

УДК: 616.98[578.825-616.155.392]:614.876

Н. І. Білоус, І. В. Абраменко✉, А. А. Чумак, І. С. Дягіль, З. В. Мартіна

Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», вул. Юрія Ілленка, 53, м. Київ, 04050, Україна

СТЕРЕОТИПНІ ВИПАДКИ В УКРАЇНСЬКІЙ КОГОРТІ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ЛІМФОЦИТАРНУ ЛЕЙКЕМІЮ ЗАЛЕЖНО ВІД ВПЛИВУ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ

Мета: порівняльний аналіз частоти та спектру стереотипних кластерів у когорті українських хворих на хронічну лімфоцитарну лейкемію (ХЛЛ) з урахуванням наявності в анамнезі впливу іонізуючого випромінювання.

Методи. Дослідження проведено в групі 118 хворих на ХЛЛ, опромінених внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС (95 учасників ліквідації наслідків аварії 1986 р., 17 мешканців територій, контамінованих радіонуклідами, 6 евакуйованих) і в групі 294 неопромінених хворих. Мутаційний статус генів важких ланцюгів імуноглобулінів (*IGHV* генів), мутації генів *NOTCH1*, *TP53* і *SF3B1* досліджували за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з наступним секвенуванням. Асоціації між клінічними і молекулярними даними аналізували у статистичній програмі SPSS software package, version 20.0.

Результати. Частота стереотипних випадків в українській ХЛЛ когорті була високою (50,5 %) і не розрізнялась серед опромінених та неопромінених хворих. Співвідношення мажорних і мінорних кластерів, а також частота окремих кластерів були схожими з даними літератури за декількома винятками: низька частота кластера #2; відсутність кластера #8; висока частота мінорного кластера #V4|J4.5.6|18|5. Особливостями опромінених хворих були: 1) однакова частота стереотипних кластерів серед випадків ХЛЛ з мутованими і немуваними (UM) *IGHV* генами ($p = 0,557$); 2) відсутність достовірних розбіжностей в репертуарі *IGHV* генів серед стереотипних і гетерогенних випадків ($p = 0,508$); 3) «гетерогенність» стереотипних випадків: всі ідентифіковані кластери, за винятком кластера #1, були представлені одним випадком. Серед стереотипних випадків з експресією UM *IGHV* генів I клану (крім гена *IGHV1-69*) частіше зустрічались мутації гена *NOTCH1*. Хворі, які належали до кластера #4, порівняно з пацієнтами кластера #2, були молодшими, мали тенденцію до збільшення періоду до початку терапії та загального виживання. Серед хворих кластера #2 частіше діагностували аутоімунну гемолітичну анемію та мутації гена *SF3B1*. Експресія гена *IGHV3-21* була асоційована з низькими показниками загального виживання при уні- та мультіваріантному регресійному аналізі. Аутоімунна гемолітична анемія частіше зустрічалась у хворих з експресією UM *IGHV4-59* і *IGHV3-11* генів.

Висновки. Виявлені розбіжності розподілу стереотипних випадків в українській когорті хворих на ХЛЛ найбільш вірогідно відображають вплив генетичних факторів, факторів навколишнього середовища (включаючи й іонізуюче випромінювання), та їх взаємодію у певній географічній зоні.

Ключові слова: хронічна лімфоцитарна лейкемія, *IGHV* гени, аварія на Чорнобильській АЕС.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2022. Вип. 27. С. 307–323. doi: 10.33145/2304-8336-2022-27-307-323

✉ Абраменко Ірина Вікторівна, e-mail: abramenko_iryana@ukr.net

N. I. Bilous, I. V. Abramenko✉, A. A. Chumak, I. S. Dyagil, Z. V. Martina

State Institution «National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 53 Yurii Illienka St., Kyiv, 04050, Ukraine

STEREOTYPED CASES IN UKRAINIAN COHORT OF CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA PATIENTS DEPENDING ON THE IONIZING RADIATION EXPOSURE

Objective: to analyze the stereotyped subsets in cohort of Ukrainian chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients in general and depending on the ionizing radiation (IR) exposure.

Methods. Analysis was performed in the groups of 118 CLL patients irradiated due to the Chernobyl NPP accident (95 clean-up workers, 17 inhabitants of radionuclide contaminated areas, and 6 evacuees) and 294 IR non-exposed patients. The *IGHV* (immunoglobulin heavy chain variable region) gene mutational status, mutations of *NOTCH1*, *TP53* and *SF3B1* genes were studied by polymerase chain reaction followed by direct sequencing. Associations between clinical and molecular data of patients were analyzed with the SPSS software package, version 20.0.

