: September 11, 2024

Accepted: December 15, 2024

Для переписки: Евгений Олегович Куневич, ул. 2-я Советская, д. 16, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 191024;

тел.: +7(908)725-94-62; e-mail: kunevich17@gmail.com; kunevich@niigt.ru

Для цитирования: Михалева М.А., Куневич Е.О., Кувшинов А.Ю., Волошин С.В. Хронический лимфоцитарный лейкоз: геномный ландшафт и сигнальные клеточные пути. Клиническая онкогематология. 2025;18(1):21–37. doi: 10.21320/2500-2139-2025-18-1-21-37.

For correspondence: Evgenii Olegovich Kunevich, 16 2-ya Sovetskaya ul., Saint Petersburg, Russian Federation, 191024;

Tel.: +7(908)725-94-62; e-mail: kunevich17@gmail.com; kunevich@niigt.ru

For citation: Mikhaleva M.A., Kunevich E.O., Kuvshinov A.Yu., Voloshin S.V. Chronic Lymphocytic Leukemia: A Genomic Landscape and Cellular Signal Pathways. Clinical oncohematology. 2025;18(1):21–37. (In Russ). doi: 10.21320/2500-2139-2025-18-1-21-37.

ВВЕДЕНИЕ

Современное определение хронического лимфолейкоза (ХЛЛ) относит его к группе лимфопролиферативных новообразований (ЛПН) из малых В-лимфоцитов в количестве не менее 5×10^9 /л в крови и экспрессирующих CD5, CD19, CD20 и CD23 [1]. Клинические проявления и течение ХЛЛ крайне гетерогенны: от бессимптомного, не требующего лечения до агрессивного, демонстрирующего резистентность к терапии, с фульминантным течением и значимым ухудшением показателей общей выживаемости [2].

Гетерогенность клинического течения ХЛЛ является отражением молекулярно-генетических изменений, лежащих в основе его патогенеза. Современные подходы к пониманию и диагностике ХЛЛ требуют использования передовых методов исследования, которые позволяют более достоверно определять генетические и молекулярные особенности заболевания.

Методы исследования генома за последние десятилетия претерпели существенные изменения: от анализа хромосомных aberrаций до полногеномного секвенирования, что расширило наши знания о клеточном происхождении ХЛЛ, его микроокружении, молекулярных изменениях.

КЛЕТОЧНОЕ ПРОИСХОЖДЕНИЕ

Идентификация «нулевой» клетки, в которой возникла злокачественная трансформация, поможет получить данные о клональной эволюции. Результатами десятилетних исследований стало понимание этапов дифференцировки и биологии В-лимфоцитов. Это позволило выделить несколько типов клеток в качестве потенциальных клеток-предшественниц ХЛЛ (рис. 1) [3–10].

Считалось, что ХЛЛ происходит из предшественников В-лимфоцитов. Однако наличие клональных

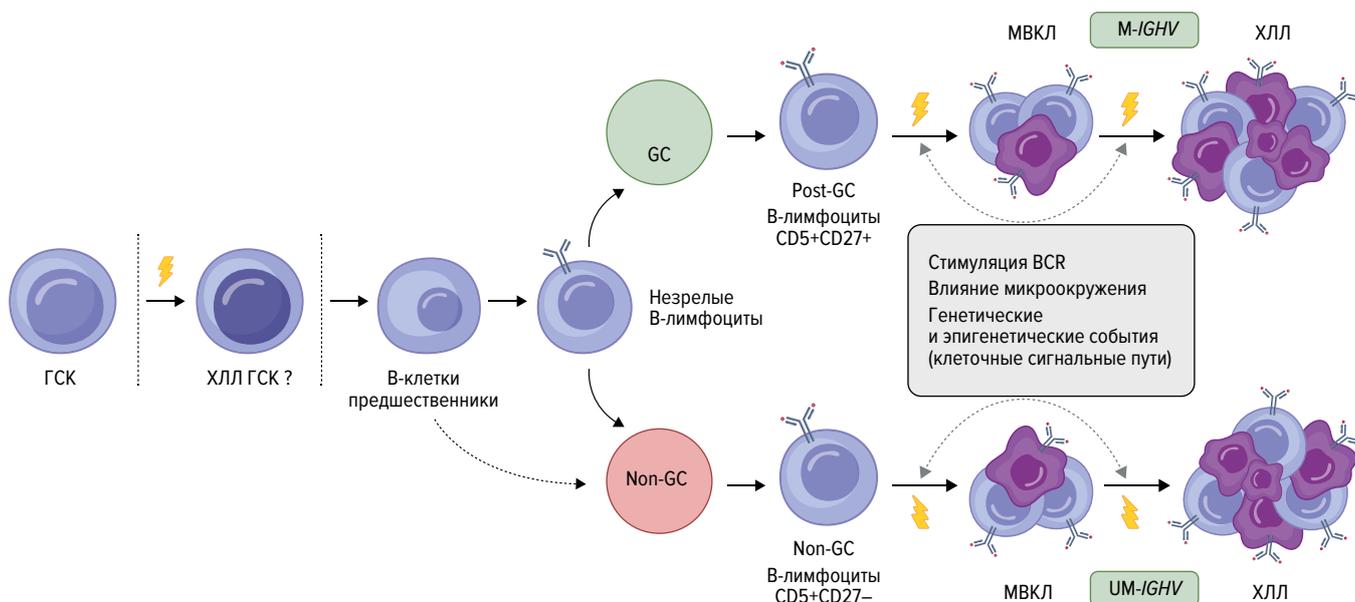


Рис. 1. Клеточное происхождение ХЛЛ (создано с помощью BioRender.com)

BCR — В-клеточный рецептор; GC — герминативный центр; IGHV — вариабельные области тяжелых цепей иммуноглобулинов; M-IGHV — мутации в гене IGHV; Non-GC — негерминативный центр; Post-GC — постгерминативный центр; UM-IGHV — отсутствие мутаций в гене IGHV; ГСК — гемопоэтическая стволовая клетка; MBKL — моноклональный В-клеточный лимфоцитоз; ХЛЛ — хронический лимфолейкоз.

Fig. 1. Cellular origin of CLL (created with BioRender.com)

BCR — B-cell receptor; GC — germinative center; IGHV — immunoglobulin heavy-chain variable region; M-IGHV — mutated IGHV; Non-GC — non-germinative center; Post-GC — post-germinative center; UM-IGHV — unmutated IGHV; ГСК — hematopoietic stem cell; MBKL — monoclonal B-cell lymphocytosis; ХЛЛ — chronic lymphocytic leukemia.

перестроек генов иммуноглобулина (Ig) наряду с экспрессией специфических В-клеточных маркеров (CD19, CD20, CD23, CD200 и CD5) подтверждает, что ХЛЛ развивается из зрелых В-лимфоцитов [3–6]. Выявление экспрессии CD5 позволило выдвинуть гипотезу о происхождении ХЛЛ из В-лимфоцитов IgM-секретирующей линии [7].

Впоследствии пациенты с ХЛЛ были разделены на две группы в зависимости от наличия или отсутствия мутаций в генах, кодирующих вариабельные области тяжелых цепей иммуноглобулинов (immunoglobulin heavy-chain variable region, IGHV): *M-IGHV* (mutated *IGHV*) и *UM-IGHV* (unmutated *IGHV*). Таким образом, вариант ХЛЛ с мутациями в гене *IGHV* происходит из В-лимфоцитов, прошедших через герминативный центр (germinative center, GC) лимфатического узла. Однако возникновение *UM-IGHV*-варианта ХЛЛ ранее доступными методами не было определено. Предполагалось, что либо это В-лимфоциты, не прошедшие через GC, либо В-лимфоциты, дифференцировка которых от GC не зависит [8].

В дальнейшем проведенное сравнительное профилирование экспрессии генов опухолевых и нетрансформированных В-лимфоцитов показало, что оба варианта ХЛЛ (*M-IGHV* и *UM-IGHV*) идентичны В-лимфоцитам, экспрессирующим в т. ч. CD27 [8]. В 2012 г. анализ транскриптома неопухолевых В-лимфоцитов продемонстрировал, что *M-IGHV* ХЛЛ развивается из В-лимфоцитов CD27+CD5+, прошедших через GC, тогда как *UM-IGHV*-вариант ХЛЛ происходит из наивных (не прошедших через GC) В-лимфоцитов CD27+CD5– [9]. Последующие работы по сравнению эпигенетических профилей ХЛЛ подтвердили развитие подтипов заболевания в зависимости от прохождения В-лимфоцитами этапа дифференцировки в GC [10].

Предполагается, что исходной клеткой для развития ХЛЛ может быть гемопоэтическая стволовая клетка (ГСК), в которой также происходят генетические и эпигенетические изменения. Данная гипотеза базируется на наблюдениях за пациентами после трансплантации аллогенных ГСК, у которых по прошествии времени диагностирован ХЛЛ, предположительно в результате передачи предопухолевых В-лимфоцитов от донора реципиенту. Кроме того, в экспериментах по трансплантации культуры ГСК продемонстрировано, что ГСК от пациентов с ХЛЛ, но не от здоровых доноров успешно приживаются в иммунодефицитных мышцах с последующим развитием В-клеточных ЛПН *in vivo*. У некоторых пациентов с ХЛЛ в очищенной культуре ГСК были выявлены специфичные мутации, например, в генах *NOTCH1* и *SF3B1*. Однако данная гипотеза остается спорной, принимая во внимание не столько технические трудности получения очищенной культуры ГСК, сколько постоянно появляющиеся доказательства того, что здоровые пожилые люди могут иметь клональный тип кроветворения с риском развития онкогематологических заболеваний в целом и ХЛЛ в частности [1, 7]. Поиск клетки-предшественницы ХЛЛ остается не только открытой областью научных исследований, но и предметом постоянно продолжающихся дебатов.

РЕАКТИВНОЕ МИКРООКРУЖЕНИЕ ОПУХОЛИ

Важную роль в патогенезе ХЛЛ играет коммуникация трансформированных В-клеток с реактивным микроокружением, клеточные компоненты которого взаимодействуют с опухолевыми В-лимфоцитами посредством многообразной и переплетенной сети молекул адгезии, хемокиновых рецепторов, членов семейства факторов некроза опухоли (TNF) и растворимых факторов, а также сигнальных путей, участвующих в хоуминге (направленной миграции) клеток, их выживании и пролиферации.

Основными компонентами реактивного микроокружения опухоли являются «клетки-няньки», мезенхимальные стромальные, эндотелиальные, дендритные, Т- и NK-клетки [11–13].

«Клетки-няньки» моноцитарного происхождения активируют сигнальный путь В-клеточного рецептора (BCR), индуцируют хемотаксис и увеличивают жизнеспособность клеток ХЛЛ посредством секреции хемокинов CXCL12/13, а также экспрессии В-клеточного активирующего фактора (B-cell activating factor, BAFF) и индуцирующего пролиферацию лиганда (a proliferation inducing ligand, APRIL) [11–13].

Мезенхимальные стромальные клетки костного мозга являются «питательным» слоем для клеток-предшественниц и поддерживают архитектуру костного мозга [13]. Стромальные клетки секретируют хемокины, которые обеспечивают выживание опухолевых В-лимфоцитов и способствуют развитию лекарственной устойчивости (защите от медикаментозного апоптоза посредством сохранения контакта с мезенхимальными клетками) [11–13].

Эндотелиальные и дендритные клетки необходимы для удержания опухолевых В-лимфоцитов в тканях [13]. Адгезия к микрососудистым эндотелиальным клеткам способствует выживанию, активации и развитию лекарственной устойчивости. Клетки ХЛЛ связываются с интегринами $\beta 1$ и $\beta 2$, а также с BAFF и APRIL на поверхности микрососудистых эндотелиальных клеток [12, 13]. Связь с дендритными клетками защищает опухолевые В-лимфоциты от спонтанного апоптоза посредством прямого клеточного контакта, который зависит от лигирования CD44 на опухолевых В-лимфоцитах и последующей регуляции *MCL1* [11].

