



<https://doi.org/10.34883/PI.2023.9.3.008>
УДК 616-006.441



Куневич Е.О.¹✉, Мартынкевич И.С.¹, Волошин С.В.^{1,2}, Мотыко Е.В.¹, Криволапов Ю.А.³, Богданов А.Н.², Сидоркевич С.В.¹

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

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

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

Прогноз у пациентов с фолликулярной лимфомой в зависимости от мутационного статуса гена EZH2

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования, сбор материала, обработка, написание текста – Куневич Е.О., Волошин С.В., Мартынкевич И.С.; сбор материала, гистологическое исследование, проведение секвенирования – Мотыко Е.В., Криволапов Ю.А., Куневич Е.О.; дизайн обзора литературы и редактирование – Куневич Е.О., Волошин С.В., Богданов А.Н., Мартынкевич И.С.; интерпретация данных и административная поддержка – Волошин С.В., Сидоркевич С.В.

Подана: 28.06.2023

Принята: 12.08.2023

Контакты: kunevich17@gmail.ru

Резюме

Цель. Оценить распространенность и прогностическую значимость мутаций гена EZH2 у пациентов с фолликулярной лимфомой.

Материалы и методы. В проспективное исследование включено 111 пациентов, средний возраст которых равнялся 55,2 года. Медиана наблюдения составила 34,3 месяца.

Обследование и лечение пациентов проводилось в соответствии с Национальными клиническими рекомендациями. Мутационный статус 16-го экзона гена EZH2 оценивали с помощью секвенирования по Сэнгеру. Перестройки генов BCL2, BCL6, а также del17p/TP53 определяли методом флуоресцентной in situ гибридизации (FISH). Полученные данные анализировались с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics 26.0.0.0, Microsoft Excel 16.69.1 (for Mac), R version 4.2.2.

Результаты. Частота мутаций 16-го экзона гена EZH2 составляет 17,1% и представляет собой замену аминокислоты тирозин в 646-м положении (p.Y646X). Общая 5-летняя выживаемость значимо различалась в зависимости от мутационного статуса гена EZH2 и у пациентов с мутацией составила 89,5% (95% ДИ: 66,9–98,7), что достоверно выше, чем в контрольной группе – 50,0% (95% ДИ: 39,4–60,6), $p=0,035$. Аналогичные результаты были получены в отношении 5-летней ВБП, которая в исследуемой группе равнялась 84,2% (95% ДИ: 60,4–96,6), а в контрольной группе – 35,1% (95% ДИ: 25,2–45,4), $p=0,004$. В однофакторном регрессионном анализе мутация гена EZH2 в отношении показателей 5-летней выживаемости выступала в качестве благоприятного прогностического признака. Наличие мутации снижает риск неблагоприятного события более чем в 4 раза ($p<0,03$) или риск смерти – в 4 раза ($OR=0,24$, $p=0,052$).

Заключение. У пациентов с мутацией гена EZH2 (Y646X) отмечается достоверно лучший прогноз по результатам анализа выживаемости ($p<0,04$). Наличие данного

фактора снижает риск смерти или иного неблагоприятного события в 4 раза и более ($p < 0,03$).

Ключевые слова: фолликулярная лимфома, мутация гена EZH2, прогноз, выживаемость, индекс M7-FLIPI, эпигенетика

Kunevich E.¹, Martynkevich I.¹, Voloshin S.^{1,2}, Motyko E.¹, Krivolapov Yu.³, Bogdanov A.², Sidorkevich S.¹

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-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

Prognosis in Patients with Follicular Lymphoma Depending on the Mutation Status of the EZH2 Gene

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design of the study, collection of material, processing, text writing – Kunevich E., Voloshin S., Martynkevich I.; collection of material, histological study, sequencing – Motyko E., Krivolapov Y., Kunevich E.; literature review design and editing – Kunevich E., Voloshin S., Bogdanov A., Martynkevich I.; data interpretation and administrative support – Voloshin S., Sidorkevich S.

Submitted: 28.06.2023

Accepted: 12.08.2023

Contacts: kunevich17@gmail.ru

Abstract

Purpose. To assess the prevalence and prognostic significance of EZH2 gene mutations in patients with follicular lymphoma.

Materials and methods. The prospective study included 111 patients. The mean age of the patients was 55.2 years. The median follow-up was 34.3 months.

Examination and treatment of patients was carried out in accordance with the National Clinical Guidelines. The mutational status of exon 16 of the EZH2 gene was assessed using Sanger sequencing. Rearrangements of the BCL2, BCL6, and del17p/TP53 genes were determined by fluorescent in situ hybridization (FISH). The obtained data were analyzed using IBM SPSS Statistics 26.0.0.0, Microsoft Excel 16.69.1 (for Mac), R version 4.2.2 software.

Results. The frequency of mutations in exon 16 of the EZH2 gene is 17.1% and represents a substitution of the amino acid tyrosine in position 646 (p.Y646X). The overall 5-year survival significantly differed depending on the mutational status of the EZH2 gene and in patients with the mutation was 89.5% (95% CI: 66.9–98.7), which is significantly higher than in the control group – 50.0% (95% CI: 39.4–60.6), $p=0.035$. Similar results were obtained for 5-year PFS, which in the study group was 84.2% (95% CI: 60.4–96.6), and in the control group – 35.1% (95% CI: 25.2–45.4), $p=0.004$. In a univariate regression analysis, the EZH2 gene mutation in relation to 5-year survival rates acted as a favorable prognostic sign. The presence of a mutation reduces the risk of an adverse event by more than 4 times ($p < 0.03$) or the risk of death by 4 times ($RR=0.24$, $p=0.052$).



Conclusion. Patients with a mutation in the EZH2 gene (Y646X) have a significantly better prognosis according to survival analysis ($p < 0.04$). The presence of this factor reduces the risk of death or other adverse event by >4 times ($p < 0.03$).

Keywords: follicular lymphoma, EZH2 gene mutation, prognosis, survival, M7-FLIPI index, epigenetics

■ ВВЕДЕНИЕ

Фолликулярная лимфома (ФЛ) – неходжкинская В-клеточная лимфома, происходящая из злокачественно трансформированных centroцитов и centroбластов герминальных центров (ГЦ) лимфатических фолликулов и характеризующаяся индолентным течением. Является второй по распространенности лимфомой в структуре неходжкинских лимфом (НХЛ) и наиболее частой среди индолентных лимфом [1]. В США заболеваемость ФЛ с 2000 по 2016 г. была отмечена на уровне 3,5 случая на 100 тыс. человек, соотношение мужчин и женщин составило 1,2:1 [2]. По данным Британской сети исследования гематологических злокачественных новообразований (HRMN), в Великобритании заболеваемость ФЛ в период с 2004 по 2012 г. составила 2,8 на 100 тыс. человек, а 3-, 5- и 10-летняя распространенность равнялась 9,7, 14,8 и 25,2 на 100 тыс. человек соответственно. Следует отметить, что соотношение мужчин и женщин в данном исследовании составило 0,95:1 [3]. В Российской Федерации отмечается более низкая частота встречаемости ФЛ. В Северо-Западном регионе РФ доля ФЛ не превышает 11% в структуре всех НХЛ [3]. Медиана возраста на момент диагностики в большинстве исследований составляет 60–65 лет.