Results. The incidence of stereotyped CLL cases in Ukrainian cohort was high (50.5 %) and comparable in IR-exposed and non-exposed patients. The ratio of major and minor clusters as well as the frequency of individual clusters was comparable with reported data with some exceptions: a low incidence of subset #2; absence of subset #8; high frequency of minor subset #V4|J4.5.6|18|5. The distinctive features of IR-exposed CLL patients found were: 1) comparable frequency of stereotyped cases among mutated and unmutated (UM) *IGHV* genes cases ($p = 0.557$); 2) lack of differences *IGHV* gene repertoires among stereotyped and heterogeneous cases ($p = 0.508$); 3) «heterogeneity» of stereotyped cases: all identified stereotyped clusters, with the exception of cluster #1, consisted of one case. Stereotyped cases with expression of UM *IGHV* clan I genes (except *IGHV1-69* gene) were more susceptible to the appearance of *NOTCH1* mutations. Patients of cluster #4 were younger, tended to have a longer time-to-treatment period and overall survival (OS) compared to subset #2. Patients of cluster #2 are more likely to have autoimmune hemolytic anemia (AIHA) and *SF3B1* mutations. *IGHV3-21* expression was associated with worse OS in univariate and multivariate analysis. AIHA was more common in patients with UM *IGHV4-59* and *IGHV3-11* genes.

Conclusions. The revealed differences in distribution of stereotyped CLL cases in Ukrainian cohort are most likely to reflect variations in the genetic background, environmental factors (including IR exposure), and their interactions in different geographic areas

Key words: chronic lymphocytic leukemia, *IGHV* genes, stereotyped subsets, Chernobyl NPP accident.

Problems of Radiation Medicine and Radiobiology. 2022;27:307-323. doi: 10.33145/2304-8336-2022-27-307-323

ВСТУП

Однією з характеристик В-клітинного рецептора (ВКР) при хронічній лімфоцитарній лейкемії (ХЛЛ) є нестохастичний репертуар генів варіабельної ділянки важких ланцюгів імуноглобулінів (*IGHV*) і наявність значної частини пацієнтів з подібними або майже ідентичними послідовностями третього комплементарного регіону (heavy chain complementarity-determining region 3, HCDR3), що свідчить про розпізнавання загальних, спільних антигенних детермінант. Kipps та співавт. [1] вперше показали, що лейкозні клітини двох неспоріднених пацієнтів з ХЛЛ експресують майже ідентичні *IGHV* гени (більш ніж 99 % гомології), які реагують з моноклональними антитілами G6, спрямованими проти ау-

INTRODUCTION

One of the characteristics of the B-cell receptor (BCR) in chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the non-random repertoire of immunoglobulin heavy chain variable region (*IGHV*) genes and the presence of a significant proportion of patients with similar or almost identical variable heavy chain complementarity-determining region 3 (HCDR3) sequences, strongly suggesting recognition of a common antigenic determinant. Kipps et al. found that leukemic cells of two unrelated CLL patients expressed *IGHV* genes with greater than 99 % homology that reacted with G6 monoclonal antibody directed against autoantibodies, particularly rheumatoid factors [1]. Soon thereafter there

✉ Iryna V. Abramenko, e-mail: abramenko_iryana@ukr.net

тоантител, зокрема ревматоїдного фактору. Незабаром після цього були ідентифіковані різні кластери випадків ХЛЛ з експресією подібних (стереотипних) ВКР, що поступово збільшувало частоту стереотипних випадків серед обстежених пацієнтів [2–5]. У дослідженні Agathangelidis та співавт. [6], які провели обстеження найбільшої у світі когорти 29 856 хворих на ХЛЛ, частота стереотипії ВКР досягла піку 41 %. У той же час відзначено відмінності в структурі ВКР у хворих на ХЛЛ в різних географічних регіонах, що підтверджують потенційний антигенний вплив на ініціацію захворювання, який варіює залежно від регіону, етнічних та інших факторів [7–11].

Раніше ми вже проводили дослідження експресії окремих *IGHV* генів та наявності стереотипних випадків серед українських хворих на ХЛЛ [12, 13]. Беручи до уваги значне збільшення кількості кластерів стереотипних ВКР, ми провели перегляд отриманих нами даних.

МЕТА

Основною метою цієї роботи був порівняльний аналіз частоти та спектру стереотипних кластерів у когорті українських хворих на ХЛЛ з урахуванням наявності в анамнезі впливу іонізуючого випромінювання (ІВ).

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Когорта включала 412 хворих на ХЛЛ з продуктивними перебудовами *IGHV* генів (307 чоловіків і 105 жінок) у віці ($57,63 \pm 0,47$) років (медіана 58 років), які знаходились на лікуванні в Державній установі «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України» (ННЦРМ). Дослідження було схвалено Комітетом з медичної етики ННЦРМ, і всі пацієнти дали інформовану згоду перед участю в ньому. Діагноз ХЛЛ встановлювали за клініко-гематологічними даними, морфологічними особливостями клітин і результатами імунофенотипування. Стадію захворювання встановлювали за класифікаціями Rai [14, 15] та Binet [16].

Сто вісімнадцять пацієнтів (28,6 %) постраждали внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС. До групи пацієнтів, які зазнали впливу ІВ, входило 95 учасників ліквідації наслідків Чорнобильської аварії (учасники ЛНА) (79 учасників ЛНА 1986 року та 16 – 1987–1989 років), 6 евакуйованих та 17 мешканців територій України, забруднених радіонуклідами. Інші 294 пацієнти (71,4 %) були включені до групи порівняння без впливу ІВ в анамнезі. Серед хворих групи порівняння пере-

were identified different subsets of CLL cases carrying highly similar (stereotyped) BCR immunoglobulins, which gradually increased the frequency of stereotyped cases among examined CLL patients [2–5]. The incidence of BCR stereotypy peaked at 41 % in the study of Agathangelidis et al. [6], who investigated the largest worldwide cohort of 29,856 CLL patients. At the same time, differences in the structure of the BCR in CLL patients in different geographic regions were noted that support a potential antigenic influence in CLL initiation, which varies by region, ethnic and others factors [7–11].