Т- и NK-клетки посредством взаимодействия между В-лимфоцитами CD40+ и лигандом CD40 (CD40L) на активированных Т-лимфоцитах CD4+ имеют решающее значение в контексте презентации антигена и индукции ответа В-лимфоцитами. Активация опухолевых В-клеток путем связывания с CD40L способствует выживанию клеток ХЛЛ. Увеличение количества эффекторных клеток памяти, лимфоцитов CD4+ и CD8+, связано с более поздней стадией заболевания и более высокой экспрессией белка программируемой гибели клеток 1 (programmed cell death protein 1, PD-1). Соответственно, клетки ХЛЛ экспрессируют высокие уровни лиганда PD-1 (PD-L1) [12, 13]. Гиперэкспрессия молекулы лейкоцитарного антигена G человека (HLA-G) в плазме пациентов с ХЛЛ индуцирует NK-клеточный апоптоз и ухудшает опосредованную цитоток-

сичность. NK-клетки также продуцируют растворимый BAFF, препятствующий опосредованному NK-клетками лизису клеток ХЛЛ после введения ритуксимаба. Т- и NK-клеточные компартменты имеют общую сниженную эффекторную активность, что может объяснять уклонение опухолевых В-лимфоцитов от иммуноопосредованного разрушения [12].

ГЕНОМНЫЙ ЛАНДШАФТ

Хромосомные нарушения

Изначально цитогенетические исследования ХЛЛ были ограничены низкой митотической активностью клеток в культуре [14]. Использование интерфазного анализа с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) стало «золотым стандартом» в диагностике ХЛЛ, результаты которого применяются при стратификации пациентов на группы риска. Согласно проведенным исследованиям, более чем у 80 % пациентов с ХЛЛ выявляются хромосомные aberrации [15].

Делеция длинного плеча хромосомы 13 (del(13q)) представляет собой наиболее часто наблюдаемую генетическую aberrацию у пациентов с ХЛЛ, которая выявляется в 55 % случаев [15]. Биаллельная del(13q) отмечается у 30 % больных [16]. Как изолированная aberrация del(13q) обнаруживается у 35–40 % пациентов и ассоциируется с благоприятным прогнозом, более стабильным клиническим течением заболевания, пролонгированным периодом до начала первой линии терапии [15]. Патофизиологическая роль микроРНК (*MIR15A* и *MIR16*), находящихся в критической области del(13q14), подтверждена *in vivo*. У мышей с делецией, затрагивающей локус miR-15a/16-1, развивается ЛПН, подобное ХЛЛ [17, 18], что приводит к негативной регуляции экспрессии *BCL2* [19]. Данные исследования позволяют предположить, что del(13q) может быть одним из драйверных событий в патогенезе ХЛЛ.

Трисомия хромосомы 12 (+12) выявляется у 10–20 % пациентов [15] и связана с промежуточным прогнозом [1]. Трисомия 12 может возникать одновременно с другими хромосомными нарушениями, например с делециями (14q, 13q, 11q, 17p) или транслокациями с вовлечением гена *IGHV*. Мутации в гене *NOTCH1* наиболее часто встречаются у пациентов с +12, особенно при UM-*IGHV*-варианте ХЛЛ [20, 21]. Трисомия 12 в основном рассматривается как драйверное событие, оказывающее влияние на ранних стадиях эволюции опухолевого клона при ХЛЛ и способствующее появлению вторичных хромосомных aberrаций или мутаций в генах *NOTCH1*, *TP53* и *FBXW7*. Кроме того, более высокая частота вариантов *IGHV1* и *IGHV4–39* при UM-*IGHV* обнаружена у пациентов с +12 [16].

Делеция длинного плеча хромосомы 11 (del(11q)) определяется в 6–25 % случаев ХЛЛ в зависимости от стадии заболевания [15, 16, 22, 23]. Зачастую del(11q) захватывает полосу 11q22.3-q23.1, несущую ген *ATM* [1]. Однако соматические мутации в гене *ATM* выявляются у 4–15 % пациентов, а наличие del(11q), содержащей ген *ATM*, — у 11–17 % первичных больных ХЛЛ [24]. Указанные данные свидетельствуют о вовлечении и других генов в патогенез за-

болевания. Например, мутация в гене *BIRC3* (11q22.2) на этапе постановки диагноза ХЛЛ выявляется в 4 % случаев, а у пациентов с рефрактерностью к флударабин-содержащим программам противоопухолевой терапии — в 24 % [16].

Делеция короткого плеча хромосомы 17 (del(17p)) обнаруживается в 3–8 % случаев [15, 16] и часто включает локус 17p13, несущий ген *TP53* [25]. Мутация в гене *TP53*, по разным данным, встречается у 4–37 % пациентов. В 80 % случаев наличие del(17p) связано с мутацией в гене *TP53* (*TP53mut*) [26, 27]. В ряде исследований сообщается о том, что сочетание del(17p) и *TP53mut* служит независимым прогностическим маркером сокращения времени до начала первой линии терапии ХЛЛ. С другой стороны, ни отсутствие del(17p) при наличии *TP53mut*, ни выявление del(17p) при отсутствии мутации в гене *TP53* не оказывают влияния на время до начала первой линии лечения ХЛЛ [20, 28, 29]. Можно сделать вывод о том, что биаллельная инактивация гена *TP53* более значима, чем моноаллельная. Наличие del(17p) ассоциируется с атипичным иммунофенотипом, более интенсивной экспрессией CD20, FMC7, CD79b и поверхностных иммуноглобулинов. Кроме того, у пациентов с del(17p) выявлен более высокий уровень экспрессии CD38 и ZAP70, чаще обнаруживается UM-*IGHV*-вариант ХЛЛ [16]. В ряде исследований демонстрируется наличие значимой корреляции между del(17p) и делециями хромосом 4, 18, 20 (del(4p), del(18p), del(20p) соответственно) или с aberrациями (del(8p)) либо трисомией хромосомы 8 (+8) [16, 22]. Таким образом, del(17p)/*TP53mut* связана с более высокой геномной комплексностью, что способствует формированию мутантного фенотипа, характеризующегося быстрым прогрессированием заболевания, резистентностью к противоопухолевым программам и крайне неблагоприятным прогнозом.

Следует отметить, что обнаружение нарушений с помощью метода FISH ограничено количеством используемых зондов в стандартной панели и часто не позволяет оценить истинную комплексность и разнообразие хромосомных aberrаций при ХЛЛ. Применение новых В-клеточных митогенов (например, CpG-олигонуклеотида) в стандартном кариотипировании улучшает пролиферацию клеток в культуре и дает возможность увеличить частоту обнаружения хромосомных aberrаций [16]. При использовании FISH продемонстрировано, что у 25–37 % пациентов с ХЛЛ выявлялись хромосомные aberrации, которые невозможно обнаружить с помощью стандартной панели зондов [16, 30]. Эти дополнительные нарушения не коррелируют с другими неблагоприятными прогностическими факторами: UM-*IGHV*, повышенным уровнем экспрессии ZAP-70 ($\geq 20\%$) или CD38 ($\geq 20\%$). Однако они имеют высокий коэффициент связи с такими клиническими параметрами, как поздние стадии ХЛЛ, наличие показаний к началу противоопухолевой терапии, уменьшение времени до начала лечения в первой линии и ухудшение показателей общей выживаемости [30].

Другие хромосомные aberrации (специфические транслокации) в отличие от иных вариантов ЛПН для ХЛЛ нехарактерны. По литературным данным, у 32–42 % пациентов с ХЛЛ выявляются раз-

личные транслокации, прогностическая значимость которых по-прежнему спорная [16].

Комплексный кариотип (КК) выявляется у 14–34 % первичных пациентов с ХЛЛ и в 25–35 % случаев при рецидивах и рефрактерном течении заболевания, определяется как наличие 3 хромосомных нарушений и более в 1 опухолевом клоне (КК 3+) [31, 32]. Доказана связь наличия КК с UM-IGHV-вариантом ХЛЛ и повышенной экспрессией CD38 [16], а также прогностическая значимость КК при выявлении del(17p)/del(11q). Тем не менее S.M Jaglowski и соавт. установили, что КК — это независимый предиктор ухудшения показателей общей и выживаемости без прогрессирования даже при определении прогностически неблагоприятных генетических aberrаций по результатам FISH-исследования [33].

Данные многоцентрового ретроспективного исследования P. Baliakas и соавт., проведенного на большой когорте больных ХЛЛ ($n = 5290$), свидетельствуют о том, что КК 3+ не должно по умолчанию считаться прогностически неблагоприятным параметром. Авторы выделили группу высокого КК, определяемого как наличие не менее 5 хромосомных aberrаций. Именно эта группа оказалась прогностически неблагоприятной независимо от клинической стадии заболевания, мутационного статуса генов *IGHV* и *TP53*. Такие пациенты недостаточно отвечают на проводимое противоопухолевое лечение, в т. ч. таргетными препаратами [34, 35]. Низкий КК (3 хромосомные aberrации) и промежуточный КК (4 хромосомные aberrации) имеют клиническое значение только в ассоциации с *TP53mut*. Примечательно, что КК с трисомией 12 и/или 18 представляет собой уникальную подгруппу с благоприятным прогнозом. Необходимо отметить, что высокий КК еще не включен в параметры, учитываемые при стратификации пациентов с ХЛЛ на группы риска, т. к. требуется проспективная клиническая валидация [34].

Мутационный статус генов *IGHV*

Статус соматической гипермутации гена *IGHV* является критическим биомаркером для оценки прогноза у пациентов с ХЛЛ [36–39]. Согласно рекомендациям Европейской исследовательской инициативы по изучению ХЛЛ (European Research Initiative on CLL, ERIC), пороговое значение 98 % гомологии по герминальному гену принято для разделения пациентов с вариантами ХЛЛ M-*IGHV* (< 98 %) и UM-*IGHV* (≥ 98 %) [38, 39]. По данным европейских и азиатских исследователей, группу благоприятного прогноза составляют 60–70 % пациентов с M-*IGHV*-вариантом ХЛЛ, группу неблагоприятного прогноза — 30–40 % пациентов с UM-*IGHV*-вариантом заболевания [7, 8, 40, 41]. Исследование мутационного статуса генов *IGHV* в когорте российских пациентов демонстрирует обратное соотношение между вариантами ХЛЛ M-*IGHV* и UM-*IGHV* [42, 43]. Это также подтверждается собственными неопубликованными данными. В анализе, выполненном в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России на крупной когорте пациентов ($n = 5165$), частота вариантов ХЛЛ M-*IGHV* и UM-*IGHV* составила 62,9 и 37,1 % соответственно. Результаты многих исследований подтверждают, что мутационный статус генов *IGHV*

при ХЛЛ является независимым фактором прогноза и может служить маркером ответа на противоопухолевое лечение, включая как иммунохимиотерапию, так и новые таргетные препараты [39, 44–47].

Мутации в генах

Секвенирование нового поколения (next-generation sequencing, NGS) представляет собой усовершенствованный метод Сэнгера, основанный на электрофорезе и открытый более 40 лет назад [48]. Технологии NGS позволили преодолеть два основных недостатка метода Сэнгера: низкую пропускную способность и относительно высокую себестоимость. Принцип NGS основан на массовом параллельном секвенировании, что дает возможность секвенировать одновременно тысячи молекул ДНК, увеличивая скорость исследования и объемы полученных данных, при снижении себестоимости анализа. NGS стало генетическим тестом, с помощью которого в зависимости от поставленной задачи можно секвенировать весь геном или экзом, а также использовать таргетные панели генов.

Первые крупные исследования с применением полноэкзомного (whole-exome sequencing, WES) и полногеномного секвенирования (whole-genome sequencing, WGS) позволили создать подробную молекулярную карту ХЛЛ [49–57].

При исследовании образцов ДНК 105 пациентов с ХЛЛ, выполненном испанской группой ученых (V. Quesada et al.), выявлено 1246 соматических мутаций, потенциально влияющих на функцию генов. Полученные данные составили основу первого всеобъемлющего каталога соматических мутаций при ХЛЛ. Кроме того, было определено 78 генов, способствующих эволюции ХЛЛ [50].

L. Wang и соавт. выполнили WES и WGS у 91 пациента, которые позволили идентифицировать рекуррентные мутации в генах с установленным прогностическим значением (*TP53*, *ATM*, *NOTCH1*, *MYD88*) и с неустановленной ролью (*SF3B1*, *ZMYM3*, *MAPK1*, *FBXW7*, *DDX3X*). Мутации в гене *SF3B1* встречались у 15 % пациентов преимущественно одновременно с del(11q), что связано с неблагоприятным прогнозом [51].

Типичный кодирующий геном ХЛЛ содержит менее 20 клональных нарушений, включая преимущественно несинонимичные мутации (миссенс, нонсенс, сайта-сплайсинга, инсерции и делеции) и, в меньшей степени, aberrации числа копий (copy number aberration, CNA). G. Fabbri и соавт. проанализировали результаты WGS и данные CNA у 5 первичных пациентов с ХЛЛ до начала лечения. Авторы впервые описали мутации в генах *TGM7* и *PLEKHG5*. Кроме того, в этой работе исследователи выявили связь мутаций в гене *NOTCH1* с агрессивным течением заболевания. Таким образом, было продемонстрировано, что мутация в гене *NOTCH1* является независимым предиктором худшей выживаемости [52].