В 1990–2000-х гг. разработаны методы высокопроизводительного секвенирования или секвенирования следующего поколения (NGS). Внедрение в клиническую практику технологий NGS позволило исследователям идентифицировать множество повторяющихся соматических мутаций, которые раскрыли новые механизмы молекулярного патогенеза лимфом. Исследования с применением NGS показали, что нарушение эпигенетической регуляции транскрипции, вероятно, является основополагающим событием на ранних этапах патогенеза, и в более чем 95% случаев клетки ФЛ несут по крайней мере 1 мутацию в генах KMT2D, CREBBP, EZH2, EP300, ARID1A и некоторых других [5].

Ген EZH2 картирован на хромосоме 7q36.1 и кодирует одноименную гистонметилтрансферазу, катализирующую добавление метильных групп к лизину 27 гистона H3 с помощью кофактора S-аденозил-L-метионина (SAM), образуя метки моно-, ди- и триметилирования (H3K27me1-3). Метка H3K27 репрессивна в отношении транскрипции генов-мишеней и играет важную роль в контроле экспрессии генов, регулирующих процессы развития и дифференцировки клетки [6].

В 2011 г. у пациентов с ФЛ впервые были описаны и исследованы мутации гена EZH2. Мутации всегда гетерозиготны и представляют собой миссенс-мутацию замены аминокислоты тирозина в 641-м положении (Tyr641 или дикий тип) на фенилаланин в каталитическом SET-домене, что приводит к усилению ферментативной активности продукта гена. Также описаны и другие мутации замены тирозина на аспарагин

(Y641N), гистидин (Y641H), серин (Y641S). По литературным данным, частота встречаемости мутаций гена EZH2 находится в диапазоне 7–28% [7, 8]. Недавно с частотой 25% у пациентов с ФЛ были описаны мутации EZH2 в области 16 и 18 экзонов (Y646X, A682G и A692V) и некоторые другие, более редкие варианты аминокислотных замен (K634E, V637A и V679M) [9]. Таким образом, мутации EZH2 приводят к подавлению экспрессии генов-мишеней и в конечном счете к нарушению процессов клеточной дифференцировки.

Всё вышеизложенное позволяет считать мутации гена EZH2 важным звеном в патогенезе ФЛ и возможным предиктором эффективности терапевтического воздействия. В 2015 г. на основании анализа мутаций 74 генов по данным секвенирования, оцененных у 154 пациентов с ФЛ, был разработан биологический прогностический индекс M7-FLIPI, стратифицирующий пациентов на группы высокого и низкого риска при постановке диагноза и включающий мутационный статус 7 генов (EZH2, ARID1A, MEF2B, EP300, FOXO1, CREBBP, CARD11), а также клинические характеристики (статус ECOG и значение индекса FLIPI). Интересно, что около 50% пациентов с высоким риском по данным FLIPI были переведены в группу низкого риска по M7-FLIPI в основном из-за генных мутаций, которые снижают риск неудачи лечения. Более того, у этих пациентов выживаемость была неотличима от FLIPI с низким риском. В однофакторном анализе мутации генов EP300 (ОР 1,99, 95% ДИ: 1,08–3,68, $p=0,028$) и FOXO1 (ОР 2,74, 95% ДИ: 1,23–6,09, $p=0,013$) были связаны с более короткой выживаемостью, свободной от неудач лечения, тогда как мутации гена EZH2 (ОР 0,46, 95% ДИ: 0,22–0,93, $p=0,030$) были ассоциированы с более длительной выживаемостью. По данным многофакторного анализа наличие мутаций гена EZH2 приводило к значительному улучшению как выживаемости, свободной от неудач лечения, так и общей выживаемости (ОВ), но только среди пациентов с FLIPI высокого риска. Исследование имело ограничение, так как достоверность оценки M7-FLIPI была продемонстрирована только у пациентов, получавших ритуксимаб в комбинации с химиотерапией по протоколу CHOP или CVP [10].

В недавнем исследовании оценили прогностическую значимость M7-FLIPI у пациентов, получавших лечение в рамках исследования GALLIUM (NCT01332968), и обнаружили, что M7-FLIPI не был прогностически значимым у пациентов с ФЛ, получавших лечение на основе бендамустина. Более того, данный анализ показал, что статус мутаций гена EZH2 может служить биологическим маркером выбора терапии. Пациенты с мутацией гена EZH2, получавшие CHOP/CVP с иммунотерапией, характеризовались более высокой выживаемостью без прогрессирования (ВБП) по сравнению с пациентами, получавшими терапию с включением бендамустина. Также следует отметить, что индекс M7-FLIPI не является прогностическим для пациентов с ФЛ, принимающих ритуксимаб без химиотерапии [11], что, вероятно, указывает на то обстоятельство, что валидность подобных инструментов актуальна только в рамках определенных клинических подходов. Данная особенность позже была протестирована у 42 пациентов с ФЛ из исследования CONVERT. Показано, что у пациентов, получавших RB ($n=34$), распределение по группам низкого и высокого риска в соответствии с M7-FLIPI составило 70,6% (24/34) и 29,4% (10/34) соответственно. При среднем времени наблюдения 48,7 месяца (интервал 4,07–79,3) 3-летняя ВБП составила 70,8% (95% ДИ: 48,4–84,9) в группе низкого риска и 60,0% (95% ДИ: 25,3–82,7) в группе высокого риска. Таким образом, между группами отсутствовала



существенная разница в ВБП ($p=0,264$), что подтверждает низкую прогностическую значимость M7-FLIPI у пациентов с ФЛ, получающих RB [12].

С целью повышения чувствительности индекса M7-FLIPI в отношении предсказания раннего прогрессирования / рецидива в течение 24 месяцев после начала лечения (POD24) исследователями из Германии была разработана его упрощенная версия – POD24-PI (прогностический индекс POD24). Чувствительность M7-FLIPI для прогнозирования POD24 у пациентов из когорт GLSG (151 пациент из исследования Немецкой исследовательской группы) и BCCA (107 пациентов из популяционного регистра Британской Колумбии) составила 61% и 43% соответственно. Полученная модель включает индекс FLIPI, а также мутационный статус 3 генов: EP300, FOXO1 и EZH2. Примечательно, что коэффициент b для фактора «мутация гена EZH2» равнялся $-0,42$, что говорит о благоприятном прогнозе при наличии мутации. Чувствительность POD24-PI для когорт GLSG и BCCA составила 78% и 61% соответственно, при незначительном снижении специфичности [13]. Однако несмотря на определенные преимущества, одним из существенных ограничений M7-FLIPI является стоимость генетического исследования и его недоступность в рутинной клинической практике.

Патогенетическую важность мутаций гена EZH2 подтверждает одобрение Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) в 2020 г. первого перорального селективного ингибитора EZH2 – таземетостата у пациентов с ФЛ во второй и более линии терапии [14].

Несмотря на ключевую роль эпигенетических изменений и количество мутировавших генов в этом пути, мутации гена EZH2 остаются наименее изученным и в то же время важным аспектом патогенеза ФЛ, что подтверждается эффективностью недавно одобренного таргетного препарата. Принимая во внимание вышесказанное, а также учитывая противоречивые литературные данные относительно прогностической роли мутаций гена EZH2, нами было инициировано исследование, позволяющее оценить частоту встречаемости мутаций гена EZH2 в российской когорте пациентов и их влияние на особенности клинического течения ФЛ.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить распространенность и прогностическую значимость мутаций гена EZH2 у пациентов с фолликулярной лимфомой.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 111 пациентов, проходивших лечение в гематологической клинике ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА» и других гематологических отделениях лечебных учреждений г. Санкт-Петербурга в период с 2007 по 2022 г. В исследование включались все пациенты старше 18 лет и с общесоматическим статусом ECOG, равным 0–3, с морфологически подтвержденной ФЛ, у которых имелись в дебюте или появились в процессе наблюдения показания для начала специфической терапии (GELF-критерии). Среди них было 73 женщины (65,8%) и 38 мужчин (34,2%), соотношение М:Ж составило 1,9:1 соответственно. Средний возраст пациентов равнялся 55,2 года (95% ДИ: 52,5–57,9; медиана 56,0 года). Медиана наблюдения составила 34,3 месяца (16,9–46,2). Критериями исключения являлись тяжелый общесоматический статус (ECOG 4) и ожидаемая продолжительность жизни менее 3 месяцев.