Previously, we analyzed *IGHV* gene usage and stereotyped cases among Ukrainian CLL patients [12, 13]. Taking into account the significant increase in the number of stereotyped subsets, we carried out a revision of our observed CLL cases.

OBJECTIVE

Thus, the objective of the current paper was to analyze the stereotyped subsets in cohort of Ukrainian chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients in general and depending on the ionizing radiation (IR) exposure/

MATERIAL AND METHODS

Our cohort included 412 unselected CLL patients with productive *IGHV* gene rearrangements (307 men and 105 women) aged 57.63 ± 0.47 years (median 58 years). All patients were managed at the State Institution «National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» (NRCRM). The study was approved by the local Medical Ethics Committee, and all patients gave informed consent prior to participation in it. The diagnosis of CLL was based on clinical history, lymphocyte morphology, and immunophenotypic criteria. Stage of disease was established according to the Rai [14, 15] and Binet [16].

One hundred eighteen patients (28.6 %) were the sufferers of Chernobyl NPP accident. This group of ionizing radiation (IR) exposed patients consisted of 95 clean-up workers (79 clean-up workers of 1986 and 16 clean-up workers of 1987–1989), 6 evacuees, and 17 inhabitants of radionuclide contaminated areas. The other 294 patients (71.4 %) were included in IR non-exposed group of comparison. Residents of Poltava region (38.5 %) and Kyiv

Таблиця 1

Клініко-гематологічна характеристика обстежених хворих на ХЛЛ

Table 1

Baseline characteristics of observed chronic lymphocytic leukemia patients

| Показники Characteristics | Неопромінені хворі IR non-exposed patients n = 294 | Хворі із впливом ІВ в анамнезі / IR-exposed patients | | | |
|---|--|--|--|---|----------------------------------|
| | | всі all n = 118 | учасники ЛНА clean-up workers n = 95 | мешканці КТ ¹ inhabitants of RCA ¹ n = 17 | евакуйовані evacuees n = 6 |
| Стать жіноча / чоловіча (жінки, %) / Sex, female / male (women, %) | 94/200 (32,0) | 11/107 (9,3) | 2/93 (2,1) | 4/13 (23,5) | 5/1 (83,3) |
| Вік, роки (M ± m) / Age, years (M ± m) | 57,61 ± 0,56 | 57,69 ± 0,64 | 57,82 ± 0,97 | 58,53 ± 1,52 | 53,33 ± 4,66 |
| Стадія за Binet, n (%) / Stage at Binet, n (%) | | | | | |
| A | 142 (48,3) | 56 (47,4) | 47 (49,5) | 5 (29,4) | 4 (66,7) |
| B | 109 (37,1) | 52 (44,1) | 40 (42,1) | 10 (58,8) | 2 (33,3) |
| C | 43 (14,6) | 10 (8,5) | 8 (8,4) | 2 (11,8) | 0 |

Примітка. ¹Контаміновані території.
Note. ¹Radionuclide contaminated areas.

важали жителі Полтавщини (38,5 %) та Києва (30,4 %), що належать до одного гено-географічного регіону України (Центрально-Український регіон). Розподіл пацієнтів у кожній групі за статтю, віком і стадією захворювання наведено в табл. 1.

Були проаналізовані клінічні дані на момент встановлення діагнозу, тривалість періоду до початку лікування (time-to-treatment, TTT), загальна виживаність (overall survival, OS), розвиток аутоімунної гемолітичної анемії (АГА), вторинних солідних пухлин і трансформації Ріхтера. Діагноз АГА встановлювали за такими критеріями: анемія (гемоглобін < 12 г/дл), лабораторні ознаки гемолізу (підвищення рівня білірубіну, ретикулоцитоз), наявність антиеритроцитарних аутоантитіл, виявлених прямим антиглобуліновим тестом. Діагноз синдрому Ріхтера встановлювали згідно з рекомендаціями IWCLL-NCI [17].

Геному ДНК та загальну РНК отримували з мононуклеарів периферичної крові за допомогою набору QIAamp Blood Mini Kit (Qiagen, Великобританія). Мутаційний статус *IGHV* генів визначали методом полімеразної ланцюгової реакції з наступним секвенуванням, як описано раніше [18]. Аналіз проводили за допомогою баз даних IgBlast та IMGT. *IGHV* послідовності з гомологією до найближчого гермінативного гена $\geq 98\%$ розцінювали як немутовані (unmutated, UM), а з гомологією < 98 % – як мутовані (mutated, M) [19, 20]. Випадки зі стереотипними ВКР визначали за критеріями Agathangelidis та співавт. [6].

Мутації генів *NOTCH1*, *TP53* та *SF3B1* були виявлені, як описано раніше [21].

(30.4 %), which belong to one gene-geographical region of Ukraine (Central-Ukrainian region), predominated among IR non-exposed CLL patients. The distribution of patients in each category by sex, age, and stage of disease are detailed in Table 1.

