



<https://doi.org/10.34883/PI.2025.11.1.008>



Широких П.Г., Мотыко Е.В., Кириенко А.Н., Кустова Д.В., Мартынкевич И.С.✉
Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии
Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Генетическая диагностика хронического лимфоцитарного лейкоза

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: все авторы внесли существенный вклад в написание статьи

Подана: 30.01.2025

Принята: 03.03.2025

Контакты: mis2907@mail.ru

Резюме

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) – это медленно прогрессирующее злокачественное заболевание, поражающее В-лимфоциты. Патогенез ХЛЛ включает в себя генетические изменения, такие как мутации в генах *TP53*, *NOTCH1* и *SF3B1*, а также эпигенетические модификации, которые нарушают нормальные механизмы клеточного цикла и апоптоза, поддерживая выживание и пролиферацию малигнизированных клеток. Важную роль в этом процессе играет микроокружение костного мозга и лимфоидной ткани, поддерживающее клональную экспансию и выживание лейкозных клеток через сложные клеточные взаимодействия и сигнальные пути.

Генетическая диагностика ХЛЛ – это комплексное исследование генома на клеточном и молекулярном уровнях и включает в себя идентификацию не только хромосомного аппарата пациента, но и исследование мутационного статуса генов вариабельного района тяжелых цепей иммуноглобулинов, драйверных генов и эпигенетических регуляторов. Такое понимание патогенетических механизмов заболевания не только позволяет убедительно установить диагноз ХЛЛ, но и играет ключевую роль в принятии решения о начале терапии.

Эпигенетические изменения, такие как метилирование ДНК и модификация гистонов, лежат в основе патогенеза ХЛЛ, регулируя экспрессию генов, участвующих в поддержании лейкоэмических клеток и их резистентности к лечению. Нарушения в работе иммунной системы позволяют малигнизированным клеткам избегать иммунного надзора, способствуя их клональной экспансии.

Генетическая диагностика играет важную роль в разработке персонализированных терапевтических стратегий при ХЛЛ. Идентификация драйверных мутаций и эпигенетических маркеров позволяет разрабатывать подходы к лечению ХЛЛ с использованием таргетной терапии, улучшая прогноз и адаптируя лечение под индивидуальные особенности каждого пациента. Комплексный подход в диагностике и прогнозировании ХЛЛ включает использование широкого спектра методов, что позволяет точно оценить биологические особенности опухоли и прогнозировать течение заболевания. Один из ключевых аспектов – это определение мутационного статуса вариабельных районов тяжелых цепей иммуноглобулинов (*IGHV*). Пациенты с мутированными генами *IGHV* имеют более благоприятный прогноз по сравнению

с теми, у кого *IGHV* не мутирован. Этот показатель служит важным фактором при выборе тактики лечения и оценке риска прогрессирования заболевания.

Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) – это другой важный метод, который используется для выявления хромосомных аномалий, таких как делеции 17p, 11q, трисомия 12, которые могут влиять на прогноз ХЛЛ. Например, делеция 17p ассоциирована с мутациями гена *TP53* и значительно ухудшает прогноз, поскольку снижает эффективность стандартных методов терапии. Обнаружение делеции 17p или мутаций гена *TP53*, согласно современным клиническим рекомендациям, является аргументом для начала терапии у пациентов с ХЛЛ.

Молекулярно-генетические исследования (например, секвенирование следующего поколения) позволяют выявлять и другие молекулярно-генетические изменения, такие как мутации в генах *NOTCH1*, *SF3B1* и *BIRC3*, которые связаны с агрессивным течением заболевания и резистентностью к лечению. Определение этих мутаций становится все более актуальным для персонализации терапии.

Дополнительные методы, такие как оценка экспрессии белков ZAP-70 и CD38, также могут использоваться для более точной стратификации пациентов в группы прогноза. Высокая экспрессия этих маркеров обычно ассоциируется с более агрессивным течением ХЛЛ.

Таким образом, комплексная генетическая диагностика ХЛЛ позволяет получить более полное представление о биологии заболевания, что способствует более точному прогнозированию и выбору индивидуальной тактики лечения.

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз, генетические маркеры, генетическая диагностика, секвенирование нового поколения, FISH, цитогенетические исследования

Shirokih P., Motyko E., Kirienko A., Kustova D., Martynkevich I. ✉

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russia

Genetic Diagnosis of Chronic Lymphocytic Leukemia

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: all authors made a significant contribution to writing the article.

Submitted: 30.01.2025

Accepted: 03.03.2025

Contacts: mis2907@mail.ru

Abstract

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is a slowly progressing malignant disease affecting B-lymphocytes. The pathogenesis of CLL involves genetic and epigenetic changes, such as mutations in *TP53*, *NOTCH1*, and *SF3B1* genes, as well as epigenetic modifications that disrupt normal cell cycle and apoptosis mechanisms, supporting the survival and proliferation of malignant cells. The bone marrow and lymphoid tissue microenvironment play a crucial role in maintaining clonal expansion and survival of CLL cells through complex cellular interactions and signaling pathways.



Genetic diagnosis of CLL includes the identification of driver mutations and epigenetic markers, which have significant prognostic value and affect treatment response. Analysis of genetic abnormalities not only helps to better understand the mechanisms of disease development but also to develop new targeted therapeutic strategies aimed at specific molecular targets in CLL cells.

Epigenetic changes, such as DNA methylation and histone modifications, also contribute significantly to the pathogenesis of CLL by regulating the expression of genes involved in maintaining leukemic cells and their resistance to treatment. Immune system dysfunctions allow malignant cells to evade immune surveillance, promoting their clonal expansion.

Genetic diagnosis plays a crucial role in developing personalized therapeutic strategies. Identifying driver mutations and epigenetic markers allows for the development of new targeted approaches to treat CLL, improving prognosis and adapting therapy to the individual characteristics of each patient. A comprehensive analysis of modern data helps deepen the understanding of the pathogenesis of CLL and improve methods of its diagnosis and treatment.

The comprehensive approach to diagnosing and predicting CLL involves the use of a wide range of methods, allowing for an accurate assessment of the tumor's biological characteristics and disease prognosis. One of the key aspects is determining the mutational status of immunoglobulin genes (*IGHV*). Patients with mutated *IGHV* have a more favorable prognosis compared to those with unmutated *IGHV*. This indicator serves as an important factor in choosing treatment strategies and assessing the risk of disease progression.

Fluorescence in situ hybridization (FISH) is another crucial method used to identify chromosomal abnormalities, such as 17p and 11q deletions, and trisomy 12, which can impact the prognosis of CLL. For instance, 17p deletion is associated with *TP53* gene mutations and significantly worsens the prognosis by reducing the effectiveness of standard therapies.

Molecular genetic studies, such as next-generation sequencing, allow the detection of other important genetic alterations, such as mutations in the *TP53*, *NOTCH1*, *SF3B1*, and *BIRC3* genes, which are associated with aggressive disease progression and treatment resistance. Identifying these mutations is becoming increasingly important for personalized therapy.

Additional methods, such as assessing the expression of proteins ZAP-70 and CD38, can also be used for more precise patient stratification in terms of prognosis. High expression of these markers is usually associated with more aggressive CLL progression.

Thus, comprehensive CLL diagnostics provide a more complete understanding of the disease's biology, contributing to more accurate prognostication and personalized treatment strategies.

Keywords: chronic lymphocytic leukemia, genetic markers, diagnosis, next generation sequencing, FISH, cytogenetic studies

■ ПАТОГЕНЕЗ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА

Хронический лимфоцитарный лейкоз представляет собой медленно прогрессирующую форму лейкемии, поражающую лимфатическую систему. В Российской Федерации частота заболевания на 2017 г. составляла 2,95 случая на 100 тысяч человек с возрастной медианой установления диагноза 68 лет [1]. Симптомы часто незаметны на ранних стадиях заболевания, поскольку носят неспецифический характер (усталость, слабость, одышка, увеличение лимфатических узлов), и хронический характер процесса часто затрудняет его диагностику. К симптомам, характерным для более поздних стадий заболевания, относят лихорадку, значительную потерю веса и нарушения функций костного мозга, сопровождающиеся анемией, кровотечениями и повышенной восприимчивостью к инфекциям [2].