Обследование и лечение пациентов проводилось в соответствии с Национальными клиническими рекомендациями. Мутационный статус 16-го экзона гена EZH2 оценивали с помощью секвенирования по Сэнгеру. Перестройки генов BCL2, BCL6, а также del17p/TP53 определяли методом флюоресцентной in situ гибридизации (FISH).

Полученные данные анализировались с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics 26.0.0.0, Microsoft Excel 16.69.1 (for Mac), R version 4.2.2. Все количественные переменные проверены на нормальность распределения по критериям Шапиро – Уилка и Колмогорова – Смирнова. Параметрические данные анализировались с помощью t-критерия Стьюдента, непараметрические – с помощью U-критерия Манна – Уитни. Независимые категориальные данные сравнивали с использованием критерия χ^2 -квадрат Пирсона, в случае малых выборок – точного двустороннего теста Фишера. Пороговые значения количественных переменных определялись с помощью ROC-анализа.

Парный корреляционный анализ в случае нормального распределения проводили методом Пирсона, в иных случаях – методом Спирмена. Для прогнозирования значения бинарной переменной проводили анализ логистической регрессии с последующей оценкой модели методом ROC-анализа. Анализ выживаемости проводили с использованием метода Каплана – Майера с применением лог-ранг теста для оценки достоверности различий. Зависимость времени дожития от независимых переменных оценивали с помощью однофакторного и многофакторного регрессионного анализа Кокса. Уровень значимости считали равным $p \leq 0,05$. Непараметрические данные представлены в виде Me (межквартильный размах), частоты – относительное значение, выраженное в процентах, с указанием 95%-го доверительного интервала (95% ДИ).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика исследуемой группы. Диагноз был морфологически подтвержден у всех ($n=111$) пациентов. Согласно данным гистологического исследования ($n=104$) опухолевого биоптата склероз стромы отмечался у 8 (7,7%) пациентов, бластоидная морфология – у 32 (30,2%). В 60 (57,7%) образцах тканей клеточный состав был полиморфным, в 27 (26,0%) – отмечались крупные клетки, в 16 образцах (15,4%) – мелкие клетки. Многоядерные формы были выявлены у 15 (14,4%) пациентов. По результатам гистологического исследования преимущественно наблюдался фолликулярный тип роста и был характерен для 92 (88,5%) образцов, диффузный тип отмечался в 5 (4,8%) случаях, смешанный – в 7 (6,7%).

Экспрессия CD20 по данным иммуногистохимического исследования (ИГХ) была характерна для всех образцов тканей, экспрессия CD10 отмечалась в 77 (80,2%) случаях, CD23 – в 64 (66,7%), Bcl-2 – в 83 (86,5%), Bcl-6 – в 68 (70,8%), во всех образцах отсутствовала экспрессия Cyclin D1, $n=96$. Медиана индекса пролиферативной активности Ki-67 составила 30% (15–56), $n=61$.

Поражение костного мозга по данным гистологического исследования наблюдалось у 59 (53,2%) пациентов. Таким образом, по результатам морфологических исследований у 11 (9,9%) пациентов был верифицирован 1-й цитологический тип, у 64 (57,7%) – тип 2, у 23 (20,7%) – тип 3А, у 13 (11,7%) пациентов отмечался 3В цитологический тип.



Таргетные очаги оценивались в соответствии с рекомендациями Лугано (2014). Медиана объема опухолевой массы, измеренная с помощью компьютерной томографии (в том числе ПЭТ-КТ) и определяемая как сумма произведений перпендикулярных диаметров 6 таргетных очагов (SPD – sum of the product of perpendicular diameters), составила 5082 см² (2923–9258; среднее значение 7297 см², n=90). Селезеночный индекс (СИ) был равен 584 см³ (443–952; среднее значение 851 см³, n=80). Экстранодальные поражения отмечались у 32 (28,8%) пациентов. Медиана количества пораженных опухолевым процессом очагов (по данным ПЭТ-КТ и гистологического исследования) равнялась 5 (2–7). По результатам стадирования (Ann Arbor) у 3 (2,7%) пациентов отмечалась I стадия заболевания, у 7 (6,3%) – II стадия, у 31 (27,9%) – III стадия, у 70 (63,1%) пациентов была верифицирована IV стадия.

Медиана уровня гемоглобина составила 134 г/л (109–151; среднее значение 130 г/л), среднее значение уровня эритроцитов – $4,42 \times 10^{12}$ /л (95% ДИ: 4,31–4,54), медиана гематокрита – 39,0% (32,8–45,2; среднее значение 38,6%), медиана количества тромбоцитов равнялась 218×10^9 /л (106–330; среднее значение 240×10^9 /л). Показатели лейкоцитарной формулы у абсолютного большинства пациентов находились в пределах референтных значений. Медианное значение СОЭ равнялось 12 мм/ч (7–24; среднее значение 16 мм/ч). Все биохимические показатели были оценены у 107 пациентов. Медиана ЛДГ составила 221 Ед/л (174–329; среднее значение 264 Ед/л), b2-микрोगлобулина – 5,40 мг/л (3,32–7,26; среднее значение 5,53 мг/л).

Распределение пациентов по группам риска в зависимости от прогностического индекса составило: FLIPI – n=106 (низкий – 8,5%, промежуточный – 29,2%, высокий – 62,3%), FLIPI-2 – n=94 (низкий – 19,2%, промежуточный – 40,4%, высокий – 40,4%).

Исследование перестроек гена BCL2 методом FISH было оценено у 82 пациентов, изменения выявлены у 34 (41,5%) человек. Исследование перестроек гена BCL6 и делеция del17p/TP53 были выполнены 89 и 85 пациентам соответственно. Изменения гена BCL6 отмечались у 13 (14,6%) пациентов, del17p/TP53 – у 13 (15,3%).

У всех пациентов, включенных в исследование, имелись или в процессе наблюдения появились показания к началу специфической терапии (GELF-критерии): поражение более 3 лимфатических зон размерами 3 см или более в диаметре обусловило начало специфической терапии у 77 (69,4%) пациентов, любое образование 7 см и более в диаметре (bulky) – у 44 (39,6%), наличие В-симптомов – у 53 (47,7%), спленомегалия – у 47 (42,3%), плеврит и/или асцит – у 18 (16,2%), лейкоэмический состав крови – у 16 (14,4%), цитопения – у 3 (2,7%) пациентов. Медиана времени наблюдения (с момента постановки диагноза до начала терапии 1-й линии) составила 1,7 месяца (максимальное время наблюдения 5,5 года). В качестве терапии 1-й линии иммунохимиотерапия по протоколу R-CHOP была проведена у 52 (46,8%) пациентов, RB – у 37 (33,3%), ритуксимаб в монорежиме – у 11 (9,9%), GB (обинутузумаб, бендамустин) – у 8 (7,2%), другие ритуксимабсодержащие схемы терапии – у 3 (2,7%) пациентов.