The following patient characteristics were analyzed: clinical data at the time of diagnosis, time-to-treatment (TTT) period, overall survival (OS), development of autoimmune haemolytic anemia (AIHA), secondary solid tumors formation and Richter transformation. Diagnosis of AIHA was established based on the following criteria: anemia (Hb < 12 g/dL), laboratory signs of hemolysis (increased bilirubin, reticulocytosis) and the presence of anti-erythrocyte autoantibodies detected by the direct antiglobulin test. The diagnosis of Richter syndrome was established according to the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukaemia (IWCLL)-NCI guidelines [17].

Genomic DNA for molecular analysis was extracted from peripheral blood mononuclear cells with the QIAamp Blood Mini Kit (Qiagen, UK). The *IGHV* gene mutational status was assessed by PCR amplification followed by a direct sequencing, as described above [18]. Sequences were analyzed using the IgBlast and IMGT databases. Sequences with $\geq 98\%$ homology with the corresponding germ-line *IGHV* gene were considered as unmutated (UM), and cases with < 98 % homology were considered to be mutated (M) [19, 20]. Cases with stereotyped BCRs were identified according to Agathangelidis et al. [6].

Mutations of *NOTCH1*, *TP53* and *SF3B1* genes were detected as described early [21].

Тривалість періоду TTT і OS розраховували від встановлення діагнозу до початку лікування хворого або смерті, відповідно. Дані оцінювали методом Каплан-Майєра та за допомогою log-rank тесту і регресії Кокса. Статистичні дослідження проведені з використання програмного пакету SPSS 20.0 (SPSS, Чикаго, Іллінойс). Усі значення p були двосторонніми, а значення $p < 0,05$ вважали статистично значущим.

РЕЗУЛЬТАТИ

Випадки ХЛЛ з UM *IGHV* генами переважали в усіх категоріях хворих, за винятком невеликої підгрупи евакуйованих (табл. 2). У всіх підгрупах розподіл окремих родин *IGHV* генів був таким: *IGHV3* > *IGHV1* > *IGHV4*, хоча частота *IGHV1* генів мала тенденцію до зниження серед опромінених хворих (26,3 %; $p = 0,049$) і, зокрема, серед учасників ЛНА (25,3 %; $p = 0,046$) порівняно з пацієнтами групи порівняння (36,4 %).

В цілому, 208 із 412 випадків (50,5 %) були віднесені до 160 різних кластерів зі стереотипними ВКР. Один випадок з реаранжуванням *IGHV1-2/2-21/3* і 100 % гомологією HCDR3 з послідовностями кластера #119 (реаранжування *IGHV4-59/2-21/3*) не був віднесений до стереотипних випадків. Частота стереотипних випадків між окремими категоріями обстежених хворих на ХЛЛ достовірно не розрізнялась ($p > 0,05$) (табл. 2).

Відносна кількість стереотипних випадків у загальній когорті ХЛЛ була вища за UM *IGHV* генів (152 із 279; 54,5 %), ніж за мутованих (56 із 133; 42,1 %), $p = 0,021$. Однак це твердження було

TTT and OS were calculated from diagnosis to start of the first CLL treatment or death, respectively. Patients without documented event were censored at time of last contact. Survival rates were estimated by Kaplan-Meier statistic with log-rank test and Cox regression. Statistics were performed using the SPSS 20.0 software package (SPSS, Chicago, IL). All p values are two-sided, and p value < 0.05 was considered to be statistically significant.

RESULTS

UM *IGHV* cases prevailed in all categories of observed CLL patients with the exception of a small subgroup of evacuees (Table 2). All groups presented *IGHV3* > *IGHV1* > *IGHV4* distribution, although *IGHV1* frequency tended to decrease among IR-exposed patients (26.3 %; $p = 0.049$) and, in particular, among clean-up workers (25.3 %; $p = 0.046$) compared to IR non-exposed patients (36.4 %).

In total, 208 of 412 cases, representing 50.5 % of the Ukrainian cohort, were assigned to 160 different stereotyped clusters. One case with *IGHV1-2/2-21/3* rearrangement and 100 % homology of HCDR3 region to sequences of cluster #119 (*IGHV4-59/2-21/3* rearrangement) was not included in the stereotyped cases. The frequency of stereotyped cases between separate categories of observed CLL patients were insignificant ($p > 0.05$) (Table 2).

The incidence of stereotyped cases in total CLL cohort was higher in UM *IGHV* cases (152 of 279; 54.5 %) compared to mutated ones (56 of 133; 42.1 %), $p = 0.021$. However, this statement was only true for