X. Puente и соавт. в 2011 г. выявили, что наличие соматических мутаций в генах *NOTCH1* и *XPO1* связано с UM-*IGHV*-вариантом ХЛЛ, в то время как в генах *MYD88* и *KLHL6* — с M-*IGHV*-вариантом заболевания. Паттерны соматических мутаций убедительно указывают на то, что рекуррентные мутации в данных генах

являются онкогенными и способствуют клинической эволюции ХЛЛ [49].

В последующем эта же исследовательская группа провела оценку геномного ландшафта ХЛЛ ($n = 452$) и у лиц с моноклональным В-клеточным лимфоцитозом ($n = 54$). Были открыты новые драйверные мутации в генах *ZNF292*, *ZMYM3*, *ARID1A* и *PTPN11*. Выявлено, что мутации в энхансере, расположенном в хромосоме 9p13, приводят к снижению экспрессии специфичного для В-клеток транскрипционного фактора *PAX5* [53].

Исследования D. Landau и соавт., опубликованные в 2013 [54] и 2015 гг. [56], посвящены изучению клональной эволюции ХЛЛ в больших когортах пациентов ($n = 149$ и $n = 538$ соответственно). Наличие субклональных драйверных мутаций, например, в генах *SF3B1* и *TP53* служит независимым фактором риска быстрого прогрессирования ХЛЛ [54]. Определено 44 гена, мутации в которых оказались драйверными. К ним относятся и ранее неизвестные мутации в генах *RPS15* и *IKZF3* [56].

Для поиска механизмов, ведущих к рецидиву после терапии FCR (флударабин, циклофосфамид, ритуксимаб), V. Ljungstrom и соавт. выполнили WES последовательных биообразцов от 41 больного ХЛЛ с рецидивами в среднем через 2 года после противоопухолевого лечения. В дополнение к мутациям с известным неблагоприятным прогностическим значением (*TP53*, *NOTCH1*, *ATM*, *SF3B1*, *NFKBIE*, *BIRC3*) большая часть пациентов (19,5 %) имела мутации в гене *RPS15*. Скрининг 1119 пациентов на мутации в гене *RPS15* подтвердил его роль в более агрессивном течении ХЛЛ. У $1/3$ больных выявлены одновременные мутации в генах *RPS15* и *TP53* [57].

В крупных исследованиях последних 5 лет, проводимых на больших когортах пациентов ($n = 1148$), идентифицировано 202 потенциальных гена-драйвера, из которых 109 ранее не описаны. Например, наличие мутации в гене *ZFP36L1*, который действует как супрессор опухоли, отрицательно регулирует активность гена *NOTCH1*. У подавляющего большинства пациентов с ХЛЛ (> 96 %) выявлена как минимум 1 мутация [58].

L. Mansouri и соавт. в исследовании ERIC на биообразцах 4580 пациентов с ХЛЛ было оценено влияние рекуррентных мутаций в 9 генах (*BIRC3*, *EGR2*, *MYD88*, *NFKBIE*, *NOTCH1*, *POT1*, *SF3B1*, *TP53*, *XPO1*) в отношении мутационного статуса гена *IGHV*. При обоих вариантах ХЛЛ (UM-*IGHV*, M-*IGHV*) время до начала первой линии терапии было меньше за счет наличия мутаций в исследуемых генах (кроме *MYD88*). Мутации в генах *SF3B1* и *XPO1* были независимыми прогностическими предикторами как при UM-*IGHV*, так и M-*IGHV*-варианте ХЛЛ. В то же время мутации в генах *TP53*, *BIRC3*, *EGR2* имели прогностическое значение при UM-*IGHV* ХЛЛ, а в генах *NOTCH1* и *NFKBIE* — только при M-*IGHV*-варианте [41].

Генетические aberrации, выявляемые с частотой более 10 %, встречаются лишь в ограниченном количестве генов (например, *ATM*, *NOTCH1*, *SF3B1*, *TP53*), тогда как преобладающая часть мутаций определяется в более чем 100 генах с очень низким процентным соотношением (1–5 % случаев), что подтверждает генетическую гетерогенность ХЛЛ [59].

Важность функциональной категоризации драйверных мутаций по клеточным путям подтверждается в последующих работах. Количество активированных сигнальных путей имеет большее значение при прогностической оценке выживаемости, чем количество драйверных мутаций [60].

Сигнальные клеточные пути ХЛЛ

Согласно В. Vogelstein и соавт., комплексность геномов при опухолевых заболеваниях не всегда коррелирует с клиническим течением и ответом на проводимое лечение [61]. Авторы объясняют генетическую гетерогенность двумя концепциями.

Согласно первой концепции, более 99,9 % генетических нарушений (включая точечные мутации, повреждение числа копий, транслокации и эпигенетические изменения) — это «пассажирские» мутации (passenger mutation), имеющие нейтральное значение. Перечисленные изменения являются маркерами экспансии опухолевого клона на временном промежутке. Появление подобных мутаций в нормальных клетках должно приводить к апоптозу. В то же время в злокачественно трансформированных клетках накопление «пассажирских» мутаций способно изменять динамику развития болезни, приводить к появлению патогенетически значимых мутаций, например, в гене *TP53*. Во второй концепции подчеркивается, что преимущество селективного роста опухолевых клеток возможно при возникновении драйверных мутаций в генах, свидетельствуя о наличии основных клеточных сигнальных путей.

Учитывая вышесказанное, драйверные мутации, описанные при ХЛЛ, могут быть классифицированы в ключевые сигнальные клеточные пути (рис. 2) [61, 62]:

- 1) детерминация клеток (cell fate)** — баланс между делением и дифференцировкой клеток, который смещается к делению с развитием и накоплением генетических нарушений. Вследствие этого обеспечивается избирательное преимущество роста. Сигнальные пути, которые функционируют в рамках детерминации клеток, включают в себя Notch, Wnt, Мус, Hedgehog, модификацию хроматина, регуляцию транскрипции (см. рис. 3–5);
- 2) выживание клеток (cell survival)** — селективное преимущество роста обеспечивается развитием мутаций в генах в следующих сигнальных путях: контроль клеточного цикла и повреждения ДНК, Hippo, RTK/RAS, PI3K, JAK/STAT, TGF- β , BCR, врожденный воспалительный ответ (inflammatory) (см. рис. 6–8).

Для оценки генов, участвующих в отобранных 14 сигнальных путях ХЛЛ, мы изучили открытые базы данных из электронных ресурсов. Ключевые гены данных сигнальных путей могут нести драйверные мутации, определять резистентность к терапевтическим стратегиям или служить потенциальными мишенями для новых лекарственных препаратов, а также обладать неизвестным функциональным значением.

В настоящем обзоре проведен анализ следующих открытых баз данных: база геномов ХЛЛ в TCGA Pan Cancer Project, содержащая генетические и клинические данные, доступна на портале cBioPortal for

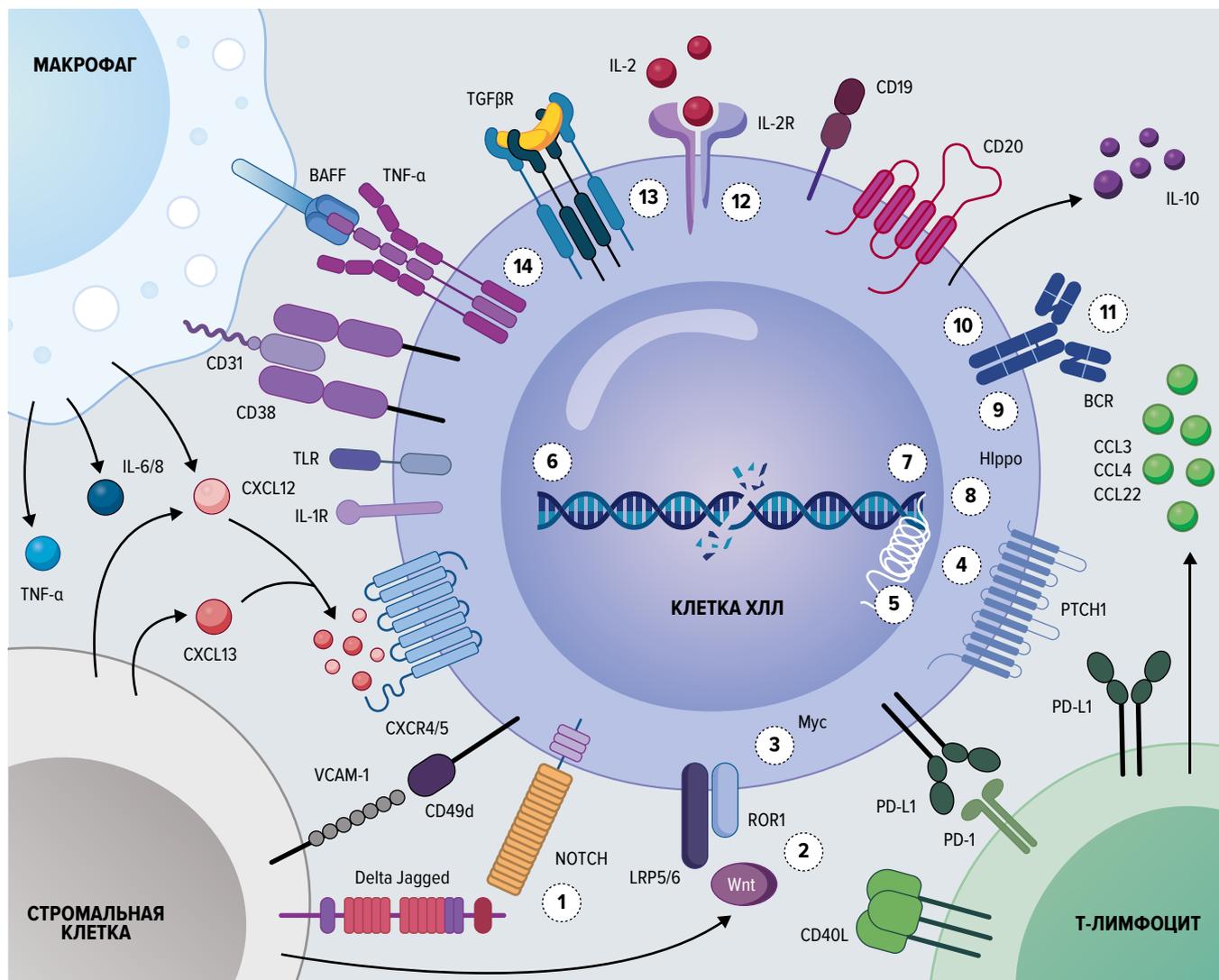


Рис. 2. Основные клеточные пути ХЛЛ и влияние реактивного микроокружения опухоли (создано с помощью BioRender.com)
 1 – Notch; 2 – Wnt; 3 – Myc; 4 – Hedgehog; 5 – модификация хроматина; 6 – контроль клеточного цикла и повреждения ДНК; 7 – регуляция транскрипции; 8 – Hippo; 9 – RTK/RAS; 10 – PI3K; 11 – BCR; 12 – JAK/STAT; 13 – TGF-β; 14 – врожденный воспалительный ответ
 BCR – В-клеточный рецептор; IL – интерлейкин; LPR – рецептор липофорина; PD-1 – программируемая гибель клетки 1; PD-L1 – лиганд PD-1; ROR – рецепторный тирозинкиназоподобный орфанный рецептор; TGFβR – рецептор трансформирующего фактора роста β; TLR – Toll-подобный рецептор; TNF-α – фактор некроза опухоли α; VCAM-1 – молекула адгезии сосудистых клеток 1.

Fig. 2. Key cellular pathways in CLL and the influence of the reactive tumor microenvironment (created with BioRender.com)
 1 – Notch; 2 – Wnt; 3 – Myc; 4 – Hedgehog; 5 – chromatin modification; 6 – cell cycle and DNA damage control; 7 – transcription regulation; 8 – Hippo; 9 – RTK/RAS; 10 – PI3K; 11 – BCR; 12 – JAK/STAT; 13 – TGF-β; 14 – inflammatory response
 BCR – B-cell receptor; IL – interleukin; LPR – lipophorin receptor; PD-1 – programmed cell 1 death; PD-L1 – PD ligand-1; ROR – receptor tyrosine kinase-like orphan receptor; TGFβR – transforming growth factor β receptor; TLR – Toll-like receptor; TNF-α – tumor necrosis factor-alpha; VCAM-1 – vascular cell adhesion molecule-1.