Развитие ХЛЛ представляет собой сложный и многоэтапный процесс, ведущий к увеличению численности клонов В-лимфоцитов [3]. Почти во всех случаях ХЛЛ предшествует моноклональный В-клеточный лимфоцитоз (МБКЛ), обнаруживаемый у 5–15% людей старше 40 лет благодаря точным иммунофенотипическим методам [4]. С возрастом риск МБКЛ увеличивается. МБКЛ возникает из-за сочетания факторов, включая генетические мутации, антигенную стимуляцию, воздействие микроокружения, эпигенетические изменения и цитогенетические нарушения, что ведет к формированию клонов лимфоцитов с ХЛЛ-подобным фенотипом. Тем не менее только в 1 случае из 100 МБКЛ прогрессирует до ХЛЛ, что связано с дополнительными генетическими аномалиями [4].

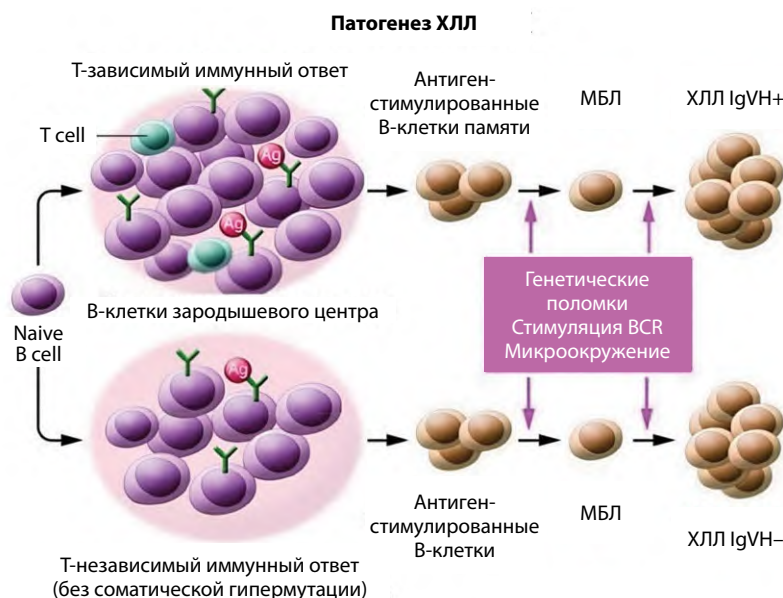


Рис. 1. Е.Н. Никитин. Хронический лимфоцитарный лейкоз. ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия». Слайд № 16. URL: <https://myslide.ru/presentation/xronicheskij-limfocitarnyj-lejkozxAfgbou-vo-izhevskaya-gosudarstvennaya-medicinskaya>

Fig. 1. E.N. Nikitin. Chronic lymphocytic leukemia. Izhevsk State Medical Academy. Slide № 16. URL: <https://myslide.ru/presentation/xronicheskij-limfocitarnyj-lejkozxAfgbou-vo-izhevskaya-gosudarstvennaya-medicinskaya>



В основе патогенеза ХЛЛ лежат 2 процесса: малигнизация и клональная экспансия клеток-предшественниц [3].

Малигнизация представляет собой многоступенчатый процесс, в ходе которого нормальные клетки претерпевают серию генетических и эпигенетических изменений, приводящих к их трансформации в раковые клетки. Эти изменения включают активацию онкогенов, инактивацию генов – опухолевых супрессоров, нарушения механизмов репарации ДНК и блок апоптоза (программируемой клеточной смерти). В результате наблюдаются митоген-независимая клеточная пролиферация, нарушения дифференцировки клеток и приобретение способности к инвазии и метастазированию.

Процесс малигнизации при ХЛЛ начинается с генетических аномалий в клетках – предшественниках В-лимфоцитов в костном мозге или лимфоидной ткани. Эти аномалии могут включать мутации в определенных генах или хромосомные aberrации. Например, мутации в гене *TP53*, который кодирует белок, участвующий в регуляции клеточного цикла и апоптоза, могут способствовать развитию малигнизации за счет потери контроля над делением клеток [5].

Важным моментом в запуске опухолевой трансформации является нарушение процесса апоптоза, что приводит к увеличению выживаемости аномальных В-лимфоцитов. Это может быть вызвано избыточной экспрессией белка BCL-2 (В-клеточная лимфома 2), который блокирует апоптоз и способствует аккумуляции лейкозных клеток.

Также важную роль играют изменения в микроокружении костного мозга и лимфоидной ткани, которые способствуют выживанию и пролиферации малигнизированных клеток. Например, взаимодействие между лейкозными клетками и стромальными клетками костного мозга может стимулировать выделение цитокинов и факторов роста, которые поддерживают рост и выживание лейкоэмических клеток.

Эпигенетические изменения, такие как метилирование ДНК и модификации гистонов, также играют ключевую роль в патогенезе ХЛЛ, регулируя экспрессию генов, важных для контроля клеточного цикла, апоптоза и дифференцировки клеток [6].

Важным моментом в процессе малигнизации является потеря контроля над клеточным циклом, что позволяет раковым клеткам обходить естественные барьеры, предотвращающие бесконтрольное деление. Эти изменения сопровождаются модификацией взаимодействия клеток с их микроокружением, что дополнительно способствует прогрессированию лейкоза. На этом фоне происходит инициация клональной экспансии – происхождение всех опухолевых клеток от единой клетки-предшественницы [3].

Клональность начинается с генетических мутаций в одной В-лимфоидной клетке-предшественнице [7]. Эти мутации могут затрагивать различные гены, включая те, что регулируют клеточный цикл, апоптоз и репарацию ДНК. Например, мутации в гене *TP53* могут приводить к нарушению механизмов репарации ДНК и контроля клеточного цикла, что делает клетки склонными к дальнейшим мутациям и клональной пролиферации [5]. Мутации также могут активировать сигнальные пути, которые стимулируют пролиферацию и выживание клеток. К примеру, активация сигнального пути BCR (В-cell receptor – рецептор В-клеток) или сигнального пути NOTCH1 может приводить к усиленному делению клеток и их уклонению от апоптоза [8]. Эти сигнальные пути помогают опухолевым клеткам обеспечивать себе преимущества в выживании по сравнению с нормальными клетками.

Микроокружение костного мозга играет ключевую роль в поддержке клональности и прогрессирования ХЛЛ. Взаимодействие между опухолевыми клетками и микроокружением регулируется сетью адгезионных молекул, лигандов и их рецепторов [9]. Эти взаимодействия способствуют выживанию и пролиферации опухолевых клеток, а также их уклонению от иммунного ответа. Малигнизированные клетки выделяют цитокины и хемокины, которые могут модифицировать микроокружение таким образом, чтобы оно способствовало их выживанию и росту. Взаимодействие между лейкоэмическими клетками и компонентами микроокружения через рецепторы на поверхности клеток и растворимые молекулы способствует поддержанию клональности.

Нарушения в работе иммунной системы, также вызванные мутациями в опухолевых клетках, позволяют им избегать иммунного надзора. Мутации могут изменять экспрессию антигенов на поверхности клеток или модулировать выделение иммуносупрессивных факторов, что уменьшает способность иммунной системы распознавать и уничтожать атипичные клетки. Это создает условия для беспрепятственного роста злокачественных клеток, дополнительно усиливая клональность при ХЛЛ.