Таблиця 2
Стереотипні випадки у групах обстежених хворих на ХЛЛ

Table 2
Stereotyped cases in groups of observed CLL patients

| Показники Characteristics | Неопромінені хворі IR non-exposed patients n (%) | Хворі із впливом ІВ в анамнезі / IR-exposed patients, n (%) | | | |
|---|--|---|----------------------------------|---|-------------------------|
| | | всі all | учасники ЛНА clean-up workers | мешканці КТ ¹ inhabitants of RCA ¹ | евакуйовані evacuees |
| В цілому / Total | 294 (100) | 118 (100) | 95 (100) | 17 (100) | 6 (100) |
| М <i>IGHV</i> випадки / M <i>IGHV</i> cases | 94 (32,0) | 39 (33,1) | 32 (33,7) | 3 (17,6) | 4 (66,7) |
| UM <i>IGHV</i> випадки / UM <i>IGHV</i> cases | 200 (68,0) | 79 (66,9) | 63 (66,3) | 14 (82,4) | 2 (33,3) |
| Стереотипні випадки / Stereotyped cases | 154 (52,4) | 54 (45,8) | 41 (43,2) | 8 (47,1) | 5 (83,3) |
| > з М <i>IGHV</i> генами / in M <i>IGHV</i> cases | 40 (42,6) | 16 (41,0) | 12 (37,5) | 1 (33,3) | 3 (75,0) |
| > з UM <i>IGHV</i> генами / in UM <i>IGHV</i> cases | 114 (57,0) | 38 (48,1) | 29 (46,0) | 7 (50,0) | 2 (100,0) |
| Мажорні кластери / Major subsets | 44 (15,0) | 15 (12,7) | 10 (10,5) | 3 (17,6) | 2 (33,3) |
| Мінорні кластери / Minor subsets | 110 (37,4) | 39 (33,1) | 31 (32,6) | 5 (29,4) | 3 (50,0) |

Примітка. ¹Контаміновані території.
Note. ¹Radionuclide contaminated areas.

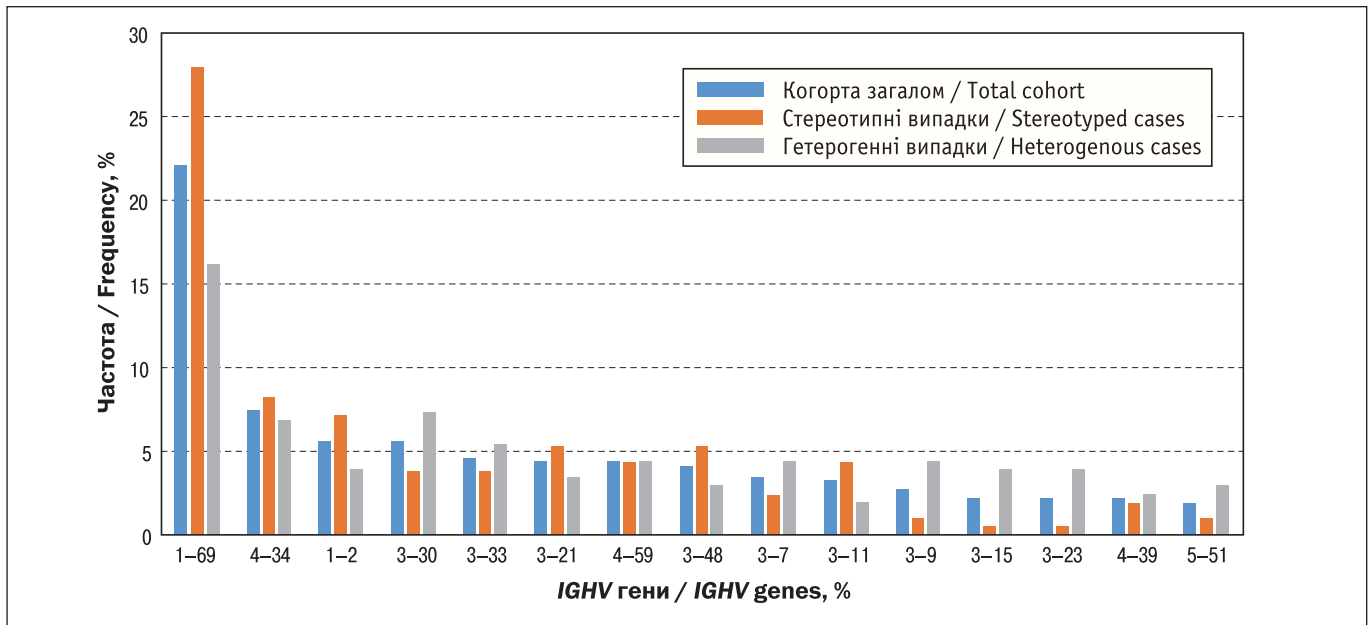


Рисунок 1. Частота окремих *IGHV* генів залежно від стереотипії В-клітинного рецептора

Figure 1. The frequencies of the *IGHV* genes depending on BCR stereotypy

справедливе лише для хворих групи порівняння ($p = 0,024$). Серед пацієнтів з ХЛЛ, які мали вплив ІВ в анамнезі, частота стереотипних випадків не розрізнялась залежно від мутаційного статусу *IGHV* генів ($p = 0,557$).

Серед стереотипних випадків порівняно з гетерогенними частіше експресувався ген *IGHV1-69* (27,9 % проти 16,2 %; $p = 0,004$), і, навпаки, рідше були виявлені гени *IGHV3-9* (1 % проти 4,3 %; $p = 0,029$), *IGHV3-15* (0,5 % проти 3,9 %; $p = 0,016$), *IGHV3-23* (0,5 % проти 3,9 %; $p = 0,016$). Частоти інших *IGHV* генів не відрізнялися залежно від стереотипії ВКР (рис. 1).