Cancer Genomics (<http://www.cbioportal.org/>) [63]; база данных Национального центра биотехнологической информации (Database resources of the National Center for Biotechnology Information, NCBI) [64]; каталог соматических мутаций при раке (The Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer, COSMIC) [65]; классификаторы COSMIC Cancer Gene Census, Hallmarks of Cancer [66, 67]; онлайн-каталог генов человека и генетических нарушений (An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders; Online Mendelian Inheritance in Man®, OMIM®) [68].

Мы осуществили аннотацию генов 14 выбранных сигнальных путей (рис. 3–8), используя следующий рабочий процесс. Гены были назначены сигнальным путям на основе комбинированного пересмотра и анализа сигнальных путей в доступных источниках научной литературы, а также открытых источниках

по сигнальным путям: Reactome [69], KEGG [70, 71], GeneOntology [72, 73]. После того как ключевой состав сигнальных путей был окончательно доработан, каждый ген был аннотирован как супрессор опухолей (tumor suppressor gene, TSG), онкоген (oncogene, OG), супрессор/онкоген (TSG/OG) или как неизвестный с использованием COSMIC [65–67], OncoKB™ [74] и данных из научной литературы. Клональная эволюция как один из ключевых аспектов патогенеза ХЛЛ объединяет хромосомные нарушения и мутации в генах, что обеспечивает более глубокое понимание клинического течения и развития рецидивов и рефрактерных форм заболевания [75]. Исследования NGS позволили выявить новые генетические мутации, которые связаны с характеристиками опухолевого клона и оказывают влияние на прогноз при ХЛЛ.

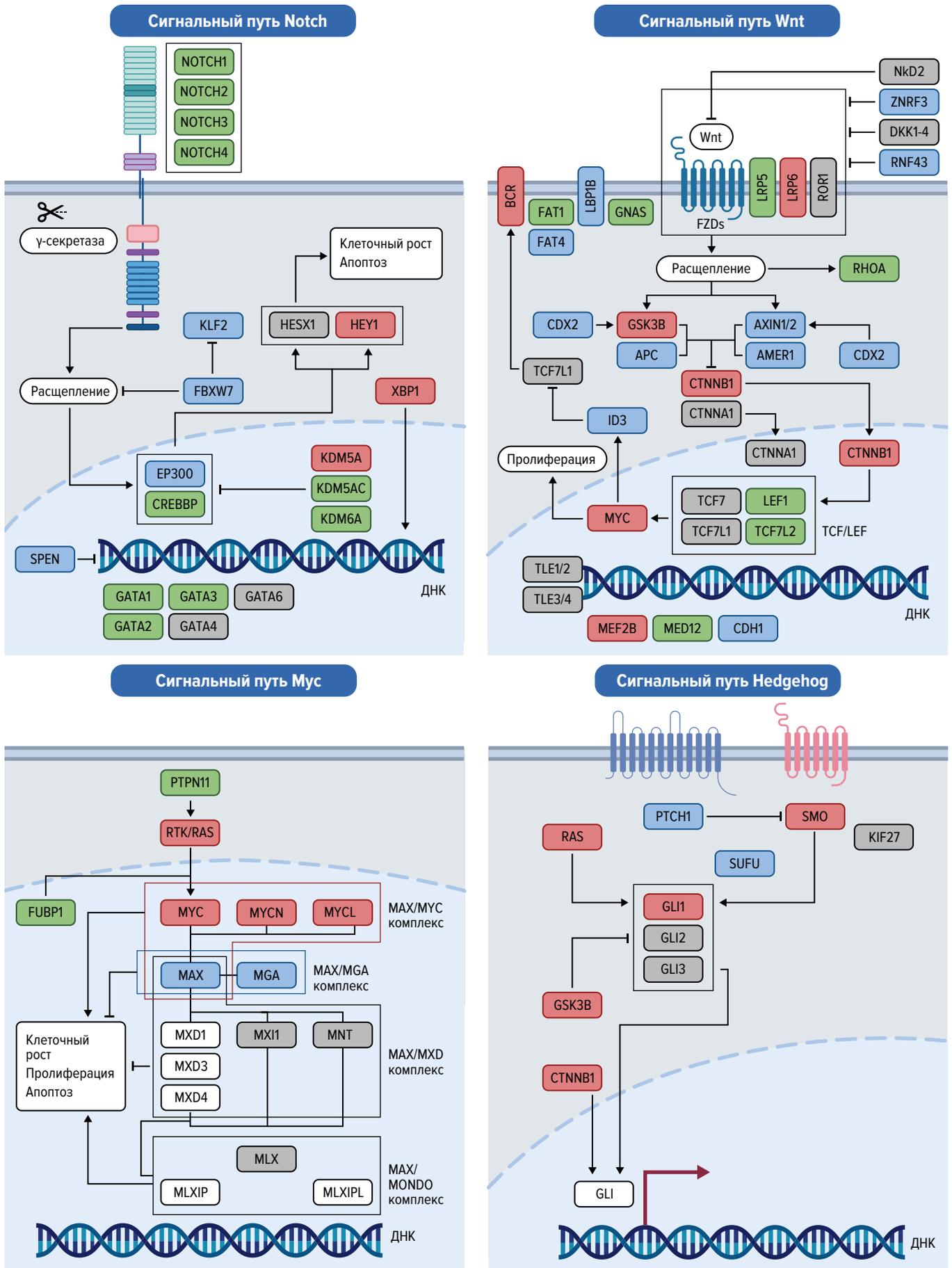


Рис. 3. Сигнальные пути Notch, Wnt, Myc, Hedgehog (описание в тексте) (создано с помощью BioRender.com)
 Функции генов: синий — супрессор опухолей, красный — онкоген, зеленый — супрессор/онкоген, серый — неизвестно. Стрелки (→) — активация, линии с тупым концом (—) — ингибирование.

Fig. 3. Signal pathways Notch, Wnt, Myc, Hedgehog (see text) (created with BioRender.com)
 Gene functions: blue — tumor suppressor gene, red — oncogene, green — tumor suppressor/oncogene, gray — unknown. Arrows (→) designate activation, blunt connectors (—) represent inhibition.

Сигнальный путь Notch [49, 54–56, 76–79] регулирует процессы детерминации клеток, коммуникации между клетками, развития лимфоцитов. Расщепление рецепторов Notch приводит к транскрипции генов-мишеней. Транскрипционные эффекты в клетках ХЛЛ: рост лейкозных клеток, защита от апоптоза, переход в сторону гликолитического метаболизма, усиление миграции в ответ на специфические хемокины и облегчение взаимодействия с реактивным микроокружением опухоли. **Ключевые гены** [80]: *NOTCH1, FBXW7, EP300, CREBBP*.

Сигнальный путь Wnt [49, 54–56, 79, 81–84] участвует как в развитии, так и поддержании гомеостаза. Сигнальная трансдукция инициируется связыванием лиганда Wnt с рецепторами семейства Frizzled, что приводит к дисрегуляции процессов деградации β-ка-

тенина и, в конечном итоге, к индукции транскрипции через факторы TCF/LEF. **Ключевые гены** [80]: *LRP1B, FAT1, CTNNB1, MED12, Nkd2, ROR1*.

Сигнальный путь Мус [85, 86] включает в себя комплексы регуляции транскрипции MAX/MYC, MAX/MXD, MAX/MGA, а также комплекс MLX/MONDO, регулирующий апоптотический ответ и дифференцировку клеток. **Ключевые гены** [80]: *MYC, MGA, PTPN11*.

Сигнальный путь Hedgehog [87, 88]. Основная роль — дифференцировка клеток на этапе эмбриогенеза. Патологическая активация сигнального пути усиливает пролиферацию клеток и угнетает апоптоз. Перекрестное взаимодействие с сигнальным путем PI3K/Akt модулирует каскад Hedgehog и усиливает его онкогенность. **Ключевые гены** [80]: *PTH1, SMO, GLI1/2/3*.

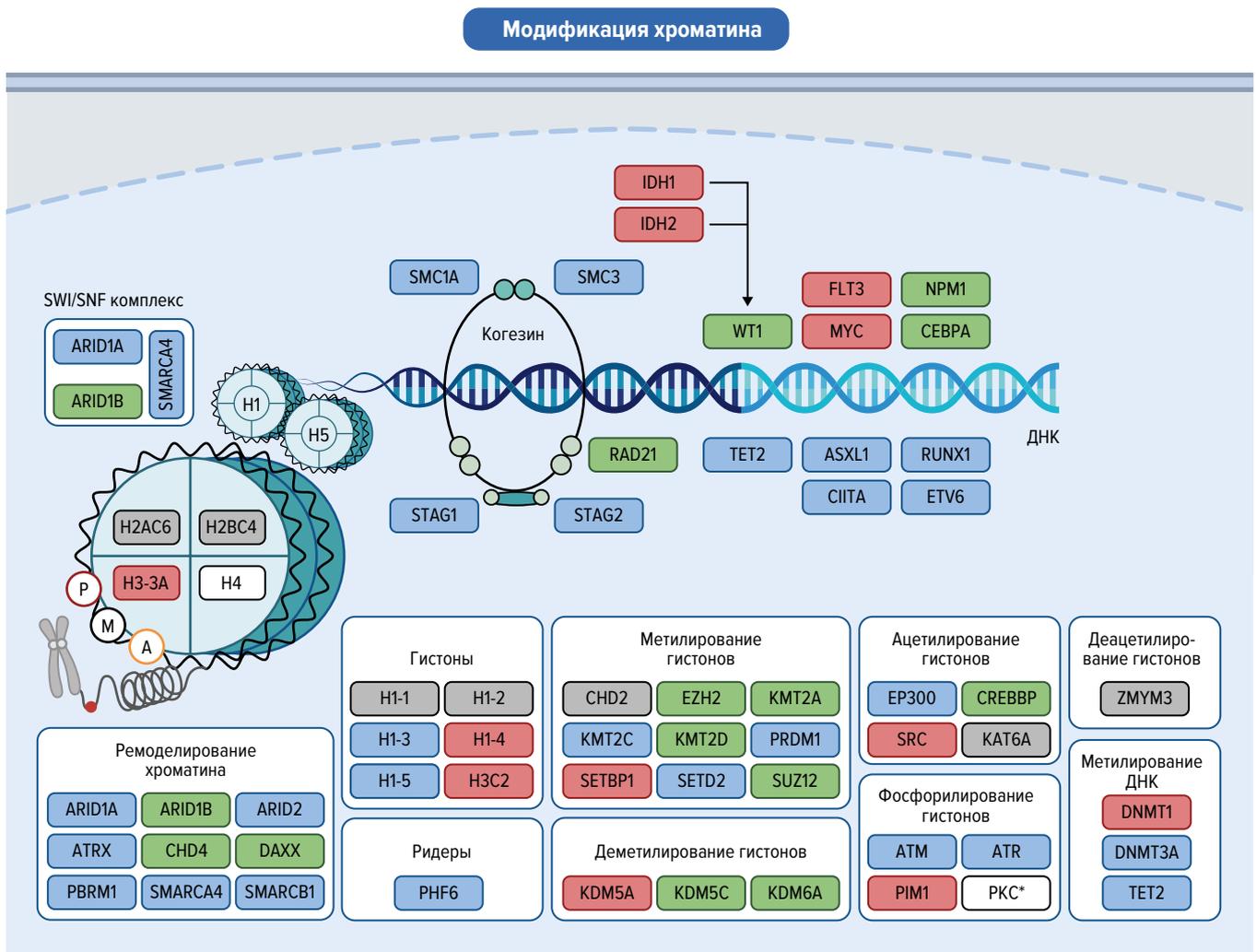


Рис. 4. Сигнальный путь модификации хроматина (создано с помощью BioRender.com). Эпигенетический контроль транскрипции обеспечивается следующими процессами: метилирование ДНК, модификация гистонов (фосфорилирование, (де-)метилирование, (де-)ацетилирование, ремоделирование хроматина) [49, 54–56, 79, 89–92]. Ключевые гены [80]: *HIST1H3B, ARID1A, DNMT3A, EZH2, CHD2, KDM5C/6A, PIM1*

Функции генов: синий — супрессор опухолей, красный — онкоген, зеленый — супрессор/онкоген, серый — неизвестно. Стрелки (→) — активация, линии с тупым концом (—) — ингибирование.

* Семейство протеинкиназа.