Помимо генетических мутаций, эпигенетические изменения, такие как модификации ДНК и гистонов, также могут способствовать развитию и поддержанию клональности при ХЛЛ. Другие эпигенетические изменения – гиперметилирование или гипометилирование – могут влиять на экспрессию ключевых генов, участвующих в регуляции клеточного цикла, апоптоза и реакций на повреждения ДНК. Эти изменения могут привести к подавлению генов опухолевых супрессоров или активации онкогенов, способствуя клональной экспансии. Анализ эпигенома показал, что клетки ХЛЛ с немутированным статусом генов *IGHV* имеют более активный и открытый хроматин по сравнению с клетками с мутированными генами *IGHV*. Эти изменения могут влиять на активацию определенных клеточных сигнальных путей, таких как пути NFAT, FOX и TCF/LEF [10].

Также при ХЛЛ были идентифицированы специфические молекулы микроРНК, которые могут способствовать развитию и прогрессированию заболевания, регулируя гены, важные для клеточного цикла, апоптоза и сигнальных путей [11].

Опухолевые клетки при ХЛЛ часто приобретают механизмы, позволяющие им избегать апоптоза даже в условиях генетического повреждения или терапевтического воздействия. Например, мутации в гене *BCL2*, который кодирует белок, подавляющий апоптоз, могут привести к его избыточной экспрессии, что делает клетки более устойчивыми к гибели [12]. Это поддерживает выживание и рост клональной популяции клеток. Мутации и эпигенетические изменения, обеспечивающие клеткам селективное преимущество в выживании, росте и уклонении от иммунного ответа, способствуют их клональной экспансии. Со временем, в условиях естественного отбора и под воздействием терапии, может происходить клональная эволюция, в результате которой доминирующий клон может смениться на другой, еще более адаптированный к условиям внешней среды и терапевтическим воздействиям.

Все эти знания, полученные в течение многих лет исследования ХЛЛ, лежат в основе разработки новых терапевтических стратегий, направленных на специфические молекулярные маркеры в клональных клетках ХЛЛ.



■ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОСНОВА ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА

Как было сказано выше, мутации в генах, регулирующих апоптоз, клеточный цикл и сигнальные пути, играют ключевую роль в развитии и поддержании заболевания. Исследования подчеркивают важность анализа генома ХЛЛ для выявления характерных аномалий и предсказания чувствительности к терапии [13].

Драйверные мутации – это генетические изменения, которые могут стимулировать развитие опухоли, увеличивая деление клеток или предотвращая их нормальный апоптоз [14]. Драйверные мутации при лейкозах отличаются от остальных мутаций тем, что играют ключевую роль в развитии и прогрессировании заболевания. Эти мутации могут активировать онкогены или деактивировать опухолевые супрессоры, что ведет к нарушению нормального клеточного роста и дифференцировки. Дополнительные к драйверным – патогенные мутации, которые также называются «пассажирскими» (от англ. *passenger*) мутациями, могут возникать в опухолевых клетках, но они не имеют прямого влияния на развитие или прогрессирование лейкоза. Они чаще возникают уже в процессе малигнизации клеток и могут сосуществовать с драйверными мутациями [15]. В контексте ХЛЛ драйверные мутации способствуют накоплению патологических лимфоцитов. Основными драйверными мутациями при ХЛЛ считаются мутации в генах *TP53*, *NOTCH1*, *SF3B1* и *BIRC3* (рис. 2).

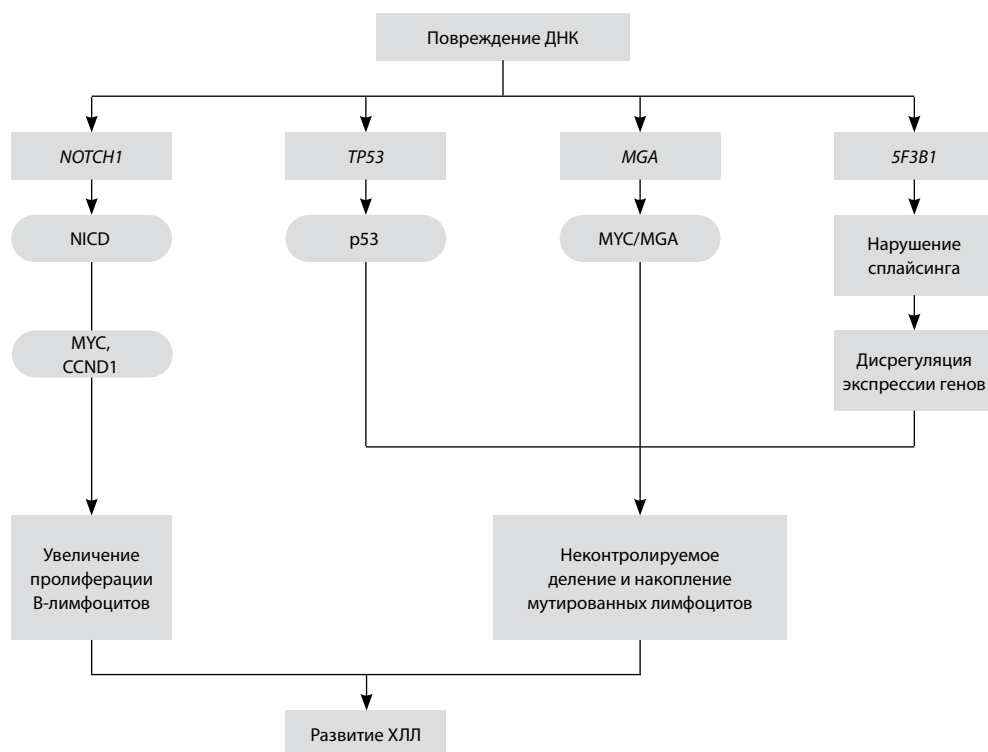


Рис. 2. Интегративная схема молекулярных путей развития ХЛЛ
Fig. 2. An integrative diagram of the molecular pathways of CLL development

Ген *TP53*

Мутации в гене *TP53* являются одними из наиболее значимых при ХЛЛ и ассоциируются с более агрессивным течением заболевания и плохим ответом на стандартное лечение. Ген *TP53* кодирует белок P53, который играет роль в регуляции клеточного цикла и апоптоза и активируется в ответ на различные стрессы и повреждения ДНК, способствуя остановке клеточного цикла для репарации ДНК или инициируя апоптоз, если повреждение невозможно устранить. Делеция малого плеча 17-й хромосомы является вариантом абберрации в *TP53*, когда теряется целое плечо, на котором расположен ген *TP53*. Делеция *del(17p13)* связана с высокой степенью агрессивности заболевания и сниженной выживаемостью. В контексте хронического лимфолейкоза ген *TP53* занимает особое место. Мутации в гене *TP53* или потеря его функции связаны с резистентностью к стандартной химиотерапии и более агрессивным течением заболевания. Аномалии в гене *TP53* являются одним из важнейших предикторов неблагоприятного прогноза у пациентов с ХЛЛ, поскольку клетки, утратившие нормальную функцию P53, могут бесконтрольно делиться, уклоняясь от апоптоза [5].

Нарушение работы P53 приводит к тому, что поврежденные клетки продолжают выживать и накапливать дополнительные мутации, что усиливает генетическую нестабильность. Это способствует не только более быстрому прогрессированию ХЛЛ, но и развитию резистентности к терапевтическим агентам, особенно к флударабину [42]. В нормальных условиях эти агенты активируют P53 для запуска апоптоза, но при его отсутствии клетки продолжают выживать даже при серьезных повреждениях генома.

Пациенты с мутациями *TP53* требуют применения более новых терапевтических агентов, таких как ингибиторы BCL-2 (венетоклакс) или ингибиторы тирозинкиназы Брутона (ВТК) (ибрутиниб). Эти препараты позволяют обойти механизмы резистентности, вызванные потерей функции P53, и обеспечивают более эффективный контроль над заболеванием, хотя и не всегда приводят к полной ремиссии [37].