Однак ці закономірності були виявлені також лише у пацієнтів групи порівняння, в якій була відзначена висока частота гена *IGHV1-69* (30,6 % проти 16,4 %; $p = 0,004$) та знижена частота генів *IGHV3-9* (0 % проти 4,3 %), *IGHV3-15* (0 % проти 3,6 %) і *IGHV3-23* (0,6 % проти 4,3 %; $p = 0,041$) серед стереотипних випадків порівняно з гетерогенними. Відмінностей у спектрі використаних *IGHV* генів залежно від стереотипії ВКР у пацієнтів із впливом ІВ в анамнезі ($p = 0,434$), зокрема, серед учасників ЛНА ($p = 0,508$) не виявлено.

У всій когорті хворих на ХЛЛ було ідентифіковано 25 мажорних кластерів. Кількість випадків, включених до мажорних кластерів, становила 15 % серед усіх послідовностей і 28,4 % серед стереотипних випадків. Приблизно дві третини послідовностей, що входили до мажорних кластерів, експресували UM *IGHV* гени (39 послідовностей, 66,1 %). Найбільш представле-

IR-non exposed CLL patients ($p = 0.024$). Among IR-exposed CLL patients the incidence of stereotyped cases in the *IGHV* mutated subgroup was comparable with that in the *IGHV* unmutated subgroup ($p = 0.557$).

The frequency of *IGHV1-69* expressing cases was higher among stereotyped cases compared to heterogeneous ones (27.9 % vs 16.2 %; $p = 0.004$), and the frequencies of *IGHV3-9* (1 % vs 4.4 %; $p = 0.029$), *IGHV3-15* (0.5 % vs 3.9 %; $p = 0.016$), *IGHV3-23* (0.5 % vs 3.9 %; $p = 0.016$) expressing cases were lower. The frequencies of the other *IGHV* genes did not differ depending on BCR stereotypy (Fig. 1).

However, these patterns were found only in IR non-exposed patients, where overexpression of *IGHV1-69* gene (30.6 % vs 16.4 %; $p = 0.004$) and decreased expression of *IGHV3-9* (0 % vs 4.3 %), *IGHV3-15* (0 % vs 3.6 %), *IGHV3-23* (0.6 % vs 4.3 %; $p = 0.041$) genes were noted among stereotyped cases compared to heterogeneous ones. No differences in *IGHV* gene repertoires depending on BCR stereotypy were found in IR-exposed patients ($p = 0.434$), in particular, among clean-up workers ($p = 0.508$).

Twenty-five major subsets have been identified in all CLL cohort. The number of cases included in major subsets was 15 % among all sequences and 28.4 % among stereotyped cases. About two thirds of the sequences within major subsets expressed UM *IGHV* genes (39 sequences, 66.1 %). The most represented were subset #1 (UM *IGHV*, 11 sequences,

ними були кластер #1 (UM *IGHV* гени, 11 послідовностей, 2,7 %), кластери #2 (M *IGHV* гени, 6 послідовностей, 1,5 %), #6 (UM *IGHV* гени, 6 послідовностей, 1,5 %), #5 (UM *IGHV* гени, 4 послідовності, 1 %), #4 (M *IGHV* гени, 4 послідовності, 1 %) і #3C3 (UM *IGHV* гени, 3 послідовності, 0,7 %). Інші мажорні кластери були представлені одним або двома випадками. Кластери #8, #8a та #169 не були ідентифіковані.

Міnorні кластери (n = 137) включали 149 випадків, переважно з UM *IGHV* генами (113 послідовностей, 75,8 %). Два кластери включали по три випадки (#5B і #V4|J4.5.6|18|5), дев'ять кластерів включали по два випадки кожен (#5E, #7F2, #7E2, #23B, #50, #64A, #117A, #V3|J6|23|16 і #V4-59|J6|23|1), інші кластери були представлені по одному випадку (стереотипні випадки наведено в додатковій таблиці на сайті <https://www.researchgate.net/profile/Chumak-Anatolii>).

Згідно з концепцією Agathangelidis та співавт. [6], 16 випадків серед міnorних кластерів (всі в контрольній групі хворих) розцінені як сателіти до кластерів #7C2 (6 випадків), #31 (3 випадки), #64B (2 випадки), в #77, #148B, #169, #188, #202 (по 1 випадку в кожному).

Між мажорними і міnorними кластерами з експресією UM *IGHV* генів виявлені відмінності у спектрі використаних *IGHV* генів, а саме значне зменшення частоти *IGHV1* генів з відповідним збільшенням частоти *IGHV3* та *IGHV4* генів у послідовностях міnorних кластерів ($p = 0,001$) (рис. 2).

Тринадцять із 162 стереотипних кластерів (8,0 %) були знайдені як у групі пацієнтів з ХЛЛ із впливом

2,7 %), followed by subsets #2 (M *IGHV*, 6 sequences, 1.5 %), #6 (UM *IGHV*, 6 sequences, 1.5 %), #5 (UM *IGHV*, 4 sequences, 1 %), #4 (M *IGHV*, 4 sequences, 1 %), and #3C3 (UM *IGHV*, 3 sequences, 0.7 %). Other major subsets were represented by one or two cases. Subsets #8, #8a, and #169 were not identified.