Поддерживающая терапия проводилась у 84 (58,3%) пациентов (у 80 больных применялась поддерживающая терапия ритуксимабом, у 4 – обинутузумабом). Медиана количества циклов поддерживающей терапии составила 12 (10-й и 90-й перцентили: 4; 12). Медиана количества линий терапии равнялась 1 (максимум 4). Терапия 2-й линии была проведена у 38 (26,4%) пациентов, наиболее часто используемыми режимами во 2-й линии были: RB – 15 (40%), R-CHOP – 7 (18%), GB – 7 (18%) и другие (R-DHAP, R-GDP, R-Duvelisib и др.) – 9 (24%), рис. 1.

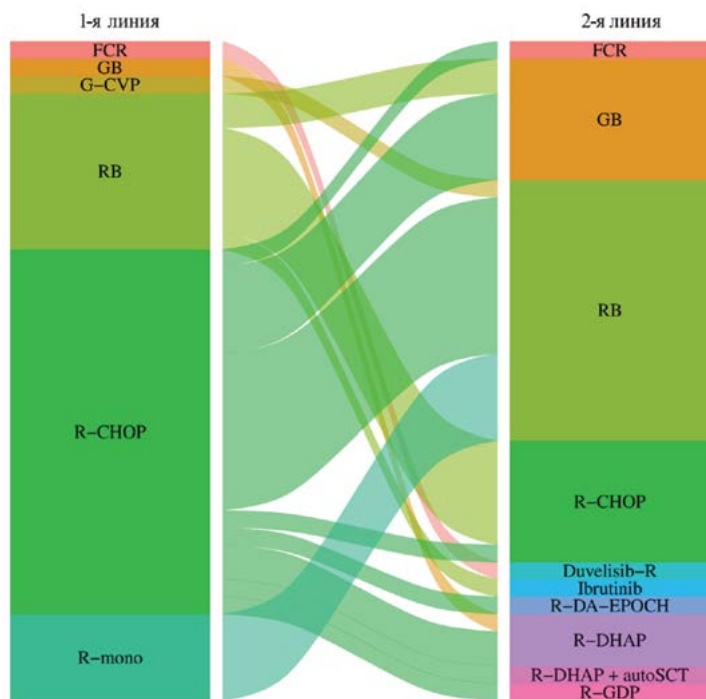


Рис. 1. Диаграмма Sankey, характеризующая последовательность лечения пациентов с ФЛ в исследуемой выборке (1-й столбец – 1-я линия терапии, 2-й столбец – 2-я линия терапии)
Fig. 1. Sankey diagram characterizing the sequence of treatment of patients with FL in the study sample (1st column – 1st line of therapy, 2nd column – 2nd line of therapy)

Прогностическая значимость мутации гена EZH2. Анализ мутаций гена EZH2 методом секвенирования по Сэнгеру был выполнен у всех пациентов, включенных в исследование (n=111). Частота мутаций составила 17,1% (n=19). У всех пациентов отмечалась миссенс-мутация замены аминокислоты тирозин в 646-м положении (p.Y646X). Клиническая характеристика пациентов в зависимости от мутационного статуса гена EZH2 (дикий тип и мутация) представлена в табл. 1.

У пациентов из группы дикого типа (контрольная группа) частота 3-го цитологического типа (3А и 3В) составила 37,0%, что достоверно выше, чем у пациентов с мутацией гена EZH2 – 10,5%, $p=0,025$. Обе группы достоверно различались по уровню экспрессии CD10 ($p=0,036$), также в группе с мутацией гена EZH2 отмечалась тенденция к снижению экспрессии Bcl-6 ($p=0,068$).

У пациентов с мутацией EZH2 чаще отмечались перестройки гена BCL2 (FISH) – 60,0% (95% ДИ: 24,5–71,1) против 39,0% (95% ДИ: 23,2–43,2) в группе дикого типа, однако различия статистически незначимы ($p=0,159$). Частота наличия перестроек генов BCL6 (FISH) и del17p/TP53 (FISH) в обеих группах достоверно не различалась, $p=0,454$ и $0,685$ соответственно.



Таблица 1
Общая характеристика пациентов с ФЛ перед началом терапии в зависимости от мутационного статуса гена EZH2
Table 1
General characteristics of patients with FL before the start of therapy, depending on the mutational status of the EZH2 gene

Параметр	Дикий тип (n=92)	Мутация (n=19)	p
Возраст			
Медиана, лет	57,5 (36,0; 71,0)	48,0 (26,0; 72,0)	0,125
ECOG			
0–1	69 (75,8%)	17 (89,5%)	0,237
≥2	22 (24,2%)	2 (10,5%)	
Цитологический тип			
1–2	58 (63,0%)	17 (89,5%)	0,025*
3A–3B	34 (37,0%)	2 (10,5%)	
GELF-критерии			
Bulky disease	37 (40,2%)	7 (36,8%)	1,000
Поражение ≥3 лимф. зон, размерами ≥3 см	62 (67,4%)	15 (78,9%)	0,418
Спленомегалия	39 (42,4%)	8 (42,1%)	1,000
B-симптомы	47 (51,1%)	6 (31,6%)	0,138
Плеврит и/или асцит	15 (16,3%)	3 (15,8%)	1,000
Цитопения	2 (2,2%)	1 (5,3%)	0,434
Лейкемический состав крови (опухолевые клетки >5,0×10 ⁹ /л)	13 (14,1%)	3 (15,8%)	1,000
Поражение костного мозга	49 (53,3%)	10 (53,2%)	1,000
Экстранодальные поражения	26 (28,3%)	6 (31,6%)	0,785
Стадия (Ann Arbor)			
I	3 (3,3%)	0 (0,0%)	0,704
II	6 (6,5%)	1 (5,3%)	
III	24 (26,1%)	7 (36,8%)	
IV	59 (64,1%)	11 (57,9%)	
Клинический анализ крови			
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л	6,2 (3,4; 16,8)	6,9 (2,9; 38,2)	0,776
Гемоглобин, г/л	134 (102; 151)	132 (113; 159)	0,512
Тромбоциты, ×10 ⁹ /л	234 (138; 387)	207 (128; 355)	0,539
Лимфоциты, ×10 ⁹ /л	1,5 (0,7; 9,6)	2,4 (0,6; 31,4)	0,357
СОЭ, мм/ч	13 (5; 41)	7 (2; 27)	0,104
Биохимические показатели			
β2-микроглобулин, мг/л	5,2 (2,2; 8,7)	6,2 (1,5; 10,9)	0,379
ЛДГ, Ед/л	222 (149; 465)	203 (137; 390)	0,355
ИГХ-исследование			
CD10	61 (76,3%)	16 (100,0%)	0,036*
CD23	54 (67,5%)	10 (62,5%)	0,774
Bcl-2	68 (85,0%)	15 (93,8%)	0,688
Bcl-6	60 (75,0%)	8 (50,0%)	0,068
Ki-67	30 (10; 84)	20 (10; –)	0,332
FISH			
BCL2	30 (39,0%)	9 (60,0%)	0,159
BCL6	10 (13,5%)	3 (20,0%)	0,454
del17p/TP53	12 (16,9%)	1 (7,1%)	0,685

Примечание: * различия между группами достоверны, p≤0,05.

Обе группы значимо не различались по степени риска в соответствии с прогностическими индексами FLIPI ($p=0,848$) и FLIPI-2 ($p=0,671$).