Ген *NOTCH1*

Ген *NOTCH1* кодирует трансмембранный рецептор NOTCH1, который играет важную роль в процессах клеточной дифференцировки, роста и самообновления клеток. Сигнальный путь NOTCH1 участвует в развитии многих тканей и органов, а также в поддержании гомеостаза во взрослом организме. В контексте хронического лимфолейкоза мутации в гене *NOTCH1* считаются одним из значимых прогностических факторов. Исследования показали, что мутации в *NOTCH1* встречаются примерно у 10–15% пациентов с ХЛЛ и связаны с более агрессивным течением болезни и ухудшением прогноза. Мутации в *NOTCH1* могут приводить к конститутивной активации сигнального пути NOTCH1, что способствует повышенной клеточной выживаемости, росту и развитию устойчивости к апоптозу. Эти изменения способствуют прогрессированию ХЛЛ и могут снижать эффективность стандартных методов лечения.

Сигнальный путь NOTCH1 играет важную роль в развитии и функционировании лимфоцитов, а также в иммунной системе в целом. Этот путь вовлечен в регуляцию ряда ключевых процессов, включая дифференцировку, активацию, пролиферацию и выживание лимфоцитов. NOTCH1 критически важен для решения клетками-предшественниками направления их дифференцировки. В частности, сигнализация через NOTCH1 способствует развитию Т-лимфоцитов в тимусе, влияя на выбор между



T- и B-линейными путями дифференцировки. Активация NOTCH1 в клетках-предшественниках на ранних этапах их развития направляет их на путь дифференцировки в T-лимфоциты, в то время как подавление сигнализации NOTCH1 может способствовать развитию B-лимфоцитов. После дифференцировки сигнализация через NOTCH1 продолжает играть роль в активации, пролиферации и выживании зрелых T-лимфоцитов [8]. NOTCH1 может модулировать экспрессию генов, отвечающих за реакцию на антигенную стимуляцию. Таким образом, NOTCH1 помогает обеспечить адекватный иммунный ответ на внешние стимулы.

Мутации, приводящие к конститутивной активации *NOTCH1*, могут способствовать неконтролируемой пролиферации лимфоцитов и уклонению от апоптоза, что ведет к накоплению лейкозных клеток [16].

Из-за ключевой роли NOTCH1 в дифференцировке и функции лимфоцитов, а также в патогенезе ряда заболеваний этот сигнальный путь рассматривается как потенциальная мишень для терапии. Ингибиторы NOTCH1 и другие молекулы, модулирующие сигнализацию через NOTCH1, исследуются на предмет их способности корректировать иммунный ответ и оказывать терапевтическое воздействие на лимфопролиферативные и другие заболевания [17].

Ген *SF3B1*

Ген *SF3B1* кодирует один из компонентов сплайсосомы – комплекса, отвечающего за сплайсинг РНК, процесс, в ходе которого из предварительной мРНК удаляются некодирующие участки (интроны), а оставшиеся кодирующие участки (экзоны) соединяются для формирования зрелой мРНК. Этот процесс критически важен для правильной работы генов.

Мутации в гене *SF3B1* связаны с изменениями в процессе сплайсинга РНК и могут влиять на выживаемость и пролиферацию лимфоцитов [18]. Они чаще всего обнаруживаются у пациентов с ХЛЛ, имеющих немутированные гены *IGHV*, которые обычно ассоциируются с более неблагоприятным прогнозом [19]. Мутации в *SF3B1* могут влиять на процесс сплайсинга РНК, что приводит к образованию аномальных белков или неправильной экспрессии генов, критически важных для клеточного цикла, апоптоза и других клеточных функций. Эти изменения могут способствовать онкогенезу [18].

Исследования показали, что мутации в *SF3B1* связаны с определенными клинико-патологическими характеристиками при ХЛЛ и найдены ассоциации наличия мутаций в *SF3B1* с химиотерапевтической резистентностью [19]. Тем не менее механизмы, через которые мутации в *SF3B1* способствуют развитию и прогрессированию ХЛЛ, еще полностью не изучены [18]. Понимание этих механизмов может открыть новые подходы к лечению, направленные на коррекцию нарушений сплайсинга или мишеней, связанные с этими мутациями.

Ген *BIRC3*

Ген *BIRC3* (Baculoviral IAP Repeat Containing 3), также известный как *cIAP2* (cellular inhibitor of apoptosis protein 2), кодирует белок, который играет важную роль в регуляции апоптоза и сигнальных путях NF-κB (фактор ядерной транскрипции каппа Б). *BIRC3* принадлежит к семейству IAP (ингибиторов апоптоза), которые способны связывать и ингибировать активность каспаз, критически важных ферментов, участвующих в инициации и исполнении апоптоза [20].

Мутации и делеции в гене *BIRC3* встречаются при хроническом лимфолейкозе и связаны с более агрессивным течением заболевания и ухудшением прогноза. Аномалии в *BIRC3* могут привести к нарушению нормального процесса апоптоза, тем самым способствуя выживанию лейкоэмических клеток и их резистентности к лечению. Потеря функции *BIRC3* может способствовать прогрессированию ХЛЛ за счет предотвращения апоптоза лейкоэмических клеток [21]. Исследования показали, что мутации или потеря *BIRC3* ассоциируются с более высокой вероятностью прогрессирования ХЛЛ и сокращением общей выживаемости пациентов [20]. Это делает *BIRC3* потенциальным биомаркером для оценки прогноза при ХЛЛ. Потеря функции *BIRC3* может также усиливать резистентность к некоторым формам терапии, включая химиотерапевтические препараты, что делает лечение более сложным и менее эффективным [21].

Все эти мутации могут быть обнаружены с помощью метода высокопроизводительного секвенирования (от англ. next generation sequencing – NGS), который позволяет врачам оценить прогноз заболевания и выбрать наиболее эффективную стратегию лечения. Например, пациенты с мутациями в *TP53* могут иметь более низкий ответ на химиотерапию и могут быть кандидатами на более агрессивные или экспериментальные методы лечения [5].

■ ХРОМОСОМНЫЕ АНОМАЛИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЛИМФОЛЕЙКОЗЕ

Одной из особенностей ХЛЛ является наличие хромосомных аномалий, которые играют важную роль в патогенезе заболевания и могут влиять как на прогноз, так и на выбор лечебной стратегии. Цитогенетический анализ и метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) позволяют выявить эти аномалии в клетках пациентов с ХЛЛ.

del(13)(q14)

Наиболее частой хромосомной аномалией при ХЛЛ является делеция короткого плеча 13-й хромосомы (*del(13)(q14)*). Эта аномалия обнаруживается примерно у половины всех пациентов и обычно ассоциируется с более благоприятным прогнозом, особенно когда она выступает в качестве единственной аномалии [22].

На коротком плече 13-й хромосомы 13q14 расположены несколько важных генов, включая гены *DLEU2*, *RB1* и 2 смежных гена микроРНК (*miR-15a* и *miR-16-1*), которые играют ключевую роль в регуляции клеточного цикла и апоптоза. Утрата этих генов из-за делеции может нарушить нормальный контроль над делением клеток и способствовать развитию лейкемии [23].

У пациентов с изолированной делецией 13q14, как правило, более медленное прогрессирование заболевания и лучший общий прогноз по сравнению с наличием других хромосомных аномалий (рис. 3), таких как *del(17)(p13)* или *del(11)(q22)* [24].