Minor clusters (n = 137) included 149 cases, mostly with UM *IGHV* genes (113 sequences, 75.8 %). Two clusters included three cases each (#5B and #V4|J4.5.6|18|5), nine clusters included two cases each (#5E, #7F2, #7E2, #23B, #50, #64A, #117A, #V3|J6|23|16, #V4-59|J6|23|1), and other clusters were represented by one case each (stereotyped cases are given in supplemental Table posted at <https://www.researchgate.net/profile/Chumak-Anatolii>).

According to the concept of Agathangelidis et al. [6], 16 cases among minor clusters (all in the group of IR non-exposed CLL patients) were regarded as satellites to clusters #7C2 (6 cases), #31 (three cases), #64B (two cases), and #77, #148B, #169, #188, #202 (one case in each).

Differences in *IGHV* gene usage were found between major and minor subsets in UM *IGHV* cases, namely a significant decrease in *IGHV1* genes with a corresponding increase in the frequency of *IGHV3* and *IGHV4* genes in sequences of minor subsets ($p = 0.001$) (Fig. 2).

Thirteen of 162 stereotyped subsets (8.0 %) were present in both the group of IR-exposed and IR

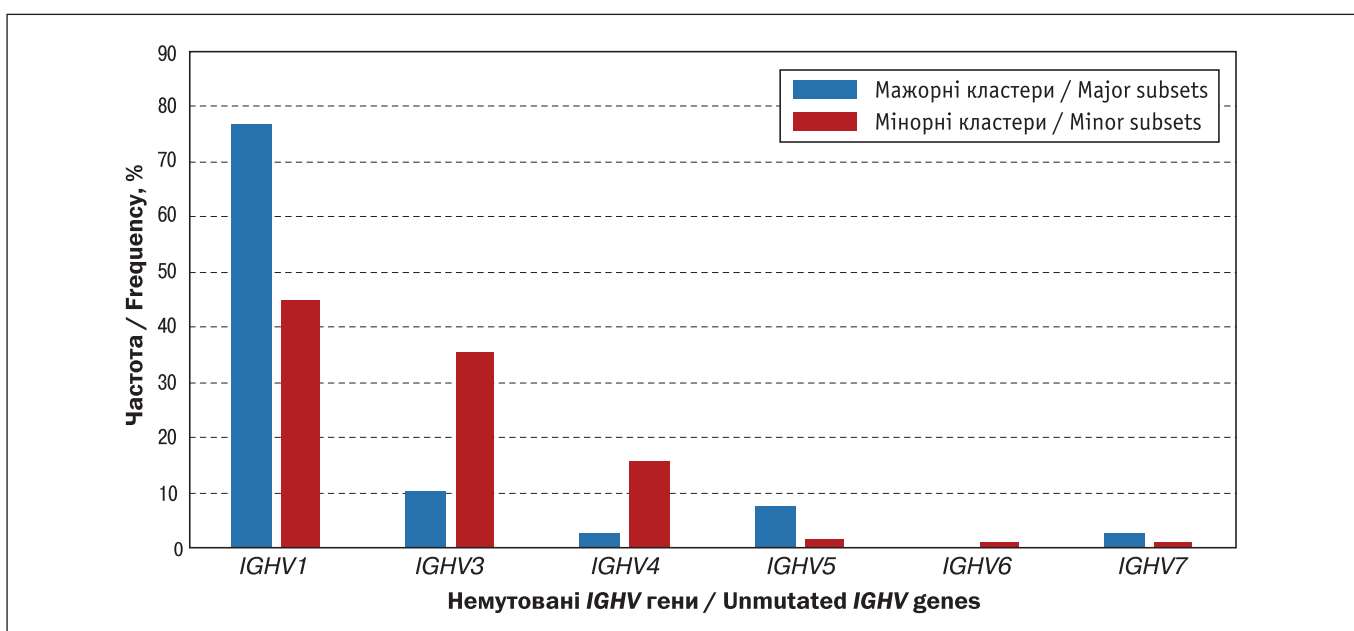


Рисунок 2. Частота *IGHV* генів різних родин у складі мажорних та міnorних стереотипних кластерів
Figure 2. The frequencies of the *IGHV* gene's families depending in major and minor stereotyped subsets

ІВ в анамнезі, так і в групі порівняння. Зокрема, серед мажорних кластерів це: кластер #1 (2,5 % в групі опромінених і 2,7 % в групі неопромінених хворих), #2 (0,8 % і 1,7 %), #3С3 (0,8 % і 0,7 %), #4 (0,8 % і 1 %), #5 (0,8 % і 1 %), #6 (0,8 % і 1,7 %), #16 (0,8 % і 0,3 %), #28А (0,8 % і 0,3 %) і #64В (0,8 % і 0,3 % відповідно).

Однак, стереотипні випадки серед опромінених хворих на ХЛЛ були більш різноманітними. Тільки послідовності кластеру #1 були виявлені у трьох хворих, всі інші кластери були представлені одним випадком кожен. Якщо в групі порівняння 154 стереотипні випадки були віднесені до 123 кластерів (16 із 123 кластерів містили більше однієї послідовності, 13,0 %), то в групі опромінених хворих на ХЛЛ 54 стереотипні випадки належали до 52 різних кластерів. (лише один кластер #1 містив більше однієї послідовності, 1,9 %; $p = 0,02$). Крім того, серед учасників ЛНА не виявлено випадків кластерів #6, #7С2 та їхніх сателітів.