В группе дикого типа гена EZH2 42 (59,2%) пациента получали терапию R-CHOP и 29 (40,8%) – терапию RB, оставшийся 21 человек лечился по другим схемам, из которых режим GB применялся у 8 (8,7%) пациентов, ритуксимаб в монорежиме – у 10 (10,9%). В группе с мутацией EZH2 10 (55,6%) пациентов получали иммунохимиотерапию R-CHOP, 8 (44,4%) человек лечилось по схеме RB. С целью сохранения однородности групп для дальнейшего сравнения в анализ включались только пациенты, получившие исключительно режимы RB и R-CHOP (71 пациент в группе дикого типа и 18 пациентов в группе с мутацией), табл. 2. Соотношение проводимой терапии значимо не различалось в обеих группах (RB/R-CHOP), $p=0,795$.

Медиана SPD после окончания терапии 1-й линии у пациентов с мутацией гена EZH2 составила 1204 cm^2 (458–7989), редукция объема опухолевой массы по динамике изменения SPD равнялась –75,8% (–89,5; –48,3). В группе дикого типа SPD после лечения составила 585 cm^2 (298–2882), а редукция опухолевой массы равнялась –87,3% (–96,2; –35,4), что лучше, чем в группе с мутацией гена EZH2, $p=0,029$ и 0,091 соответственно, рис. 2. Однако, несмотря на данное обстоятельство, у пациентов с наличием мутации гена EZH2 выживаемость была достоверно выше, чем у пациентов из группы дикого типа, что будет продемонстрировано далее.

Подробное описание показателей, характеризующих опухолевую массу, представлено в табл. 3.

У пациентов с мутацией гена EZH2 отмечались достоверно лучшие показатели выживаемости, табл. 4. Общая 2-летняя выживаемость не различалась в обеих группах,

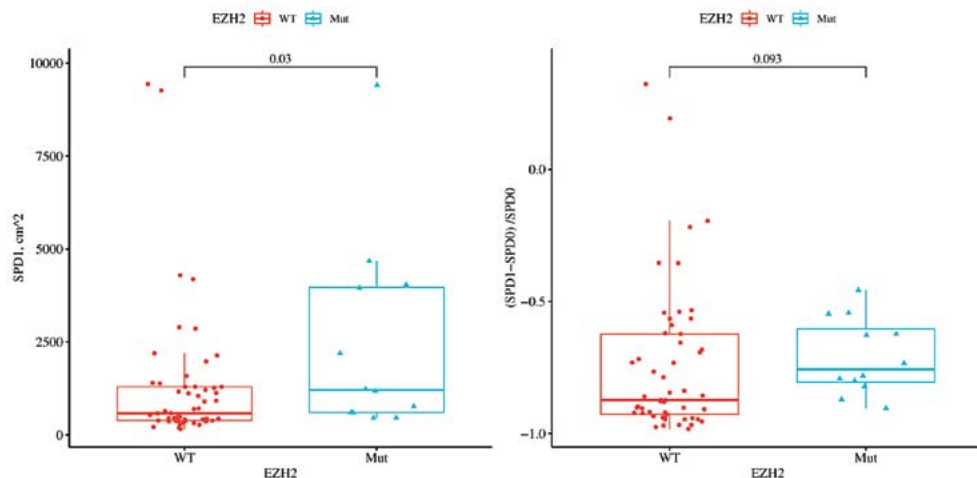


Рис. 2. Значение SPD (cm^2) после окончания индукционного этапа лечения – SPD1 и динамика SPD (%) у пациентов с ФЛ в зависимости от наличия мутации в гене EZH2 (группа дикого типа – WT; группа мутации – Mut)

Fig. 2. SPD value (cm^2) after the end of the induction stage of treatment – SPD1 and SPD dynamics (%) in patients with FL depending on the presence of a mutation in the EZH2 gene (wild type group – WT; mutation group – Mut)



Таблица 2
Результаты терапии (R-CHOP и RB) в группе с мутацией гена EZH2 и в группе без мутации (дикий тип)
Table 2
Results of therapy (R-CHOP and RB) in the group with the EZH2 gene mutation and in the group without the mutation (wild type)

Параметр	Дикий тип (n=71)	Мутация (n=18)	p
Время, месяцев: медиана (10-й; 90-й процентиля)			
Длительность наблюдения	45 (15; 458)	56 (14; 332)	0,850
Время до ЧО	3,8 (1,9; 7,3)	2,8 (1,4; НД)	0,069**
Длительность ЧО	10,4 (3,8; 32,8)	20,1 (2,7; НД)	0,762
Время до ПО	5,1 (2,8; 15,7)	4,7 (1,7; 54,0)	0,824
Длительность ПО	20,1 (5,8; 56,1)	29,8 (6,6; 61,8)	0,189
Время до ЧОО	3,9 (2,6; 11,9)	3,0 (1,5; 6,0)	0,053**
Длительность ЧОО	14,2 (0; 48,0)	28,7 (0,2; 69,5)	0,044*
Время до прогрессирования	9,2 (1,7; 18,8)	8,6	0,665
Время до рецидива	26,7 (9,0; 88,6)	8,6	0,571
Частоты (%)			
ЧО	30 (42,3%)	9 (50,0%)	0,602
ПО	41 (57,7%)	14 (77,8%)	0,175
ЧОО	62 (87,3%)	17 (94,4%)	0,680
Частота прогрессирования	19 (26,8%)	1 (5,6%)	0,063**
Частота рецидивов	13 (18,3%)	1 (5,6%)	0,284
Частота трансформаций	1 (1,4%)	0 (0,0%)	–
Частота всех событий***	33 (46,5%)	2 (11,1%)	0,012*

Примечания: ПО – полный ответ, ЧО – частичный ответ, ЧОО – частота общих ответов; * различия между группами достоверны, $p \leq 0,05$; ** отмечены различия с уровнем значимости $p < 0,1$; *** прогрессирование, рецидив, трансформация, смерть.

$p=0,429$, однако длительность 2-летних ВБП, выживаемости без рецидива (ВБР) и бес-событийной выживаемости (БСВ) была достоверно выше в группе с мутацией гена EZH2. В исследуемой группе 2-летняя ВБП составила 84,2% (95% ДИ: 60,4–96,6; медиана не достигнута), что значимо выше, чем в группе дикого типа – 45,8% (95% ДИ: 45,8–66,8; медиана не достигнута), $p=0,04$. Аналогичные результаты были получены в отношении ВБР, которая у пациентов с мутацией составила 92,9% (95% ДИ: 74,0–99,9; медиана не достигнута), а в контрольной группе – 56,8% (95% ДИ: 45,8–66,8; медиана не достигнута), $p=0,024$. БСВ также значимо различалась между группами и у пациентов с мутацией гена EZH2 равнялась 84,2% (95% ДИ: 60,4–96,6; медиана не достигнута), у пациентов с вариантом аллеля дикого типа – 48,6% (95% ДИ: 38,3–59,6; медиана 23,1 месяца), $p=0,011$.

Анализ 5-летней выживаемости продемонстрировал более высокую степень достоверности различий между исследуемыми группами. Показатели 5-летней выживаемости пациентов с мутацией гена EZH2 соответствовали 2-летним значениям, за исключением безрецидивной выживаемости: у пациента FL042 отмечался рецидив через 53,8 месяца после достижения полной ремиссии, что существенно повлияло на конечный результат, учитывая малый объем выборки. Так, 5-летняя ВБР у пациентов из группы мутации EZH2 составила 61,9% (95% ДИ: 38,4–83,7; медиана не достигнута), в группе дикого типа – 31,7% (95% ДИ: 22,2–42,0; медиана 47,2 месяца), $p=0,015$.