Делецию 13q можно выявить с помощью цитогенетических методов, таких как карiotипирование, но наиболее точные и чувствительные результаты дает метод FISH. FISH позволяет обнаружить делецию даже в случаях, когда она присутствует только в небольшой доле клеток. Этот метод также полезен для мониторинга минимальной остаточной болезни (МОБ) и эффективности лечения. При наличии *del(13)(q14)* клиницисты могут адаптировать стратегию лечения ХЛЛ. Поскольку эта аномалия

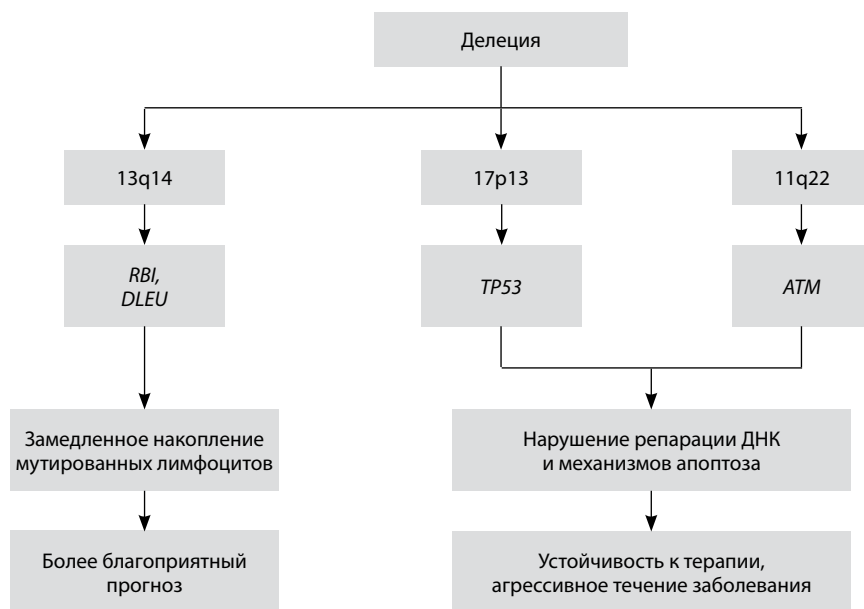


Рис. 3. Прогностическое значение делеций фрагментов хромосом 13, 17 и 11 при ХЛЛ. *RB1*, *DLEU*, *TP53*, *ATM* – гены, затронутые делециями соответствующих фрагментов хромосом
Fig. 3. Prognostic significance of deletions of chromosome fragments 13, 17 and 11 in CLL. *RB1*, *DLEU*, *TP53*, *ATM* – genes affected by deletions of the corresponding chromosome fragments

ассоциируется с более благоприятным исходом, пациенты с изолированной делецией 13q14 могут иметь более консервативный план лечения с акцентом на наблюдение и ожидание, особенно если заболевание протекает без симптомов. Тем не менее клинический исход может ухудшаться у пациентов с делециями крупных фрагментов 13q14, включающими ген ретинобластомы (*RB1*) [25].

del(11)(q22), del(17)(p13) и другие аберрации

Другая значимая аномалия – это делеция длинного плеча 11-й хромосомы (*del(11)(q22)*), включающая ген *ATM*, отвечающий за репарацию ДНК. Эта аномалия встречается менее чем у 20% пациентов и связана с агрессивным течением заболевания, более высокой вероятностью развития массивных лимфоузлов и ухудшенным ответом на лечение [26].

Особое внимание уделяется делеции короткого плеча 17-й хромосомы *del(17)(p13)*, где, как уже упоминалось выше, расположен ген *TP53*. Эта аномалия встречается у 5–10% пациентов и ассоциируется с крайне неблагоприятным прогнозом – пациенты с *del(17)(p13)* плохо отвечают на стандартное лечение и имеют короткую общую выживаемость [5].

При ХЛЛ также может наблюдаться транслокация между хромосомами 11 и 14 (*t(11;14)*), которая чаще ассоциируется с мантийноклеточной лимфомой. Ее наличие при ХЛЛ может указывать на необходимость дифференциальной диагностики с другими лимфопролиферативными заболеваниями [27].

Трисомия 12, представляющая собой наличие дополнительной копии 12-й хромосомы, встречается у примерно 20% пациентов и может быть связана с промежуточным прогнозом [28].

В совокупности хромосомные аномалии при ХЛЛ представляют собой важные диагностические и прогностические маркеры, которые могут помочь в выборе наиболее подходящей терапевтической стратегии для каждого конкретного пациента. Понимание специфики хромосомных аномалий также способствует более глубокому изучению механизмов развития и прогрессирования хронического лимфолейкоза. К примеру, пациентам с *del(17)(p13)* и мутациями в гене *TP53* показана более агрессивная терапия с применением новых молекулярно-направленных препаратов, таких как ингибиторы ВТК или ингибиторы BCL-2, которые продемонстрировали свою эффективность у этой группы пациентов [5]. В то время как пациенты с *del(13)(q14)* в качестве единственной аномалии могут иметь более благоприятный прогноз и не нуждаться в немедленном интенсивном лечении [24]. Аномалия *del(11)(q22)*, ассоциирующаяся с более агрессивным течением ХЛЛ, также указывает на потенциальную пользу от раннего начала лечения с использованием таргетной терапии для предотвращения быстрого прогрессирования заболевания [26].

Трисомия 12 и другие менее характерные аномалии требуют дальнейшего изучения для полного понимания их роли в патогенезе ХЛЛ и влияния на прогноз и ответ на терапию. В этом контексте постоянное совершенствование диагностических методов и разработка новых молекулярно-направленных терапевтических стратегий открывают новые перспективы для улучшения исходов лечения пациентов с ХЛЛ.

Таким образом, исследование хромосомного аппарата пациентов с ХЛЛ и понимание их влияния на течение хронического лимфолейкоза являются ключевым аспектом в обеспечении индивидуализированного подхода к лечению, направленному на улучшение качества жизни и выживаемости пациентов с этим заболеванием.

■ ДИАГНОСТИКА ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА

Ключевыми методами в диагностике хронического лимфолейкоза являются иммунофенотипирование, анализ мутационного статуса генов *IGHV* и анализ количества лимфоцитов в периферической крови. Согласно Международной рабочей группе по ХЛЛ (iwCLL) по диагностике, показаниям к лечению и оценке ответа на лечение при ХЛЛ [7], иммунофенотипирование является ключевым инструментом в диагностике и стратификации прогноза при хроническом лимфолейкозе. Этот метод позволяет детализированно оценить поверхностные и внутриклеточные маркеры лимфоцитов с использованием проточной цитометрии, обеспечивая высокую точность в определении подтипов заболевания и его биологических характеристик.

Классический иммунофенотип В-клеток при ХЛЛ характеризуется экспрессией CD19, CD5 и CD23 при низком уровне экспрессии мембранных иммуноглобулинов и CD20. Наличие CD5 на В-лимфоцитах, которые обычно не экспрессируют этот маркер, в сочетании с CD23 помогает отличать ХЛЛ от других В-клеточных неоплазий, таких как мантийноклеточная лимфома, где CD23 обычно не экспрессируется [29]. Дополнительные маркеры, такие как CD38 и ZAP-70, используются для прогностической стратификации. Высокая экспрессия CD38 и ZAP-70 связана с более агрессивным течением заболевания и более коротким периодом выживаемости. Напротив, низкая экспрессия этих маркеров указывает на более благоприятный прогноз [30].



Недавние исследования также обращают внимание на значимость других маркеров, таких как CD49d, которые могут быть связаны с механизмами адгезии и миграции клеток, влияя на агрессивность заболевания и ответ на терапию [31].

Важность иммунофенотипирования при ХЛЛ также заключается в возможности отслеживания МОБ – небольшого числа опухолевых клеток, которые могут персистировать после лечения. МОБ является важным предиктором рецидива заболевания, и иммунофенотипирование позволяет тщательно оценивать эффективность терапии и принимать решение о дальнейшем ведении пациентов [29].

При ХЛЛ мутационный статус генов *IGHV* является важным прогностическим индикатором. В-клетки, пораженные ХЛЛ, могут быть классифицированы на основе наличия или отсутствия соматических мутаций в регионах вариабельных доменов генов тяжелых цепей иммуноглобулинов. Исследования показали, что наличие соматических мутаций в генах *IGHV* ассоциировано с более благоприятным прогнозом и длительным безрецидивным периодом по сравнению с немутированным статусом *IGHV* [32, 33].