Fig. 4. Signal pathway of chromatin modification (created with BioRender.com). Epigenetic transcription control is provided by DNA methylation and histone modifications (phosphorylation, (de-)methylation, (de-)acetylation, and chromatin remodeling) [49, 54–56, 79, 89–92]. Key genes [80]: *HIST1H3B, ARID1A, DNMT3A, EZH2, CHD2, KDM5C/6A, PIM1*

Gene functions: blue — tumor suppressor gene, red — oncogene, green — tumor suppressor/oncogene, gray — unknown. Arrows (→) designate activation, blunt connectors (—) represent inhibition.

* Protein kinase family.

Регуляция транскрипции

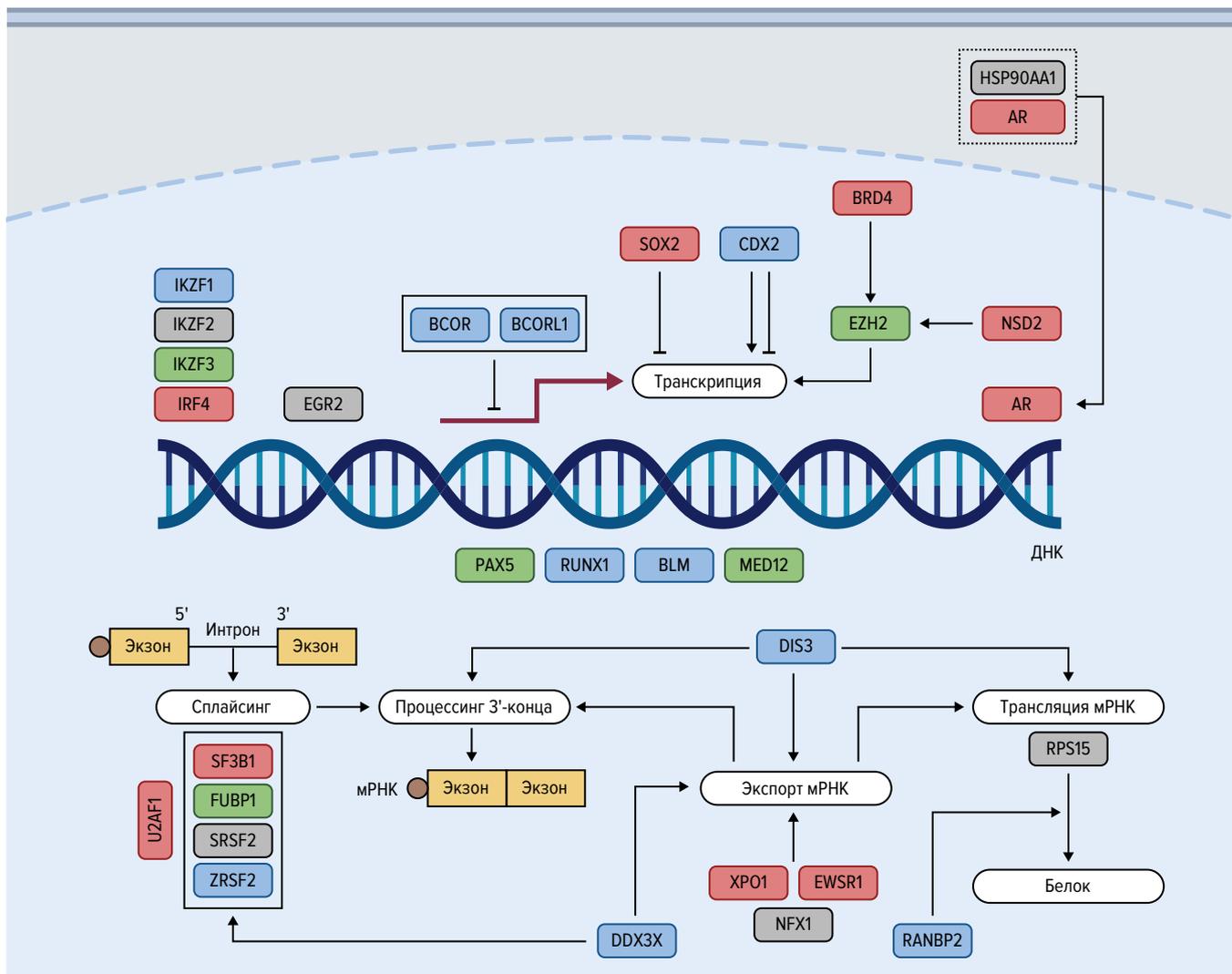


Рис. 5. Сигнальный путь регуляции транскрипции (создано с помощью BioRender.com). Регуляция осуществляется на уровне факторов транскрипции и контроля за сплайсингом, метилированием ДНК и процессингом, экспортом, трансляцией мРНК [49–51, 54–56, 79, 93, 94]. Ключевые гены [80]: *SF3B1*, *DDX3X*, *XPO1*, *RPS15*, *BCOR*

Функции генов: синий — супрессор опухолей, красный — онкоген, зеленый — супрессор/онкоген, серый — неизвестно. Стрелки (→) — активация, линии с тупым концом (—) — ингибирование.

Fig. 5. Signal pathway of transcription regulation (created with BioRender.com). Regulation occurs at the level of transcription factors and splicing control as well as DNA methylation and mRNA processing, export, and translation [49–51, 54–56, 79, 93, 94]. Key genes [80]: *SF3B1*, *DDX3X*, *XPO1*, *RPS15*, *BCOR*

Gene functions: blue — tumor suppressor gene, red — oncogene, green — tumor suppressor/oncogene, gray — unknown. Arrows (→) designate activation, blunt connectors (—) represent inhibition.

Сигнальный путь BCR [12, 49, 54, 56, 95]. BCR состоит из антигенспецифического поверхностного иммуноглобулина (sIg) и гетеродимеров Ig- α /Ig- β (CD79A, CD79B соответственно). Связывание антигена с sIg индуцирует активацию восходящих киназ SYK и LYN. Это, в свою очередь, активирует цитоскелет, а также другие восходящие киназы, в т. ч. BTK и PI3K, и последующие пути, включая PLC γ 2, передачу сигналов кальция, PKC, NF- κ B, митоген-активированные протеинкиназы (MAPK) и ядерную транскрипцию. **Ключевые гены** [80]: *BTK*, *CD79A/B*, *BLNK*, *PLCG2*, *KLHL6*, *CARD11*.

Сигнальный путь PI3K [49, 54, 56, 96, 97]. Сигнальный каскад с участием фосфорилирования PI3K/Akt приводит к активации комплекса mTORC1,

который функционирует как метаболический датчик и контролирует обилие белка, влияя на процессы, участвующие в производстве белка и трансляции РНК, что приводит к изменениям в росте и выживании клеток. **Ключевые гены** [80]: *PIK3CA*, *AKT1/2*, *PTEN*, *GSK3B*.

Сигнальный путь RTK/RAS [49, 54–56, 79, 98–100]. Сигнальный каскадный путь, инициируемый активацией RTK, запускает сигнальную трансдукцию через RAS, RAF, а затем — членов семейства MEK. Этот каскад приводит к активации нескольких факторов транскрипции, которые регулируют процессы, связанные с пролиферацией и выживанием клеток. **Ключевые гены** [80]: *RTK*, *RAS*, *BRAF*, *MAP2K1*, *NF1*.

Контроль клеточного цикла и повреждения ДНК

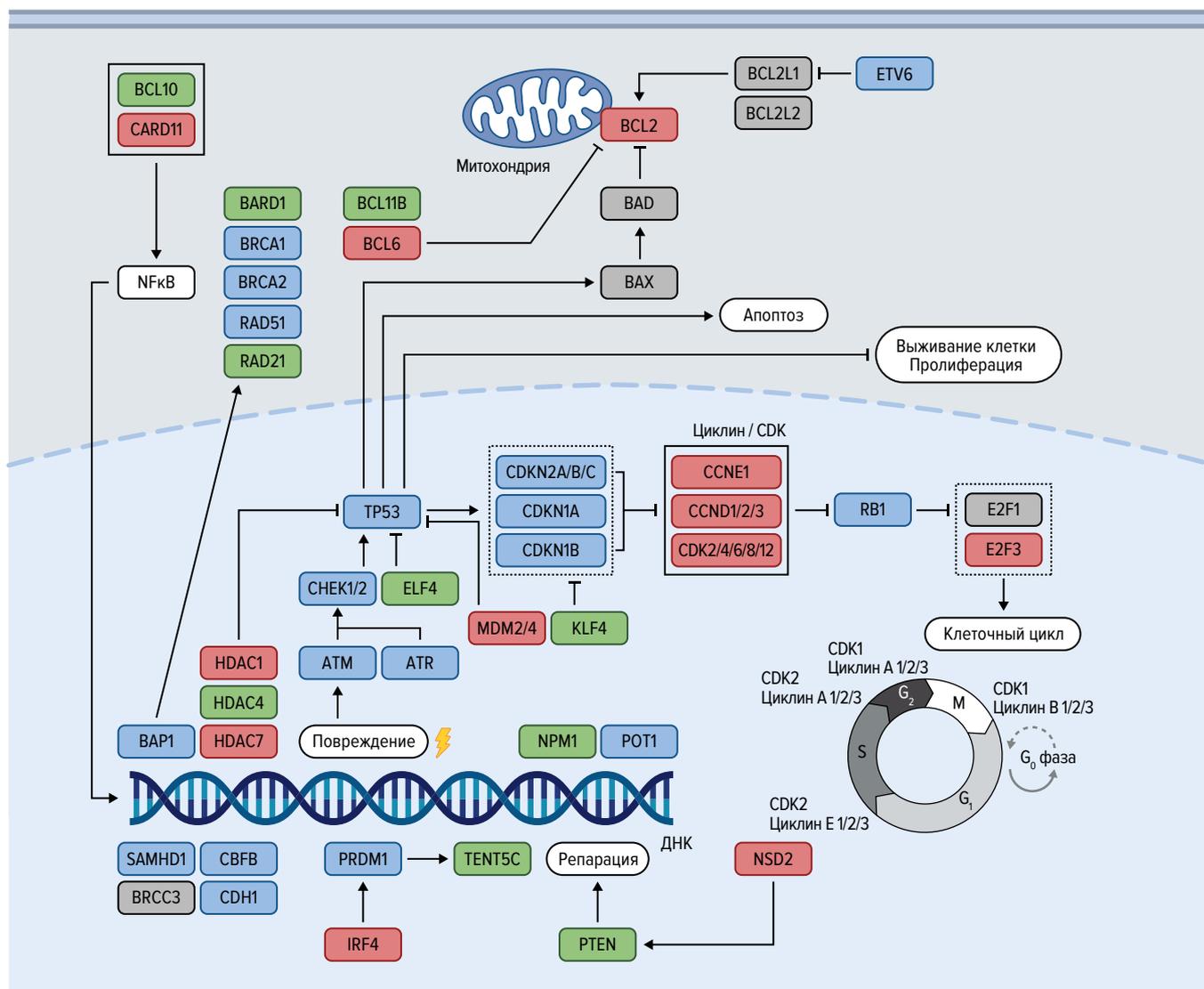


Рис. 7. Сигнальный путь контроля клеточного цикла и повреждения ДНК (создано с помощью BioRender.com). Сигнальный путь сосредоточен на регуляции гена *TP53* (супрессора опухоли), который контролирует апоптоз, остановку клеточного цикла, старение и восстановление ДНК. Регуляция митотического клеточного цикла обеспечивается участием сигнального каскада и циклинзависимых киназ, а также ряда регуляторных контрольных точек [49, 54–56, 79, 101–103]. Ключевые гены [80]: *TP53, ATM, SAMHD1, POT1, CDKN2A/B, CDK, MDM2/4*

Функции генов: синий — супрессор опухолей, красный — онкоген, зеленый — супрессор/онкоген, серый — неизвестно. Стрелки (→) — активация, линии с тупым концом (—|) — ингибирование.

Fig. 7. Signal pathway of cell cycle control and DNA damage (created with BioRender.com). The signal pathway centers on the regulation of *TP53* (tumor suppressor gene) controlling apoptosis, cell cycle arrest, DNA aging and repair. The regulation of the mitotic cell cycle involves signaling cascade, cyclin-dependent kinases, and a number of regulatory checkpoints [49, 54–56, 79, 101–103]. Key genes [80]: *TP53, ATM, SAMHD1, POT1, CDKN2A/B, CDK, MDM2/4*

Gene functions: blue — tumor suppressor gene, red — oncogene, green — tumor suppressor/oncogene, gray — unknown. Arrows (→) designate activation, blunt connectors (—|) represent inhibition.