Таблица 3
Объем опухолевой массы (SPD) и селезеночный индекс до (0) и после окончания терапии 1-й линии (1) в зависимости от мутационного статуса гена EZH2
Table 3
Tumor mass volume (SPD) and spleen index before (0) and after the end of 1st line therapy (1) depending on the mutational status of the EZH2 gene

Параметр	Дикий тип (n=71)	Мутация (n=18)	p
СИ0, см ³	599 (380; 1928)	580 (252; 2017)	0,604
СИ1, см ³	490 (313; 837)	403 (220; 1191)	0,256
Дельта СИ, %	-8,3 (-59,7; 1,0)	-24,8 (-56,2; -4,5)	0,108
SPD0, см ²	5315 (1280; 17233)	4848 (1821; 19 400)	0,988
SPD1, см ²	585 (298; 2882)	1204 (458; 7989)	0,029*
Дельта SPD, %	-87,3 (-96,2; -35,4)	-75,8 (-89,5; -48,3)	0,091

Примечания: СИ – селезеночный индекс, SPD – сумма произведений перпендикулярных диаметров; * различия между группами достоверны, p≤0,05.

Таблица 4
Показатели выживаемости у пациентов с ФЛ в зависимости от мутационного статуса гена EZH2
Table 4
Survival rates in patients with FL depending on the mutational status of the EZH2 gene

Параметр	Дикий тип (n=92)	Мутация (n=19)	p
Выживаемость, % (95% ДИ)			
2-летняя ОБ	81,7% (72,1–88,9)	89,5% (66,9–98,7)	0,429
5-летняя ОБ	50,0% (39,4–60,6)	89,5% (66,9–98,7)	0,035*
2-летняя ВБП	56,9% (45,8–66,8)	84,2% (60,4–96,6)	0,040*
5-летняя ВБП	35,1% (25,2–45,4) ^a	84,2% (60,4–96,6)	0,004*
2-летняя ВБР ¹	56,8% (45,8–66,8)	92,9% (74,0–99,9)	0,024*
5-летняя ВБР ¹	31,7% (22,2–42,0) ^b	61,9% (38,4–83,7)	0,015*
2-летняя БСВ	48,6% (38,3–59,6) ^c	84,2% (60,4–96,6)	0,011*
5-летняя БСВ	16,8% (9,4–25,5) ^c	84,2% (60,4–96,6)	<0,001*

Примечания: БСВ – бессобытийная выживаемость, ВБП – выживаемость без прогрессирования, ВБР – выживаемость без рецидива, ОБ – общая выживаемость; ¹ параметр оценивался только у 65 пациентов, достигших полного ответа; ^a медиана 5-летней ВБП – 32,0 месяца; ^b медиана 5-летней ВБР – 47,2 месяца; ^c медиана 5-летней БСВ – 23,1 месяца; * различия между группами достоверны, p≤0,05.

Кривые выживаемости пациентов с ФЛ в зависимости от мутационного статуса гена EZH2 представлены на рис. 3.

В однофакторном регрессионном анализе Кокса мутация гена EZH2 в отношении показателей 5-летней выживаемости выступала в качестве благоприятного прогностического признака (рис. 4). Наличие мутации снижает риск неблагоприятного события более чем в 4 раза (ОР<0,22, p<0,03) или риск смерти – в 4 раза (ОР=0,24, p=0,052).

Наихудший прогноз характерен для пациентов с наличием перестроек гена BCL2 (группа 2, n=47), а также для пациентов без генетических aberrаций – отсутствуют перестройки гена BCL2 и мутации гена EZH2 (группа 1, n=30). Пятилетняя ВБП у пациентов 2-й группы составила 32,0% (95% ДИ: 17,3–52,8), а у пациентов из 1-й группы – 44,3% (95% ДИ: 30,2–59,9), что достоверно хуже, чем у пациентов, имеющих только

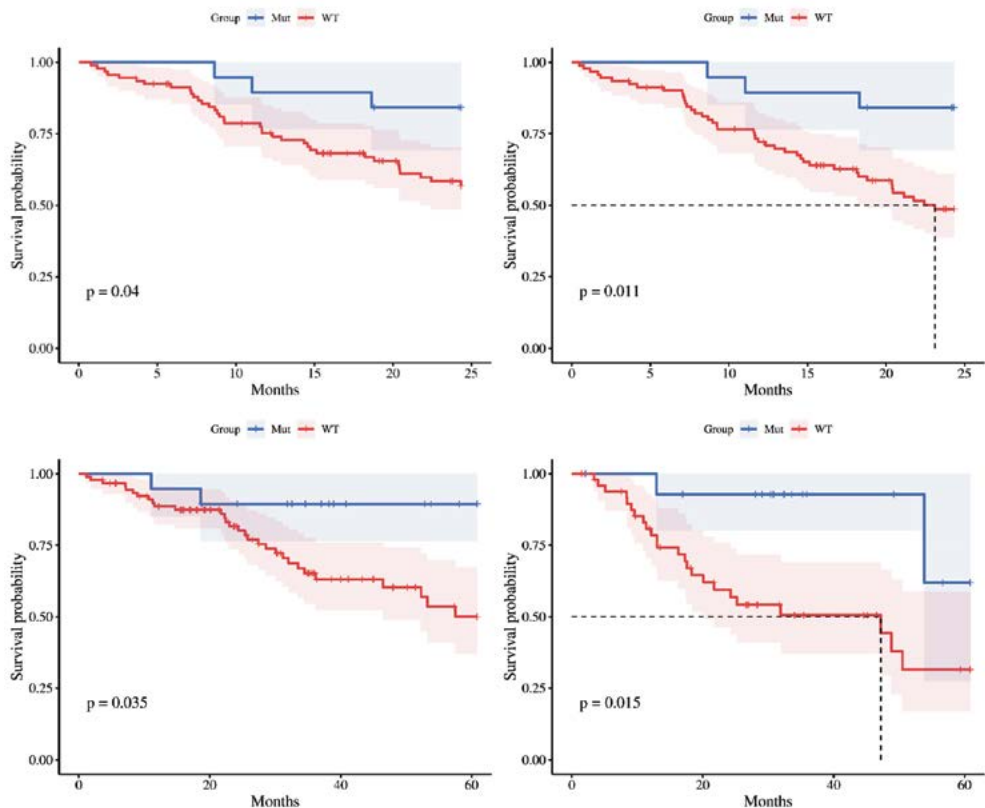


Рис. 3. Двухлетние беспрогрессивная и бессобытийная и 5-летние общая и безрецидивная выживаемость соответственно у пациентов с фолликулярной лимфомой в зависимости от мутационного статуса гена EZH2 (группа дикого типа – WT; группа мутации – Mut)
Fig. 3. 2-year progression-free and event-free and 5-year overall and relapse-free survival, respectively, in patients with follicular lymphoma, depending on the mutational status of the EZH2 gene (wild-type group – WT; mutation group – Mut)