Немутированный статус *IGHV* указывает на то, что пораженные В-клетки происходят из ранних стадий В-клеточного развития до прохождения процесса соматической гипермутации в герминативных центрах. Такие клетки ассоциируются с более агрессивным течением заболевания и более коротким общим периодом выживаемости [32].

С другой стороны, мутированный статус *IGHV* свидетельствует о происхождении раковых В-клеток из более зрелых лимфоцитов, которые прошли селекцию по аффинности в герминативных центрах. Это считается фактором, предсказывающим более медленное прогрессирование болезни и лучший прогноз для пациентов [33].

Мутационный статус генов *IGHV* является значимым маркером, отражающим биологические различия между разными подгруппами ХЛЛ, что позволяет более точно прогнозировать течение заболевания и подбирать соответствующие стратегии лечения.

В настоящее время ведутся исследования по идентификации новых геномных aberrаций, эпигенетических подтипов, глобального эпигеномного перепрограммирования опухолевых клеток, модуляции взаимодействий между опухолевой клеткой и микроокружением, а также динамике клональной эволюции.

Что касается анализа периферической крови, то он является фундаментальным инструментом в диагностике ХЛЛ, позволяя выявить характерные изменения, связанные с этим заболеванием. При ХЛЛ обычно наблюдается повышенное количество лимфоцитов в периферической крови, что может быть выявлено с помощью полного анализа крови с дифференциальным подсчетом белых кровяных телец [7].

■ СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА

Цитогенетические исследования

Цитогенетические исследования (кариотипирование) являются неотъемлемой частью диагностики ХЛЛ, предоставляя информацию о структурных и количественных изменениях хромосом. Цитогенетические исследования используются в клинико-лабораторной практике при диагностике гематологических неоплазий, для которых доказано существование специфических маркерных хромосомных aberrаций.

Результаты кариотипирования имеют диагностическое и прогностическое значение, определяют тактику лечения. В ряде случаев хромосомные маркеры применяются для мониторинга эффективности терапии, позволяя оценить долю опухолевого клонного в костномозговом кроветворении. При цитогенетических исследованиях используется световая микроскопия, хромосомы дифференциально окрашиваются, что позволяет значительно улучшить визуализацию и идентификацию разных структур в клеточных и тканевых препаратах и оценить весь геном в целом. Для дифференциального окрашивания используют мазки крови, биопсийные образцы, культуры клеток и ткани. Образцы сначала фиксируют для сохранения их морфологии, затем окрашивают специальными красителями и, наконец, анализируют под микроскопом.

Цитогенетический метод имеет ряд преимуществ, включая комплексный анализ всех хромосомных aberrаций одновременно. Однако у него есть и недостатки: методика трудоемкая, требующая участия высокой квалификации специалистов и оборудования, и подвержена риску ошибок в интерпретации результатов, если окрашивание выполнено некорректно. В контексте ХЛЛ этот метод помогает выявить

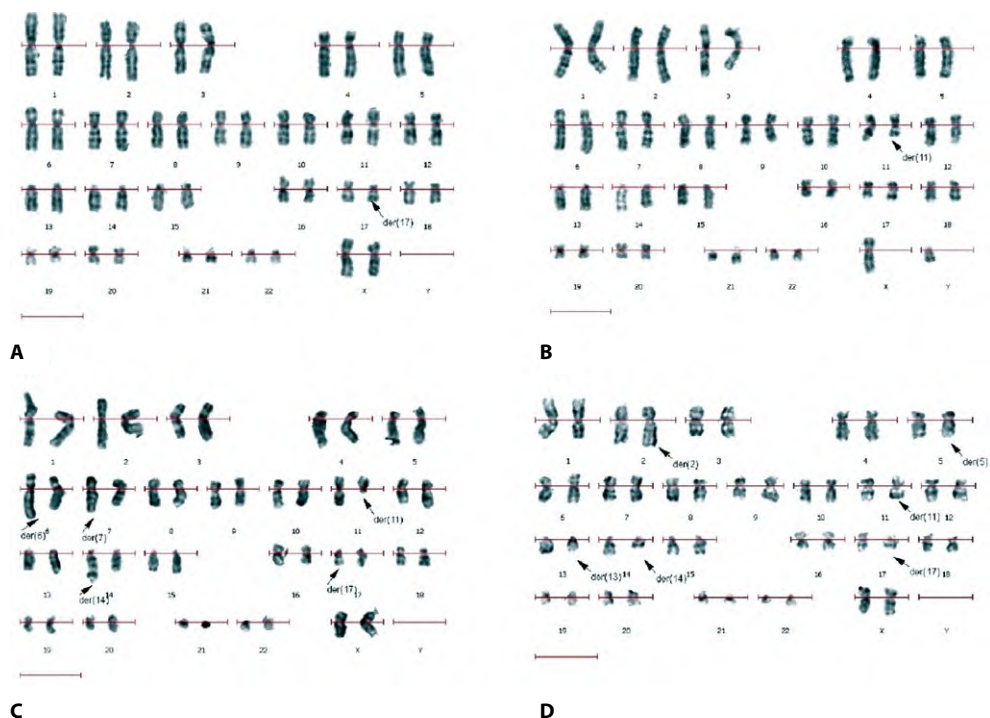


Рис. 4. Кариограммы пациентов с ХЛЛ: А – делеция 17-й хромосомы [del(17)]; В – делеция 11-й хромосомы [del(11)]; С – сложный кариотип с del(17); D – сложный кариотип с комбинированными делециями del(17) и del(11)

Fig. 4. Karyograms of patients with CLL: A – deletion of the 17th chromosome [del(17)]; B – deletion of the 11th chromosome [del(11)]; C – complex karyotype with del(17); D – complex karyotype with combined del(17) and del(11)



высокоспецифические генетические маркеры, ассоциированные с заболеванием, что важно для диагностики, выбора методов лечения и прогнозирования исхода заболевания [34]. Например, обнаружение характерных для ХЛЛ 17p- и 11q-делеций (рис. 4) позволяет включить пациента в прогностически неблагоприятную группу и дает понимание о времени старта терапии [7].

Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH)

FISH является еще одним важным инструментом в генетической диагностике ХЛЛ. Исследования подчеркивают его ценность в выявлении специфических структурных аномалий хромосом, включая количественные нарушения, транслокации и делеции.