Сигнальный путь TGF-β [110–112]. Сигнальная сеть, участвующая в росте, пролиферации, апоптозе и дифференцировке, включая активацию рецепторов TGF-β цитокином TGF-β, что приводит к активации транскрипции генов *SMAD*. **Ключевые гены** [80]: *SMAD, TGFBR1/2, ACVR2A/B*.

Сигнальный путь Hippo [113, 114] участвует в контроле размеров органов. Центральное место в этом пути занимает регуляция коактиваторов транскрипции *YAP/TAZ*, которые способствуют транскрипции генов, участвующих в пролиферации клеток. **Ключевые гены** [80]: *FAT1, LATS1/2, YAP1, TAZ*.

МУЛЬТИОМНЫЙ АНАЛИЗ

Интеграция данных анализа генома, транскриптома и эпигенома позволяет расширять молекулярную карту ХЛЛ, улучшая систему оценки прогностических рисков.

В. Knisbacher и соавт. интегрировали геномные, транскриптомные и эпигеномные данные в мультиомные модели. Это позволило выявить генетическую гетерогенность у пациентов с *UM-IGHV*-вариантом ХЛЛ, однако повышенное транскрипционное раз-

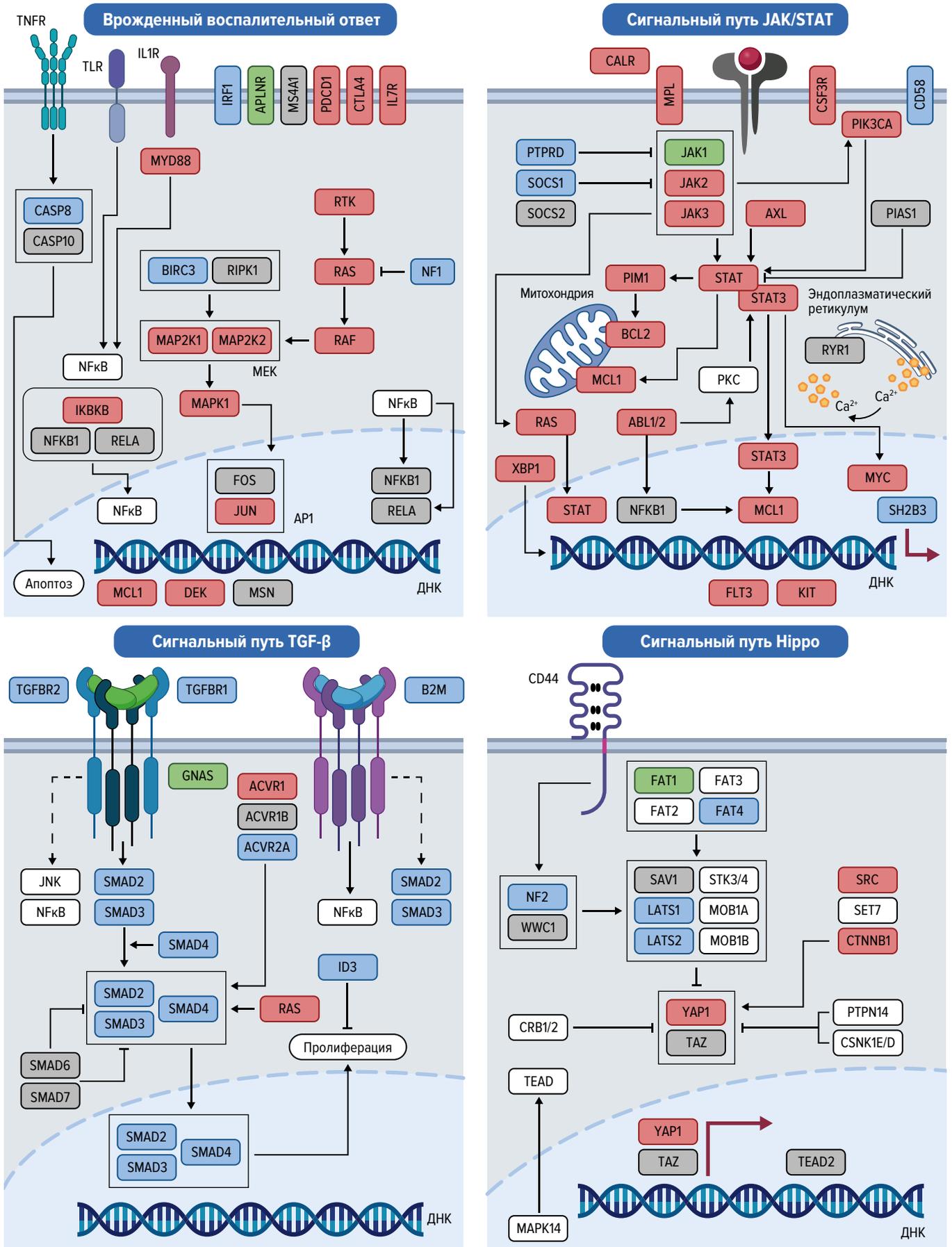


Рис. 8. Сигнальные пути: врожденный воспалительный ответ, JAK/STAT, TGF-β, Hippo (пояснение в тексте) (создано с помощью BioRender.com)

Функции генов: синий — супрессор опухолей, красный — онкоген, зеленый — супрессор/онкоген, серый — неизвестно. Стрелки (→) — активация, линии с тупым концом (—) — ингибирование.

Fig. 8. Signal pathways: inflammatory response, JAK/STAT, TGF-β, Hippo (see text) (created with BioRender.com)

Gene functions: blue — tumor suppressor gene, red — oncogene, green — tumor suppressor/oncogene, gray — unknown. Arrows (→) designate activation, blunt connectors (—) represent inhibition.

нообразии было характерно исключительно для когорты пациентов с *M-IGHV*-вариантом заболевания, несмотря на низкую генетическую комплексность. При транскриптомном анализе биообразцов обнаружено 8 кластеров экспрессии (expression clusters, EC), которые коррелировали с клиническим исходом и были связаны с эпигенетическими подтипами, основанными на профилях метилирования ДНК. Например, *del(11q)*, гены *XPO1* и *U1* были обогащены EC-u1, тогда как мутации в генах *SF3B1* и *IGLV3-21*^{R110} чаще встречались в EC-I [58].

Совокупный анализ геномных, транскриптомных параметров и данных анализа транспозазы хроматина с использованием секвенирования (Assay for Transposase-Accessible Chromatin using sequencing, ATAC-seq) позволил выявить пять подгрупп. Например, первая подгруппа характеризовалась наличием мутаций в генах *TP53*, *MAPK*, *PI3K* и коротких теломер, тогда как вторая подгруппа была обогащена изменениями в генах *ATM* и *BIRC3* [115].

Активно исследуется потенциал протеомики при ХЛЛ. Благодаря кластеризации данных протеомного анализа выделена подгруппа, не связанная с генетическими особенностями, с высоким содержанием сплайсосомных белков, низким содержанием сигнальных белков рецепторов В-клеток, быстрым клиническим прогрессированием заболевания и худшими показателями общей выживаемости, не зависящими от мутационного статуса генов *TP53* и *IGHV* [116].

Мультиомный анализ применяется для профилирования реакций на лекарственные препараты, что позволяет идентифицировать причины ранних рецидивов и резистентности к таргетным препаратам.

Z. Wang и соавт., объединив транскриптомные и эпигеномные данные, выяснили роль ингибирования гена *BTK* в эпигенетическом перепрограммировании: лечение ингибиторами тирозинкиназы Брутона приводит к снижению экспрессии генов семейства *APOBEC3* посредством прямой регуляции энхансера NFATc1-зависимым образом [117].

Спектр субклональных генетических изменений, связанный с резистентностью к венетоклаксу, достаточно хорошо описан [118]. Тем не менее исследование с применением секвенирования РНК отдельных клеток (single-cell RNA-sequencing, scRNA-seq) продемонстрировало комплексность транскрипционных изменений, лежащих в основе приобретенной резистентности к венетоклаксу при отсутствии явных генетических aberrаций [119].

Особый интерес представляет возможность комбинации данных мультиомного анализа с уже имеющимися исследованиями, посвященными сигнальным клеточным путям. ХЛЛ с его клинической и биологической гетерогенностью представляется идеальной и перспективной моделью для интеграции и дальнейшего изучения широкого пласта данных, в т. ч. с применением машинного обучения.

и секвенирования генов *TP53* и *IGHV*, значительно расширило возможности по стратификации пациентов с ХЛЛ на группы риска. Такой подход позволил выявлять больных, которых целесообразно лечить таргетными препаратами в первой линии. Благодаря последующему применению технологий на основе NGS стало возможным инициировать картирование геномного ландшафта ХЛЛ. Данный подход привел к расширению списка клинически значимых геномных aberrаций и определению мутаций в генах (например, *BTK*, *PLCG2* и *BCL2*), связанных с резистентностью к таргетной терапии. Интеграция мультиомики в исследование по изучению молекулярного ландшафта ХЛЛ будет способствовать выявлению новых подгрупп заболевания, углубленной оценке прогностических маркеров. Это позволит получить представление о статусе заболевания на молекулярном уровне и расширить возможности персонализированного противоопухолевого лечения пациентов с ХЛЛ.

УВЕДОМЛЕНИЯ / ACKNOWLEDGMENT

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

DISCLOSURE. Authors declare no conflicts of interest.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ. Работа выполнена в рамках НИР ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России «Разработка персонализированных программ терапии лимфопролиферативных новообразований с использованием инновационных лекарственных препаратов и трансплантации костного мозга» (шифр «ЛПН-20»).

FUNDING. The study was conducted under the research & development project of the Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology "The development of personalized therapy programs for lymphoproliferative neoplasms using innovative drugs and bone marrow transplantation" (code "ЛПН-20").

ВКЛАД АВТОРОВ. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства, согласно международным критериям ICMJE. При этом наибольший вклад распределен следующим образом.

Концепция и дизайн: М.А. Михалева, С.В. Волошин.

Сбор и обработка данных: М.А. Михалева.

Анализ и интерпретация данных: все авторы.

Подготовка рукописи: М.А. Михалева, Е.О. Куневич, С.В. Волошин.

Окончательное одобрение рукописи: все авторы.

Административная поддержка: С.В. Волошин.

AUTHOR CONTRIBUTION. All authors meet the ICMJE criteria for authorship and declare their special contribution as follows:

Conception and design: M.A. Mikhaleva, S.V. Voloshin.

Data collection and processing: M.A. Mikhaleva.

Data analysis and interpretation: all authors.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование прогностических молекулярно-генетических маркеров, обнаруженных с помощью FISH

Manuscript writing: M.A. Mikhaleva, E.O. Kunevich, S.V. Voloshin.

Final approval of manuscript: all authors.

Administrative support: S.V. Voloshin.

СОГЛАСИЕ НА ПУБЛИКАЦИЮ. Не требуется.

CONSENT FOR PUBLICATION. Not required.

ЭТИЧЕСКОЕ ОДОБРЕНИЕ. Не требуется.

ETHICS APPROVAL. Not required.