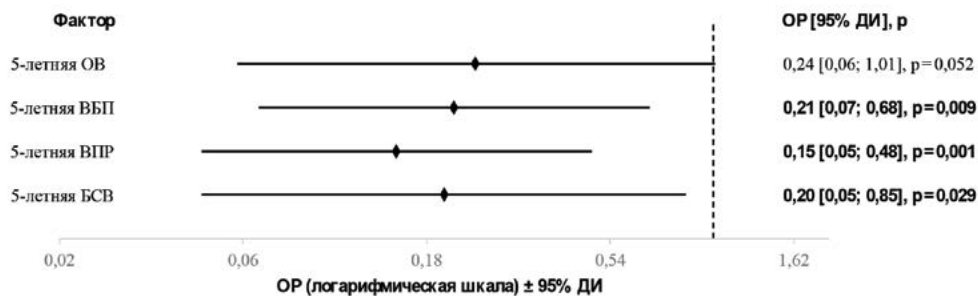


Рис. 4. Относительный риск для мутации гена EZH2 в отношении показателей 5-летней выживаемости (высокий риск >1,0; низкий риск <1,0)
Fig. 4. Relative risk for EZH2 mutation in relation to 5-year survival rates (high risk >1.0; low risk <1.0)

мутацию в гене EZH2 (группа 3, $n=6$) – 100%, $p=0,041$ и $p=0,017$ соответственно. Пациенты с сочетанием перестроек гена BCL2 с мутацией в гене EZH2 (группа 4, $n=9$) характеризуются промежуточным прогнозом, 5-летняя ВБП в данной группе составила 66,7% (95% ДИ: 29,9–92,5), что значимо не отличается от выживаемости в других группах: $p=0,538$ (против группы 1), $p=0,247$ (против группы 2), $p=0,104$ (против группы 3). Аналогичные результаты были получены также в анализе 5-летней БСВ. Оценка безрецидивной выживаемости не проводилась по причине малого количества пациентов в выборке ($n=54$) и низкой частоты событий.

Проведенный анализ главных компонент (рис. 5) с включением 4 параметров (возраст, уровень лейкоцитов, ЛДГ и $\beta 2$ -микроглобулин) продемонстрировал, что пациенты из 3-й группы (только мутация гена EZH2) характеризуются более низкими уровнями данных показателей и меньшим разбросом значений по сравнению с пациентами из 2-й и 4-й групп, представляя собой достаточно обособленный кластер (но имеющий высокую долю перекрытия с пациентами из 1-й группы).

У пациентов с мутацией гена EZH2, а также у пациентов из контрольной группы по данным анализа 5-летней выживаемости (ОВ, ВБП, БСВ) не было получено преимуществ в использовании какого-либо режима терапии – R-CHOP против RB, $p>0,1$.

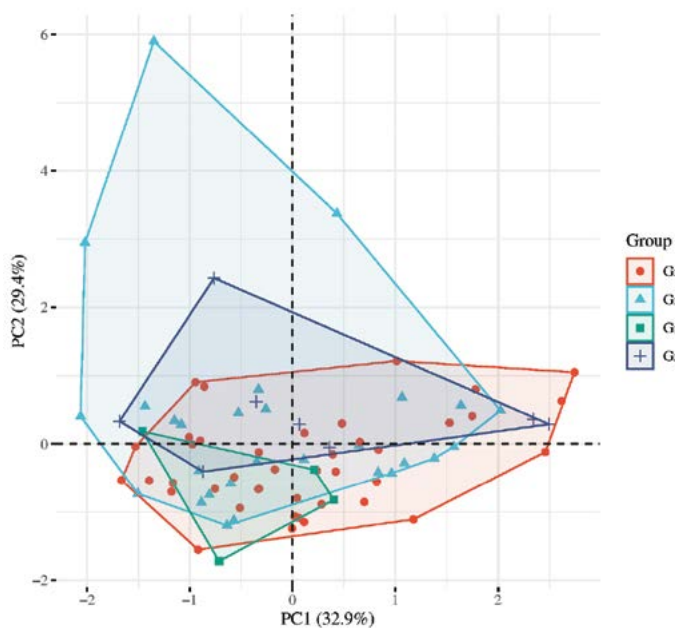


Рис. 5. Результаты анализа главных компонент с включением 4 переменных (возраст, лейкоциты, ЛДГ, $\beta 2$ -микроглобулин) у пациентов с ФЛ в зависимости от наличия перестроек гена BCL2 (группа 2), мутации гена EZH2 (группа 3), их сочетания (группа 4) или без указанных генетических изменений (группа 1)

Fig. 5. Results of principal component analysis with the inclusion of 4 variables (age, leukocytes, LDH, $\beta 2$ -microglobulin) in patients with FL, depending on the presence of rearrangements in the BCL2 gene (group 2), mutations in the EZH2 gene (group 3), their combinations (group 4) or without the specified genetic changes (group 1)



■ ОБСУЖДЕНИЕ

Частота мутаций 16-го экзона гена EZH2, оцененная с помощью секвенирования по Сэнгеру, в нашем исследовании составила 17,1%, что соответствует ранее опубликованным данным – 7–28%. Недавно были представлены результаты отечественного исследования с включением 80 пациентов с впервые диагностированной ФЛ 1–3А цитологического типа, у 10 (13%) из которых была выявлена мутация 16-го экзона гена EZH2 [15, 16]. Авторы проводили оценку полиморфизма гена EZH2 и установили, что генотип GG полиморфизма rs2072407 в гене EZH2 является значимым благоприятным прогностическим фактором. В соответствии с нашими данными для пациентов с аллелем дикого типа гена EZH2 была характерна более высокая степень редукции опухолевой массы на фоне терапии R-CHOP и RB, по сравнению с пациентами из группы с мутацией. Сравнение эффективности терапии (R-CHOP + RB) в группах дикого типа и мутации продемонстрировало улучшение результатов лечения в последней: более высокая частота общих ответов ($p=0,044$) и низкая вероятность неблагоприятных событий ($p=0,012$). Также отмечалась тенденция в виде сокращения времени достижения ЧО ($p=0,069$), времени до ЧОО ($p=0,053$) и снижения частоты прогрессирований ФЛ в группе с мутацией гена EZH2 ($p=0,063$).

По данным анализа выживаемости мутация гена EZH2 выступала в качестве благоприятного прогностического признака. Была продемонстрирована высокая степень достоверности различий, в частности в анализе 5-летней ВБП ($p=0,004$) и 5-летней БСВ ($p<0,001$). Полученные результаты согласуются с ранее опубликованными данными, в соответствии с которыми мутации гена EZH2 связаны с более длительной ВБП [11] у пациентов, получавших в качестве индукционной терапии R-CHOP/CVP, однако аналогичные результаты не были подтверждены у пациентов, принимающих терапию на основе бендамустина. В недавнем исследовании авторы подтвердили более высокую эффективность R-CHOP у пациентов с мутацией гена EZH2, что проявляется в низкой частоте рецидивов и более длительной ОВ, в то время как у пациентов с вариантом аллеля дикого типа предпочтительнее использовать терапию RB [17]. Нами проводилась сравнительная оценка эффективности режимов R-CHOP и RB в группе пациентов с мутацией гена EZH2 ($n=18$), которая продемонстрировала полное отсутствие межгрупповых различий ($p>0,682$), вероятно, по причине различий в выборках, что требует дальнейшего наблюдения и накопления новых данных.

Относительный риск наличия мутации гена EZH2 по данным однофакторного регрессионного анализа в нашем исследовании составил $<0,22$ ($p<0,03$). Таким образом, наличие мутации достоверно снижает риск наступления неблагоприятного события в >4 раза, что согласуется с данными, полученными в исследовании по M7-FLIP1, в котором ОР в отношении выживаемости, свободной от неудач лечения, равнялся 0,46 ($p=0,03$) [10].