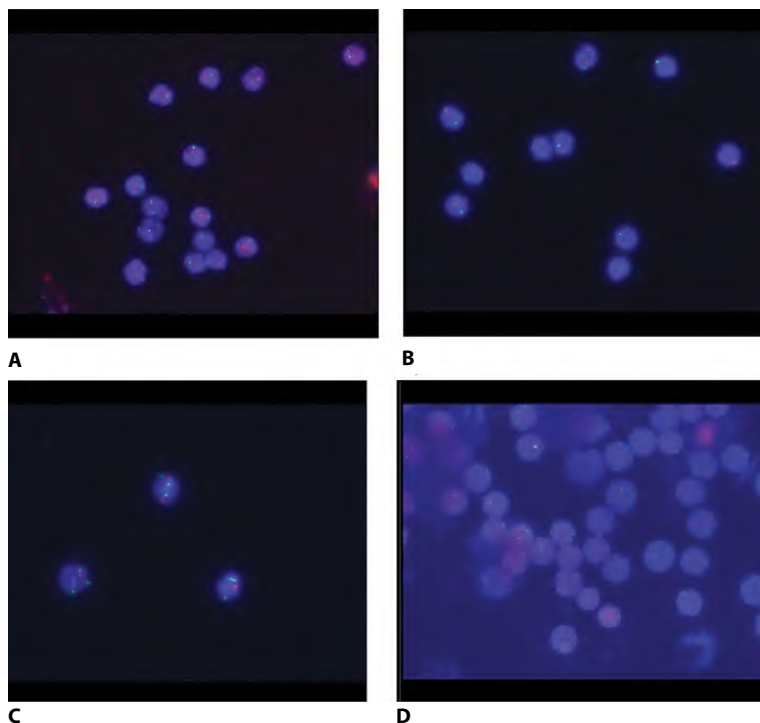


Рис. 5. Кариограммы пациентов с ХЛЛ, полученные с помощью метода FISH: А – делеция локуса гена TP53/17p13, Ув.х63. FISH-исследование с локус-специфическим ДНК-зондом TP53 (17p13)/SE 17 FISH Probe (Kreatech); В – делеция локуса гена ATM/11q22, Ув.х63. FISH-исследование с локус-специфическим ДНК-зондом ATM/CEP11 Dual-Color Probe (Wuhan HealthCare Biotechnology); С – трисомия 12-й хромосомы, Ув.х63. FISH-исследование с локус-специфическим ДНК-зондом XL DLEU/LAMP/12cen Deletion/Enumeration Probe (MetaSystems); D – делеция локуса гена DLEU/13q14.2, Ув.х63. FISH-исследование с локус-специфическим ДНК-зондом D13S319(13q14)/13q34(LAMP1) Gene Probe Detection Kit (Wuhan HealthCare Biotechnology)
Fig. 5. Karyograms of patients with CLL obtained using the FISH method: А – deletion of the TP53/17p13 gene locus, uv.x63. FISH examination using the TP53 (17p13)/SE 17 FISH Probe (Kreatech) locus spectrophotometric probe; В – division of the ATM/11q22 gene locus, uv.x63. FISH examination using DNK-zond ATM/CEP11 Dual-Color Probe (Wuhan HealthCare Biotechnology); С - trisomy of the 12-chromosome, uv.x63. FISH examination with a locus spectral sensor probe XL DLEU/LAMP/12cen Deletion/Enumeration Probe (MetaSystems); D – locus deletion the DLEU/13q14.2 gene, uv.x63. FISH Gene Probe Detection Kit with locus spectral sensor DNA probe D13S319(13q14)/13q34(LAMP1) (Wuhan HealthCare Biotechnology)

FISH позволяет определить тип и положение хромосомной перестройки в кариотипах лейкозных клеток. Для этого необходим меченый специфичный ДНК-фрагмент, комплементарный определенному участку хромосомной ДНК. Связываясь с соответствующими последовательностями ДНК в исследуемом образце, ДНК-фрагмент позволяет выявить локализацию этих последовательностей. Препараты исследуются с помощью флуоресцентного микроскопа.

Для FISH можно использовать различные типы клеточных и тканевых образцов, включая клетки крови, костного мозга и биопсийные ткани. Эти образцы подвергаются фиксации и затем гибридизации с флуоресцентно-мечеными зондами, которые специфически связываются с интересующими участками хромосом [34].

Одним из преимуществ метода FISH является его высокая специфичность и чувствительность, что позволяет детализированно анализировать генетические аберрации, такие как делеции, дупликации, транслокации и другие структурные изменения. Это особенно важно для диагностики заболеваний, таких как ХЛЛ, где FISH используется для выявления специфических генетических перестроек, которые могут влиять на прогноз и выбор терапии. Например, метод позволяет идентифицировать делеции в хромосомах 17 и 11 (рис. 5), которые являются маркерами неблагоприятного прогноза при ХЛЛ.

Секвенирование нового поколения

Метод секвенирования нового поколения (NGS) представляет собой современные технологии, которые позволяют одновременно секвенировать миллионы фрагментов ДНК. Этот метод значительно ускоряет процесс геномного анализа и уменьшает его стоимость по сравнению с традиционным секвенированием по Сэнгеру. NGS используется для широкого спектра исследований в области геномики, транскриптомики и эпигенетики.

Этот метод основывается на использовании коротких прочтений (ридов) и длинных ридов, каждые из которых имеют свои особенности и преимущества.

Короткие прочтения обычно имеют длину от 50 до 300 нуклеотидов. Преимущества этого подхода включают высокую точность и меньшую стоимость на единицу прочитанной последовательности. Однако короткие прочтения имеют свои недостатки, такие как сложности в сборке генома, особенно в областях с высокой степенью повторений или структурной сложности. Длинные риды, напротив, могут достигать длины в несколько тысяч нуклеотидов. Это позволяет более точно анализировать структурные вариации и сложные геномные регионы, что делает их незаменимыми для идентификации больших структурных вариантов и областей с высоким содержанием повторов. Основным недостатком длинных ридов являются более высокая стоимость и потенциально более низкая точность по сравнению с короткими прочтениями.

Процесс пробоподготовки для NGS включает несколько ключевых этапов. Сначала изолируют ДНК или РНК из образцов, при этом важен высококачественный исходный материал для успешного секвенирования. Затем ДНК или РНК фрагментируют до необходимого размера. Для коротких прочтений фрагменты обычно укладываются в длину от 100 до 300 нуклеотидов, а для длинных ридов – в несколько тысяч нуклеотидов. После этого фрагменты амплифицируют и присоединяют адаптеры, которые позволяют фрагментам связываться с поверхностью секвенатора. На заключительном



этапе подготовленные образцы загружаются в секвенатор, где происходит их параллельное считывание.

Секвенаторы нового поколения способны одновременно считывать миллионы фрагментов, что позволяет получать огромные объемы данных за короткое время. Эти данные затем анализируют с использованием специализированного программного обеспечения, которое собирает короткие или длинные прочтения в целые последовательности и выявляет генетические вариации [35].

Преимущества использования NGS включают высокую точность и глубину покрытия, что позволяет выявлять даже редкие генетические вариации. Этот метод обладает высокой производительностью, что делает его идеальным для масштабных проектов, таких как геномное секвенирование популяций или метагеномные исследования. NGS также позволяет детектировать широкий спектр генетических изменений, включая точечные мутации, инделы (инсерции и делеции), структурные перестройки и вариации числа копий генов.

Крупные исследования с использованием метода NGS показывают, что у родственников первой степени близости пациентов с ХЛЛ повышен риск развития заболевания. Геномные ассоциативные исследования (GWAS, исследования, направленные на выявление генетических вариантов, ассоциированных с определенными заболеваниями или фенотипами) выявили до 45 локусов предрасположенности, большинство из которых находится в некодирующих регионах генома и влияет на экспрессию генов, участвующих в иммунном ответе, выживании клеток или сигналинге Wnt [36].

Внедрение генетической диагностики ХЛЛ в клиническую практику открывает новые горизонты для персонализированного лечения. Понимание генетических особенностей каждого пациента позволяет более точно определить прогноз заболевания и подобрать оптимальный режим терапии.

Терапевтический выбор в лечении ХЛЛ в настоящее время зависит от множества факторов, включая стадию заболевания, симптомы, возраст пациента, наличие сопутствующих заболеваний и специфические генетические маркеры, которые выявляются при помощи как различных цитогенетических исследований, так и молекулярных технологий, в том числе NGS. Индивидуализированный подход позволяет оптимизировать последовательность терапии и выбор наиболее эффективных комбинаций препаратов для конкретного пациента.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Kaprin A.D., Starinskij V.V., Petrova G.V., eds. *Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality)*. M: P.A. Herzen Moscow Medical Research Institute – branch of the Federal State Budgetary Institution "NMITS of Radiology" of the Ministry of Health of the Russian Federation; 2018.
2. Rundles RW, Moore JO. Chronic lymphocytic leukemia. *Cancer*. 1978 Aug;42(2 Suppl):941–5. doi: 10.1002/1097-0142(197808)42:2+<941::aid-cncr2820420717>3.0.co;2-1
3. Kikushige Y. Pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia and the development of novel therapeutic strategies. *J Clin Exp Hematop*. 2020;60(4):146–158. doi: 10.3960/jslrt.20036
4. Strati P, Shanafelt TD. Monoclonal B-cell lymphocytosis and early-stage chronic lymphocytic leukemia: Diagnosis, natural history, and risk stratification. *Blood*. 2015;126(4):454–462.
5. Zenz T, et al. TP53 mutation and survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2010;28(29):4473–4479. doi: 10.1200/JCO.2009.27.8762
6. Dawson MA, Kouzarides T. Cancer epigenetics: from mechanism to therapy. *Cell*. 2012;150(1):12–27. doi: 10.1016/j.cell.2012.06.013
7. Hallek M, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*. 2018;131(25):2745–2760. doi: 10.1182/blood-2017-09-806398