ORCID

M.A. Михалева — <https://orcid.org/0000-0002-2135-2051>

E.O. Куневич — <https://orcid.org/0000-0002-1706-6642>

A.Ю. Кувшинов — <https://orcid.org/0000-0002-0381-9041>

C.B. Волошин — <https://orcid.org/0000-0003-1784-0375>

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification and treatment. *Am J Hematol.* 2019;94(11):1266–87. doi: 10.1002/ajh.25595.
- Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood.* 2018;131(25):2745–60. doi: 10.1182/blood-2017-09-806398.
- Chiorazzi N, Rai KR, Ferrarini M. Chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 2005;352(8):804–15. doi: 10.1056/NEJMra041720.
- Klein U, Dalla-Favera R. New insights into the phenotype and cell derivation of B cell chronic lymphocytic leukemia. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2005;294:31–49. doi: 10.1007/3-540-29933-5_3.
- Stevenson FK, Caligaris-Cappio F. Chronic lymphocytic leukemia: revelations from the B-cell receptor. *Blood.* 2004;103(12):4389–95. doi: 10.1182/blood-2003-12-4312.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. Lyon: IARC Press; 2008.
- Bosch F, Dalla-Favera R. Chronic lymphocytic leukaemia: from genetics to treatment. *Nat Rev Clin Oncol.* 2019;16(11):684–701. doi: 10.1038/s41571-019-0239-8.
- Klein U, Tu Y, Stolovitzky GA, et al. Gene expression profiling of B cell chronic lymphocytic leukemia reveals a homogeneous phenotype related to memory B cells. *J Exp Med.* 2001;194(11):1625–38. doi: 10.1084/jem.194.11.1625.
- Seiffert M, Sellmann L, Bloehdorn J, et al. Cellular origin and pathophysiology of chronic lymphocytic leukemia. *J Exp Med.* 2012;209(12):2183–98. doi: 10.1084/jem.2012.0833.
- Kulis M, Heath S, Bibikova M, et al. Epigenomic analysis detects widespread gene-body DNA hypomethylation in chronic lymphocytic leukemia. *Nat Genet.* 2012;44(11):1236–42. doi: 10.1038/ng.2443.
- Ferrer G, Montserrat E. Critical molecular pathways in CLL therapy. *Mol Med.* 2018;24(1):9. doi: 10.1186/s10020-018-0001-1.
- Ten Hacken E, Burger JA. Microenvironment interactions and B-cell receptor signaling in Chronic Lymphocytic Leukemia: Implications for disease pathogenesis and treatment. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1863(3):401–13. doi: 10.1016/j.bbamcr.2015.07.009.
- O'Donnell A, Pepper C, Mitchell S, Pepper A. NF-κB and the CLL microenvironment. *Front Oncol.* 2023;13:1169397. doi: 10.3389/fonc.2023.1169397.
- Juliusson G, Oscier DG, Fitchett M, et al. Prognostic subgroups in B-cell chronic lymphocytic leukemia defined by specific chromosomal abnormalities. *N Engl J Med.* 1990;323(11):720–4. doi: 10.1056/NEJM199009133231105.
- Dohner H, Stilgenbauer S, Benner A, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 2000;343(26):1910–6. doi: 10.1056/NEJM200012283432602.
- Puiggros A, Blanco G, Espinet B. Genetic abnormalities in chronic lymphocytic leukemia: where we are and where we go. *Biomed Res Int.* 2014;2014:435983. doi: 10.1155/2014/435983.
- Klein U, Lia M, Crespo M, et al. The DLEU2/miR-15a/16-1 cluster controls B cell proliferation and its deletion leads to chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Cell.* 2010;17(1):28–40. doi: 10.1016/j.ccr.2009.11.019.
- Kasar S, Salerno E, Yuan Y, et al. Systemic in vivo lentiviral delivery of miR-15a/16 reduces malignancy in the NZB de novo mouse model of chronic lymphocytic leukemia. *Genes Immun.* 2012;13(2):109–19. doi: 10.1038/gene.2011.58.
- Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2005;102(39):13944–9. doi: 10.1073/pnas.0506654102.
- Jeromin S, Weissmann S, Haferlach C, et al. SF3B1 mutations correlated to cytogenetics and mutations in NOTCH1, FBXW7, MYD88, XPO1 and TP53 in 1160 untreated CLL patients. *Leukemia.* 2014;28(1):108–17. doi: 10.1038/leu.2013.263.
- Larrayoz M, Rose-Zerilli MJ, Kadalayil L, et al. Non-coding NOTCH1 mutations in chronic lymphocytic leukemia; their clinical impact in the UK CLL4 trial. *Leukemia.* 2017;31(2):510–4. doi: 10.1038/leu.2016.298.
- Brown JR, Hanna M, Tesar B, et al. Integrative genomic analysis implicates gain of PIK3CA at 3q26 and MYC at 8q24 in chronic lymphocytic leukemia. *Clin Cancer Res.* 2012;18(14):3791–802. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2342.
- Zenz T, Mertens D, Kuppers R, et al. From pathogenesis to treatment of chronic lymphocytic leukaemia. *Nat Rev Cancer.* 2010;10(1):37–50. doi: 10.1038/nrc2764.
- Lampson BL, Gupta A, Tyekuceva S, et al. Rare Germline ATM Variants Influence the Development of Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol.* 2023;41(5):1116–28. doi: 10.1200/JCO.22.00269.
- Hallek M, Fischer K, Fingerle-Rowson G, et al. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet.* 2010;376(9747):1164–74. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61381-5.
- Zenz T, Vollmer D, Trbusek M, et al. TP53 mutation profile in chronic lymphocytic leukemia: evidence for a disease specific profile from a comprehensive analysis of 268 mutations. *Leukemia.* 2010;24(12):2072–9. doi: 10.1038/leu.2010.208.
- Seiffert M, Dietrich S, Jethwa A, et al. Exploiting biological diversity and genomic aberrations in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma.* 2012;53(6):1023–31. doi: 10.3109/10428194.2011.631638.
- Yu L, Kim HT, Kasar SN, et al. Survival of del17p CLL depends on genomic complexity and somatic mutation. *Clin Cancer Res.* 2017;23(3):735–45. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0594.
- Mikhaleva M, Tyekuceva S, Mashima K, et al. Higher Mutational Burden Is an Independent Predictor of Shorter Time to First Treatment in Untreated Chronic Lymphocytic Leukemia Patients. *Blood.* 2023;142(Suppl 1):3270. doi: 10.1182/blood-2023-173738.
- Rigolin GM, Cibien F, Martinelli S, et al. Chromosome aberrations detected by conventional karyotyping using novel mitogens in chronic lymphocytic leukemia with "normal" FISH: correlations with clinicobiologic parameters. *Blood.* 2012;119(10):2310–3. doi: 10.1182/blood-2011-11-395269.
- Baliakas P, Iskas M, Gardiner A, et al. Chromosomal translocations and karyotype complexity in chronic lymphocytic leukemia: a systematic reappraisal of classic cytogenetic data. *Am J Hematol.* 2014;89(3):249–55. doi: 10.1002/ajh.23618.
- Cavallari M, Cavazzini F, Bardi A, et al. Biological significance and prognostic/predictive impact of complex karyotype in chronic lymphocytic leukemia. *Oncotarget.* 2018;9(76):34398–412. doi: 10.18632/oncotarget.26146.
- Jaglowski SM, Ruppert AS, Heerema NA, et al. Complex karyotype predicts for inferior outcomes following reduced-intensity conditioning allogeneic transplant for chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol.* 2012;159(1):82–7. doi: 10.1111/j.1365-2141.2012.09239.x.
- Baliakas P, Jeromin S, Iskas M, et al. Cytogenetic complexity in chronic lymphocytic leukemia: definitions, associations, and clinical impact. *Blood.* 2019;133(11):1205–16. doi: 10.1182/blood-2018-09-873083.
- Baliakas P, Espinet B, Mellink C, et al. Cytogenetics in chronic lymphocytic leukemia: ERIC perspectives and recommendations. *Hemasphere.* 2022;6(4):e707. doi: 10.1097/HS9.0000000000000707.
- Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, et al. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 1999;94(6):1848–54.
- Damle RN, Wasil T, Fais F, et al. Ig V Gene Mutation Status and CD38 Expression As Novel Prognostic Indicators in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Blood.* 1999;94(6):1840–7.
- Ghia P, Stamatopoulos K, Belessi C, et al. ERIC recommendations on IGHV gene mutational status analysis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia.* 2007;21(1):1–3. doi: 10.1038/sj.leu.2404457.
- Agathangelidis A, Chatzidimitriou A, Chatzikonstantinou T, et al. Immunoglobulin gene sequence analysis in chronic lymphocytic leukemia: the 2022 update of the recommendations by ERIC, the European Research Initiative on CLL. *Leukemia.* 2022;36(8):1961–8. doi: 10.1038/s41375-022-01604-2.
- Rosenquist R, Ghia P, Hadzidimitriou A, et al. Immunoglobulin gene sequence analysis in chronic lymphocytic leukemia: updated ERIC recommendations. *Leukemia.* 2017;31(7):1477–81. doi: 10.1038/leu.2017.125.
- Mansouri L, Thorvaldsdottir B, Sutton LA, et al. Different prognostic impact of recurrent gene mutations in chronic lymphocytic leukemia depending on IGHV gene somatic hypermutation status: a study by ERIC in HARMONY. *Leukemia.* 2023;37(2):339–47. doi: 10.1038/s41375-022-01802-y.
- Бидерман Б.В., Никитин Е.А., Сергиенко Т.Ф. и др. Репертуар генов тяжелой цепи иммуноглобулинов при В-клеточном хроническом лимфолейкозе в России и Беларуси. *Онкогематология.* 2012;3:38–43. [Biderman B.V., Nikitin E.A., Sergienko T.F., et al. Repertoire of immunoglobulin heavy chain genes in B-cell chronic lymphocytic leukemia in Russia and Belarus. *Onkologiya.* 2012;3:38–43. (In Russ)]
- Бидерман Б.В., Судариков А.Б. Гены иммуноглобулинов и стереотипные антигенные рецепторы при хроническом лимфолейкозе и других лимфолипролиферативных заболеваниях. *Гематология и трансфузиология.*