В последнее время также было опубликовано несколько исследований, подтверждающих благоприятный прогноз у пациентов с мутацией гена EZH2. В анализе, включившем 159 пациентов с ФЛ из исследования PRIMA (NCT00140582), оценивалось влияние мутации и усиление функции EZH2 на ВБП. Наличие изменения (усиление и/или мутации) в гене EZH2 оказывало благоприятное влияние на ВБП ($p=0,026$). У пациентов без изменений гена EZH2 средняя ВБП составила 58 месяцев, тогда как у пациентов с изменением статуса EZH2 средняя ВБП не была достигнута. Скорость 2-летнего прогрессирования в группе пациентов с изменением функциональной

активности EZH2 составила 15% (95% ДИ: 9–28) и увеличивалась до 31% (95% ДИ: 23–41) у пациентов с нормальным EZH2 ($p=0,036$). В многомерной регрессионной модели Кокса, которая включала мутационный статус EZH2 и расчет индекса FLIPI, наличие изменений гена EZH2 оставалось единственным независимым фактором, значимо связанным с лучшей ВБП (ОШ 0,58, 95% ДИ: 0,36–0,93, $p=0,025$) [18]. Авторы исследования продемонстрировали, что мутации гена EZH2 встречались с частотой 29%, а амплификация локуса 7q36.1 была обнаружена у 15% пациентов и не коррелировала с мутационным статусом. Всего 37% пациентов имели какое-либо изменение гена EZH2.

Другое исследование с включением 99 пациентов с ФЛ показало, что аллель дикого типа гена EZH2, увеличение числа копий 18-й хромосомы, снижение числа CD8⁺-клеток и CD163⁺-макрофагов ассоциируется с ранней неудачей при использовании R-CHOP-подобных режимов [19].

Проведенное исследование имело несколько ограничений. Во-первых, это размер обследуемой когорты пациентов (всего 111 больных). Учитывая относительно низкую частоту мутации гена EZH2 – 17,1%, обе группы были несопоставимы по количеству пациентов (19 в группе с мутацией против 92 в контрольной группе). Во-вторых, это включение в исследование пациентов с 3А–3В цитологическим типом, что снижает однородность выборки. С другой стороны, установленная частота мутаций гена EZH2 наиболее полно отражает частоту данной генетической аберрации у пациентов с ФЛ в российской когорте, так как в исследование включались все пациенты вне зависимости от цитологического типа, стадии и прогностического риска с ECOG 3 и менее, у которых имелись в дебюте или появились в процессе наблюдения показания к началу терапии.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Частота мутаций гена EZH2 в российской когорте пациентов составляет 17,1%. У пациентов с мутацией гена EZH2 (Y646X) отмечается достоверно лучший прогноз по результатам анализа общей ($p=0,035$), беспрогрессивной ($p=0,004$), безрецидивной ($p=0,015$) и бессобытийной ($p<0,001$) выживаемости. Наличие данного фактора снижает риск смерти или иного неблагоприятного события (прогрессирование, рецидив, трансформация или смерть) в >4 раза ($p<0,03$). Мы также показали, что у пациентов с сочетанием перестроек гена BCL2 и мутаций EZH2 прогноз хуже, чем при наличии изолированной мутации. Способность изменять паттерн экспрессии генов в клетке является новой парадигмой в терапии онкологических заболеваний. А недавнее одобрение специфического ингибитора EZH2 таземетостата у пациентов с ФЛ, обладающего высокой эффективностью и благоприятным профилем токсичности, только подтверждает актуальность и своевременность исследований в данном направлении.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ambinder A.J., Shenoy P.J., Malik N. Exploring risk factors for follicular lymphoma. *Adv. Hematol.* 2012. doi: 10.1155/2012/626035.
2. Cerhan J.R. Epidemiology of Follicular Lymphoma. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* 2020;34(4):631–646. doi: 10.1016/j.hoc.2020.02.001.
3. Smith A., Crouch S., Lax S. Lymphoma incidence, survival and prevalence 2004–2014: sub-type analyses from the UK's Haematological Malignancy Research Network. *Br. J. Cancer.* 2015;112(9):1575–1584. doi: 10.1038/bjc.2015.94.
4. Krivolapov YU., Leenman E. *Morphological diagnosis of lymphomas*. SPb.: KOSTA. 2006: 208 p.



5. Okosun J., Bodor C., Wang J. Integrated genomic analysis identifies recurrent mutations and evolution patterns driving the initiation and progression of follicular lymphoma. *Nature Genetics*. 2014;46(2):176–181.
6. Simon J.A., Lange C.A. Roles of the EZH2 histone methyltransferase in cancer epigenetics. *Mutat. Res.* 2008;647(1–2):21–29.
7. Morin R.D., Johnson N.A., Severson T.M. Somatic mutations altering EZH2 (Tyr641) in follicular and diffuse large B-cell lymphomas of germinal-center origin. *Nat. Genet.* 2010;42:181–185.
8. Bodor C., O'Riain C., Wrench D. EZH2 Y641 mutations in follicular lymphoma. *Leukemia*. 2011;25(4):726–729.
9. Bodor C., Grossmann V., Popov N. EZH2 mutations are frequent and represent an early event in follicular lymphoma. *Blood*. 2013;122(18):3165–3168. doi: 10.1182/blood-2013-04-496893.
10. Pastore A., Jurinovic V., Kridel R. Integration of gene mutations in risk prognostication for patients receiving first-line immunochemotherapy for follicular lymphoma: a retrospective analysis of a prospective clinical trial and validation in a population-based registry. *Lancet Oncology*. 2015;16(9):1111–1122.
11. Jurinovic V., Passerini V., Oestergaard M.Z. Evaluation of the M7-FLIPI in patients with follicular lymphoma treated within the gallium trial: EZH2 mutation status may be a predictive marker for differential efficacy of chemotherapy. *Blood*. 2019;134(Suppl. 1):134.
12. Rai S., Inoue H., Sakai K. Decreased expression of T-cell-associated immune markers predicts poor prognosis in patients with follicular lymphoma. *Cancer Sci.* 2022;113:660–673.
13. Jurinovic V., Kridel R., Staiger A.M. Clinicogenetic risk models predict early progression of follicular lymphoma after first-line immunochemotherapy. *Blood*. 2016;128(8):1112–1120.
14. Morschhauser F., Tilly H., Chaidos A. Tazemetostat for patients with relapsed or refractory follicular lymphoma: an open-label, single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2020;21(11):1433–1442. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30441-1.
15. Nesterova E., Severina N., Biderman B. Identification of somatic mutations in the EZH2 gene and evaluation of their prognostic significance in follicular lymphoma of cytological type 1-3A. *Clinical Oncohaematology*. 2023;16(1):80–87.
16. Severina N., Nesterova E., Biderman B. EZH2 gene mutations and BCL-2 gene rearrangement in follicular lymphoma. *Bulletin of Haematology*. 2021;17(2):76–76.
17. Martínez-Laperche C., Sanz-Villanueva L., Díaz F.J. Crespo EZH2 mutations at diagnosis in follicular lymphoma: a promising biomarker to guide frontline treatment. *BMC Cancer*. 2022;22:982. doi: 10.1186/s12885-022-10070-z.
18. Huet S., Xerri L., Tesson B. EZH2 alterations in follicular lymphoma: biological and clinical correlations. *Blood Cancer J.* 2017;7(4):e555. doi: 10.1038/bcj.2017.32.
19. Stevens W.B.C., Mendelev M., Redd R. Prognostic relevance of CD163 and CD8 combined with EZH2 and gain of chromosome 18 in follicular lymphoma: a study by the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *Haematologica*. 2017;102(8):1413–1423. doi: 10.3324/haematol.2017.165415.