8. Pozzo F, et al. NOTCH1-mutated chronic lymphocytic leukemia cells are characterized by a MYC-related overexpression of nucleophosmin 1 and ribosome-associated components. *Leukemia*. 2017;31(11):2407–2415. doi: 10.1038/leu.2017.90
9. 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):401–413.
10. Beekman R, et al. The reference epigenome and regulatory chromatin landscape of chronic lymphocytic leukemia. *Nat Med*. 2018;24:868–880.
11. Javandoost E, et al. Role of microRNAs in Chronic Lymphocytic Leukemia Pathogenesis. *Curr Med Chem*. 2020;27(2):282–297. doi: 10.2174/0929867326666190911114842
12. Thomadaki H, Scorilas A. BCL2 family of apoptosis-related genes: functions and clinical implications in cancer. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2006;43(1):1–67. doi: 10.1080/10408360500295626
13. Landau DA, Tausch E, Taylor-Weiner AN, Stewart C, et al. Mutations driving CLL and their evolution in progression and relapse. *Nature*. 2015 Oct 22;526(7574):525–30. doi: 10.1038/nature15395
14. Torkamani A, Verkhivker G, Schork NJ. Cancer driver mutations in protein kinase genes. *Cancer Lett*. 2009 Aug 28;281(2):117–27. doi: 10.1016/j.canlet.2008.11.008
15. Pon JR, Marra MA. Driver and passenger mutations in cancer. *Annu Rev Pathol*. 2015;10:25–50. doi: 10.1146/annurev-pathol-012414-040312
16. Balatti V, et al. NOTCH1 mutations in CLL associated with trisomy 12. *Blood*. 2012;119(2):329–331. doi: 10.1182/blood-2011-10-386144
17. Li X, Yan X, Wang Y, et al. The Notch signaling pathway: a potential target for cancer immunotherapy. *J Hematol Oncol*. 2023 May 2;16(1):45. doi: 10.1186/s13045-023-01439-z
18. Wan Y, Wu CJ. SF3B1 mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2013 Jun 6;121(23):4627–34. doi: 10.1182/blood-2013-02-427641
19. Rossi D, Brusca G, Spina V, et al. Mutations of the SF3B1 splicing factor in chronic lymphocytic leukemia: association with progression and fludarabine-refractoriness. *Blood*. 2011 Dec 22;118(26):6904–8. doi: 10.1182/blood-2011-08-373159
20. Asslaber D, et al. BIRC3 Expression Predicts CLL Progression and Defines Treatment Sensitivity via Enhanced NF- κ B Nuclear Translocation. *Clin Cancer Res*. 2019;25(6):1901–1912. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1548
21. Chiaretti S, et al. NOTCH1, SF3B1, BIRC3 and TP53 mutations in patients with chronic lymphocytic leukemia undergoing first-line treatment: correlation with biological parameters and response to treatment. *Leuk Lymphoma*. 2014;55(12):2785–2792. doi: 10.3109/10428194.2014.898760
22. Palamarchuk A, Efanov A, Nazaryan N, et al. 13q14 deletions in CLL involve cooperating tumor suppressors. *Blood*. 2010 May 13;115(19):3916–22. doi: 10.1182/blood-2009-10-249367
23. Braga TV, et al. Evaluation of MiR-15a and MiR-16-1 as prognostic biomarkers in chronic lymphocytic leukemia. *Biomed Pharmacother*. 2017;92:864–869. doi: 10.1016/j.biopha.2017.05.144
24. Kroft SH, Finn WG, Kay NE, Peterson LC. Isolated 13q14 abnormalities and normal karyotypes are associated with typical lymphocyte morphology in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Am J Clin Pathol*. 1997 Mar;107(3):275–82. doi: 10.1093/ajcp/107.3.275
25. Ouillette P, Collins R, Shakhani S, et al. The prognostic significance of various 13q14 deletions in chronic lymphocytic leukemia. *Clin Cancer Res*. 2011 Nov 1;17(21):6778–90. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0785
26. Shiloh Y, Ziv Y. The ATM protein kinase: regulating the cellular response to genotoxic stress, and more. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2013;14:197–210.
27. Brito-Babapulle V, et al. Translocation t(11;14)(q13;q32) in chronic lymphoid disorders. *Genes Chromosomes Cancer*. 1992;5(2):158–165. doi: 10.1002/gcc.2870050210
28. Abruzzo LV, Herling CD, Calin GA, et al. Trisomy 12 chronic lymphocytic leukemia expresses a unique set of activated and targetable pathways. *Haematologica*. 2018 Dec;103(12):2069–2078. doi: 10.3324/haematol.2018.190132
29. Belessi CJ, et al. IGHV gene insertions and deletions in chronic lymphocytic leukemia: "CLL-biased" deletions in a subset of cases with stereotyped receptors. *Eur J Immunol*. 2006;36(7):1963–1974. doi: 10.1002/eji.200535751
30. Paulus A, Malavasi F, Chanan-Khan A. CD38 as a multifaceted immunotherapeutic target in CLL. *Leuk Lymphoma*. 2022 Oct;63(10):2265–2275. doi: 10.1080/10428194.2022.2090551
31. Tissino E, Pozzo F, Benedetti D, et al. CD49d promotes disease progression in chronic lymphocytic leukemia: new insights from CD49d bimodal expression. *Blood*. 2020 Apr 9;135(15):1244–1254. doi: 10.1182/blood.2019003179
32. Hamblin TJ, et al. Unmutated IgV(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999;94(6):1848–1854.
33. Damle RN, Wasil T, Fais F, Ghiotto F, et al. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999 Sep 15;94(6):1840–7.
34. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2000 Dec 28;343(26):1910–6. doi: 10.1056/NEJM200012283432602
35. Muzzey D, Evans EA, Lieber C. Understanding the Basics of NGS: From Mechanism to Variant Calling. *Curr Genet Med Rep*. 2015;3(4):158–165. doi: 10.1007/s40142-015-0076-8
36. Berndt SJ, et al. Meta-analysis of genome-wide association studies discovers multiple loci for chronic lymphocytic leukemia. *Nat Commun*. 2016;7(1).
37. Jain N, et al. Ibrutinib and Venetoclax for First-Line Treatment of CLL. *N Engl J Med*. 2019;380(22):2095–2103. doi: 10.1056/NEJMoa1900574
38. Byrd JC, Hillmen P, Ghia P, et al. Acalabrutinib Versus Ibrutinib in Previously Treated Chronic Lymphocytic Leukemia: Results of the First Randomized Phase III Trial. *J Clin Oncol*. 2021 Nov 1;39(31):3441–3452. doi: 10.1200/JCO.21.01210
39. Smolej L. Targeted treatment for chronic lymphocytic leukemia: clinical potential of obinutuzumab. *Pharmgenomics Pers Med*. 2014 Dec 22;8:1–7. doi: 10.2147/PGPM.S55501
40. Brown JR. Phosphatidylinositol 3 Kinase δ Inhibitors: Present and Future. *Cancer J*. 2019;25(6):394–400. doi: 10.1097/PPO.0000000000000414
41. Miliotou N, Androulla, Papadopoulou C. Lefkothea, CAR T-cell Therapy: A New Era in Cancer Immunotherapy. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2018;19(1). doi: 10.2174/1389201019666180418095526
42. Zenz T, Häbe S, Denzel T, et al. Detailed analysis of p53 pathway defects in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL): dissecting the contribution of 17p deletion, TP53 mutation, p53-p21 dysfunction, and miR34a in a prospective clinical trial. *Blood*. 2009 Sep 24;114(13):2589–97. doi: 10.1182/blood-2009-05-224071