- 2023;68(1):70–9. doi: 10.35754/0234-5730-2023-68-1-70-79. [Biderman B.V., Sudarikov A.B. Immunoglobulin genes and stereotyped antigenic receptors in chronic lymphocytic leukemia and other lymphoproliferative diseases. Russian journal of hematology and transfusiology. 2023;68(1):70–9. doi: 10.35754/0234-5730-2023-68-1-70-79. (In Russ)]
44. Burger JA, Barr PM, Robak T, et al. 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*. 2020;34(3):787–98. doi: 10.1038/s41375-019-0602-x.
45. Stilgenbauer S, Schnaiter A, Paschka P, et al. Gene mutations and treatment outcome in chronic lymphocytic leukemia: results from the CLL8 trial. *Blood*. 2014;123(21):3247–54. doi: 10.1182/blood-2014-01-546150.
46. Fischer K, Al-Sawaf O, Bahlo J, et al. Venetoclax and obinutuzumab in patients with CLL and coexisting conditions. *N Engl J Med*. 2019;380(23):2225–36. doi: 10.1056/NEJMoa1815281.
47. Brown JR, Eichhorst B, Hillmen P, et al. Zanubrutinib or ibrutinib in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2023;388(4):319–32. doi: 10.1056/NEJMoa2211582.
48. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1977;74(12):5463–7. doi: 10.1073/pnas.74.12.5463.
49. Puente XS, Pinyol M, Quesada V, et al. Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature*. 2011;475(7354):101–5. doi: 10.1038/nature10113.
50. Quesada V, Conde L, Villamor N, et al. Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia. *Nat Genet*. 2011;44(1):47–52. doi: 10.1038/ng.1032.
51. Wang L, Lawrence MS, Wan Y, et al. SF3B1 and other novel cancer genes in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2011;365(26):2497–506. doi: 10.1056/NEJMoa1109016.
52. Fabbri G, Rasi S, Rossi D, et al. Analysis of the chronic lymphocytic leukemia coding genome: role of NOTCH1 mutational activation. *J Exp Med*. 2011;208(7):1389–401. doi: 10.1084/jem.20110921.
53. Puente XS, Bea S, Valdes-Mas R, et al. Non-coding recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature*. 2015;526(7574):519–24. doi: 10.1038/nature14666.
54. Landau DA, Carter SL, Stojanov P, et al. Evolution and impact of subclonal mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Cell*. 2013;152(4):714–26. doi: 10.1016/j.cell.2013.01.019.
55. Landau DA, Stewart C, Reiter JG, et al. 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*. 2014;124(21):1952. doi: 10.1182/blood.v124.21.1952.1952.
56. Landau DA, Tausch E, Taylor-Weiner AN, et al. Mutations driving CLL and their evolution in progression and relapse. *Nature*. 2015;526(7574):525–30. doi: 10.1038/nature15395.
57. Ljungstrom V, Cortese D, Young E, et al. Whole-exome sequencing in relapsing chronic lymphocytic leukemia: clinical impact of recurrent RPS15 mutations. *Blood*. 2016;127(8):1007–16. doi: 10.1182/blood-2015-10-674572.
58. Knisbacher BA, Lin Z, Hahn CK, et al. Molecular map of chronic lymphocytic leukemia and its impact on outcome. *Nat Genet*. 2022;54(11):1664–74. doi: 10.1038/s41588-022-01140-w.
59. Mollstedt J, Mansouri L, Rosenquist R. Precision diagnostics in chronic lymphocytic leukemia: Past, present and future. *Front Oncol*. 2023;13:1146486. doi: 10.3389/fonc.2023.1146486.
60. Brieghel C, da Cunha-Bang C, Yde CW, et al. The number of signaling pathways altered by driver mutations in chronic lymphocytic leukemia impacts disease outcome. *Clin Cancer Res*. 2020;26(6):1507–15. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-4158.
61. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, et al. Cancer genome landscapes. *Science*. 2013;340(6127):1546–58. doi: 10.1126/science.1235122.
62. Sanchez-Vega F, Mina M, Armenia J, et al. Oncogenic Signaling Pathways in The Cancer Genome Atlas. *Cell*. 2018;173(2):321–37.e10. doi: 10.1016/j.cell.2018.03.035.
63. Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discov*. 2012;2(5):401–4. doi: 10.1158/2159-8290.CD-12-0095.
64. NCBI Resource Coordinators. Database resources of the national center for biotechnology information. *Nucleic Acids Res*. 2016;44(D1):D7–D19. doi: 10.1093/nar/gkv1290.
65. Tate JG, Bamford S, Jubb HC, et al. COSMIC: the Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer. *Nucleic Acids Res*. 2019;47(D1):D941–D947. doi: 10.1093/nar/gky1015.
66. Sondka Z, Bamford S, Cole CG, et al. The COSMIC Cancer Gene Census: describing genetic dysfunction across all human cancers. *Nat Rev Cancer*. 2018;18(11):696–705. doi: 10.1038/s41568-018-0060-1.
67. Futreal PA, Coin L, Marshall M, et al. A census of human cancer genes. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(3):177–83. doi: 10.1038/nrc1299.
68. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore MD). Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Available from: <https://omim.org/> (accessed 01.10.2024).
69. Fabregat A, Sidiropoulos K, Viteri G, et al. Reactome diagram viewer: data structures and strategies to boost performance. *Bioinformatics*. 2018;34(7):1208–14. doi: 10.1093/bioinformatics/btx572.
70. Kanehisa M, Sato Y. KEGG Mapper for inferring cellular functions from protein sequences. *Protein Sci*. 2020;29(1):28–35. doi: 10.1002/pro.3711.
71. Kanehisa M, Sato Y, Kawashima M. KEGG mapping tools for uncovering hidden features in biological data. *Protein Sci*. 2022;31(1):47–53. doi: 10.1002/pro.4172.
72. Ashburner M, Ball CA, Blake JA, et al. Gene ontology: tool for the unification of biology. *Nat Genet*. 2000;25(1):25–9. doi: 10.1038/75556.
73. Gene Ontology Consortium. The Gene Ontology resource: enriching a GOLD mine. *Nucleic Acids Res*. 2021;49(D1):D325–D334. doi: 10.1093/nar/gkaa1113.
74. Chakravarty D, Gao J, Phillips S, et al. OncoKB: a precision oncology knowledge base. *JCO Precis Oncol*. 2017;2017:PO.17.00011. doi: 10.1200/PO.17.00011.
75. Bruford EA, Braschi B, Denny P, et al. Guidelines for human gene nomenclature. *Nat Genet*. 2020;52(8):754–8. doi: 10.1038/s41588-020-0669-3.
76. Radtke F, Raj K. The role of Notch in tumorigenesis: oncogene or tumour suppressor? *Nat Rev Cancer*. 2003;3(10):756–67. doi: 10.1038/nrc1186.
77. Zent CS, Burack WR. Mutations in chronic lymphocytic leukemia and how they affect therapy choice: focus on NOTCH1, SF3B1, and TP53. *Hematology*. 2014;2014(1):119–24. doi: 10.1182/asheducation-2014.1.119.
78. Arruga F, Vaisitti T, Deaglio S. The NOTCH pathway and its mutations in mature B cell malignancies. *Front Oncol*. 2018;8:550. doi: 10.3389/fonc.2018.00550.
79. Damm F, Mylonas E, Cosson A, et al. Acquired initiating mutations in early hematopoietic cells of CLL patients. *Cancer Discov*. 2014;4(9):1088–111. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-0104.
80. Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature*. 2005;434(7035):843–50. doi: 10.1038/nature03319.
81. Makinen N, Mehine M, Tolvanen J, et al. MED12, the mediator complex subunit 12 gene, is mutated at high frequency in uterine leiomyomas. *Science*. 2011;334(6053):252–5. doi: 10.1126/science.1208930.
82. Janovska P, Bryja V. Wnt signalling pathways in chronic lymphocytic leukaemia and B-cell lymphomas. *Br J Pharmacol*. 2017;174(24):4701–15. doi: 10.1111/bph.13949.
83. Messina M, Del Giudice I, Khabibian H, et al. Genetic lesions associated with chronic lymphocytic leukaemia chemo-refractoriness. *Blood*. 2014;123(15):2378–88. doi: 10.1182/blood-2013-10-534271.
84. Nilsson JA, Cleveland JL. Myc pathways provoking cell suicide and cancer. *Oncogene*. 2003;22(56):9007–21. doi: 10.1038/sj.onc.1207261.
85. Rossi D. MYC addiction in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2013;54(5):905–6. doi: 10.3109/10428194.2012.755179.
86. Kern D, Regl G, Hofbauer SW, et al. Hedgehog/GLI and PI3K signaling in the initiation and maintenance of chronic lymphocytic leukemia. *Oncogene*. 2015;34(42):5341–51. doi: 10.1038/onc.2014.450.
87. Ghia EM, Rassenti LZ, Neuberg DS, et al. Activation of hedgehog signaling associates with early disease progression in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2019;133(25):2651–63. doi: 10.1182/blood-2018-09-873695.
88. Zhao S, Allis CD, Wang GG. The language of chromatin modification in human cancers. *Nat Rev Cancer*. 2021;21(7):413–30. doi: 10.1038/s41568-021-00357-x.
89. Rodriguez D, Bretones G, Quesada V, et al. Mutations in CHD2 cause defective association with active chromatin in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2015;126(2):195–202. doi: 10.1182/blood-2014-10-604959.
90. Mallm J, Iskar M, Ishaque N, et al. Linking aberrant chromatin features in chronic lymphocytic leukemia to transcription factor networks. *Mol Syst Biol*. 2019;15(5):e8339. doi: 10.15252/msb.20188339.
91. Mansouri L, Wierzbinska JA, Plass C, Rosenquist R. Epigenetic deregulation in chronic lymphocytic leukemia: Clinical and biological impact. *Semin Cancer Biol*. 2018;51:1–11. doi: 10.1016/j.semcancer.2018.02.001.
92. Unoki M, Nakamura Y. EGR2 induces apoptosis in various cancer cell lines by direct transactivation of BNIP3L and BAK. *Oncogene*. 2003;22(14):2172–85. doi: 10.1038/sj.onc.1206222.
93. Prieto C, Kharas MG. RNA regulators in leukemia and lymphoma. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2020;10(5):a034967. doi: 10.1101/cshperspect.a034967.
94. Rice GI, Bond J, Asipu A, et al. Mutations involved in Aicardi-Goutieres syndrome implicate SAMHD1 as regulator of the innate immune response. *Nat Genet*. 2009;41(7):829–32. doi: 10.1038/ng.373.
95. Malumbres M, Barbacid M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(3):153–66. doi: 10.1038/nrc2602.
96. Wade M, Li YC, Wahl GM. MDM2, MDMX and p53 in oncogenesis and cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2013;13(2):83–96. doi: 10.1038/nrc3430.
97. Harvey KF, Zhang X, Thomas DM. The Hippo pathway and human cancer. *Nat Rev Cancer*. 2013;13(4):246–57. doi: 10.1038/nrc3458.
98. Noorbakhsh N, Hayatmoghadam B, Jamali M, et al. The Hippo signaling pathway in leukemia: function, interaction, and carcinogenesis. *Cancer Cell Int*. 2021;21(1):705. doi: 10.1186/s12935-021-02408-7.
99. Bos JL. Ras Oncogenes in Human Cancer: A Review. *Cancer Res*. 1989;49(17):4682–9.
100. Jebaraj BMC, Kienle D, Buhler A, et al. BRAF mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2013;54(6):1177–82. doi: 10.3109/10428194.2012.742525.
101. Malumbres M, Barbacid M. RAS oncogenes: the first 30 years. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(6):459–65. doi: 10.1038/nrc1097.
102. Marechal Y, Queant S, Polizzi S, et al. Inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase B controls survival and prevents energy in B cells. *Immunobiology*. 2011;216(1–2):103–9. doi: 10.1016/j.imbio.2010.03.012.

- 103.** Proud CG. mTORC1 regulates the efficiency and cellular capacity for protein synthesis. *Biochem Soc Trans.* 2013;41(4):923–6. doi: 10.1042/BST20130036.
- 104.** Woyach JA, Furman RR, Liu TM, et al. Resistance mechanisms for the Bruton's tyrosine kinase inhibitor ibrutinib. *N Engl J Med.* 2014;370(24):2286–94. doi: 10.1056/NEJMoa1400029.
- 105.** Severin F, Frezzato F, Martini V, et al. Three Different Jak2/Stat3-Related Pathways Favor the Survival of Chronic Lymphocytic Leukemia Neoplastic Clone. *Blood.* 2018;132(Suppl 1):4405. doi: 10.1182/blood-2018-99-114591.
- 106.** Fasouli ES, Katsantoni E. JAK-STAT in early hematopoiesis and leukemia. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:669363. doi: 10.3389/fcell.2021.669363.
- 107.** Groner B, von Manstein V. Jak Stat signaling and cancer: Opportunities, benefits and side effects of targeted inhibition. *Mol Cell Endocrinol.* 2017;451:1–14. doi: 10.1016/j.mce.2017.05.033.
- 108.** Severin F, Frezzato F, Visentin A, et al. In chronic lymphocytic leukemia the JAK2/STAT3 pathway is constitutively activated and its inhibition leads to CLL cell death unaffected by the protective bone marrow microenvironment. *Cancers (Basel).* 2019;11(12):1939. doi: 10.3390/cancers11121939.
- 109.** Massague J. TGF β in cancer. *Cell.* 2008;134(2):215–30. doi: 10.1016/j.cell.2008.07.001.
- 110.** Matveeva A, Kovalevska L, Kholodnyuk I, et al. The TGF- β —SMAD pathway is inactivated in chronic lymphocytic leukemia cells. *Exp Oncol.* 2017;39(4):286–90.
- 111.** Dong M, Blobel GC. Role of transforming growth factor- β in hematologic malignancies. *Blood.* 2006;107(12):4589–96. doi: 10.1182/blood-2005-10-4169.
- 112.** Gimenez N, Schulz R, Higashi M, et al. Targeting IRAK4 disrupts inflammatory pathways and delays tumor development in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia.* 2020;34(1):100–14. doi: 10.1038/s41375-019-0507-8.
- 113.** Rozovski U, Keating MJ, Estrov Z. Targeting inflammatory pathways in chronic lymphocytic leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2013;88(3):655–66. doi: 10.1016/j.critrevonc.2013.07.011.
- 114.** Михалева М.А., Мартынкевич И.С., Булдаков И.А. и др. Секвенирование нового поколения как метод познания природы хронического лимфолейкоза и перехода к персонализированной терапии. *Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа.* 2021;7(2):176–90. doi: 10.34883/PI.2021.7.2.006. [Mikhaleva M.A., Martynkevich I.S., Buldakov I.A., et al. Next generation sequencing as a method for discovering the nature of chronic lymphocytic leukemia and transition to personalized treatment. 2021;7(2):176–90. *Hematology. Transfusiology. Eastern Europe.* doi: 10.34883/PI.2021.7.2.006. (In Russ)]
- 115.** Robbe P, Ridout KE, Vavoulis DV, et al. Whole-genome sequencing of chronic lymphocytic leukemia identifies subgroups with distinct biological and clinical features. *Nat Genet.* 2022;54(11):1675–89. doi: 10.1038/s41588-022-01211-y.
- 116.** Herbst SA, Vesterlund M, Helmboldt AJ, et al. Proteogenomics refines the molecular classification of chronic lymphocytic leukemia. *Nat Commun.* 2022;13(1):6226. doi: 10.1038/s41467-022-33385-8.
- 117.** Wang Z, Yan H, Boysen JC, et al. B cell receptor signaling drives APOBEC3 expression via direct enhancer regulation in chronic lymphocytic leukemia B cells. *Blood Cancer J.* 2022;12(7):99. doi: 10.1038/s41408-022-00690-w.
- 118.** Maher N, Mouhssine S, Matti BF, et al. Treatment Refractoriness in Chronic Lymphocytic Leukemia: Old and New Molecular Biomarkers. *Int J Mol Sci.* 2023;24(12):10374. doi: 10.3390/ijms241210374.
- 119.** Thijssen R, Tian L, Anderson MA, et al. Single-cell multiomics reveal the scale of multilayered adaptations enabling CLL relapse during venetoclax therapy. *Blood.* 2022;140(20):2127–41. doi: 10.1182/blood.2022016040.