Асоціація ВРК стереотипії з клінічними та біологічними характеристиками

Клінічні дані

Хворі на ХЛЛ з UM IGHV генами порівняно з хворими з експресією M IGHV генів частіше мали більш розгорнуту стадію захворювання за Binet ($p = 0,001$) та вищий ініціальний лейкоцитоз (медіана 32,0 проти $18,9 \times 10^9/\text{л}$; $p = 0,001$). Пацієнти, які належали до кластера #4, були молодшими порівняно з іншими пацієнтами ($p = 0,017$) (табл. 3).

За час спостереження (медіана 77,5 місяця, діапазон 3–295 місяців) 326 хворих на ХЛЛ (79,1 %) от-

non-exposed CLL patients. Namely, among the major subsets there were subset #1 (2.5 % in IR-exposed and 2.7 % in IR non-exposed), #2 (0.8 % and 1.7 %), #3C3 (0.8 % and 0.7 %), #4 (0.8 % and 1 %), #5 (0.8 % and 1 %), #6 (0.8 % and 1.7 %), #16 (0.8 % and 0.3 %), #28A (0.8 % and 0.3 %), and #64B (0.8 % and 0.3 % correspondingly).

However, the stereotypical cases among IR-exposed CLL patients were more variable. Only subset #1 was identified in three cases, the remaining subsets contained only one sequence in this group of patients. If in the group of IR non-exposed CLL patients 154 stereotyped cases were included in 123 subsets (16 of 123 subsets contained more than one sequence, 13.0 %), in the group IR-exposed CLL patients 54 stereotyped cases belonged to 52 different clusters (only one subset #1 contained more than one sequence, 1.9 %; $p = 0.02$). In addition, no cases of subsets #6, #7C2 and its satellites were found among clean-up workers.

The association of BCR stereotypy with clinical and biological characteristics

Clinical data

CLL patients with UM IGHV genes compared with patients with M IGHV genes were more likely to have an advanced stage at Binet ($p = 0.001$) and a higher initial leukocyte count (median 32.0 vs $18.9 \times 10^9/\text{L}$; $p = 0.001$). Patients belonged to subset #4 were younger compared to other patients ($p = 0.017$) (Table 3).

During the observation (median 77.5 months, range 3–295 months) of 326 CLL patients (79.1 %) ot-

Таблиця 3

Клінічні і молекулярні характеристики хворих з експресією мутованих і немутованих IGHV генів та найбільш представлених стереотипних кластерів [n (%)]

Table 3

Clinical and molecular parameters of patients with mutated and unmutated IGHV genes and belonged to the most represented stereotyped clusters [n (%)]

| Параметри Characteristics | UM IGHV UM IGHV, | M IGHV M IGHV | Кластер #1 Cluster #1 | Кластер #6 Cluster #6 | Кластер #2, Cluster #2 | Кластер #4 Cluster #4 |
|---|---------------------|------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Кількість хворих / Total | 279 (100) | 133 (100) | 11 (100) | 6 (100) | 6 (100) | 4 (100) |
| Вік / Age | 57,28±0,55 | 58,35±0,88 | 59,16±1,51 | 62,16±4,14 | 52,33±3,05 | 46,25±3,42 |
| Стать, чоловіки / Gender, male | 215 (77,1) | 92 (69,2) | 6 (54,5) | 4 (66,7) | 5 (83,3) | 2 (50,0) |
| А стадія за Binet / Binet A stage | 113 (40,5) | 85 (63,9) | 4 (36,4) | 2 (33,3) | 3 (50,0) | 2 (50,0) |
| Лейкоцитоз $\geq 20 \times 10^9/\text{л}$ // WBC count $\geq 20 \times 10^9/\text{л}$ | 187 (67,0) | 63 (47,3) | 9 (81,1) | 4 (66,7) | 3 (50,0) | 1 (25,0) |
| АГА / АІНА | 39 (14,0) | 8 (6,0) | 1 (9,1) | 0 | 3 (50,0) | 0 |
| NOTCH1 мутації / NOTCH1 mutations | 36/222 (16,2) | 1/100 (1) | 4/9 (44,4) | 1/6 (16,6) | 1/6 (16,6) | 0/4 (0) |
| SF3B1 мутації / SF3B1 mutations | 17/150 (11,3) | 6/88 (6,8) | 0/7 (0) | 0/3 (0) | 3/6 (50,0) | 0/4 (0) |
| TP53 мутації / TP53 mutations | 22/163 (13,5) | 6/92 (6,5) | 1/8 (12,5) | 0/4 (0) | 0/4 (0) | 0/3 (0) |
| ТТТ, медіана, місяці / TTT, median, months | 10 | 50 | 7 | 13 | 6 | 228 |
| OS, медіана, місяці / OS, median, months | 70 | 143 | 111 | 53 | 133 | 328 |

римали терапію першої лінії. Період ТТТ був значно коротшим у пацієнтів з експресією UM *IGHV* генів порівняно з пацієнтами з M *IGHV* генами ($p = 0,001$). Відмінності в тривалості ТТТ у пацієнтів, які належали до різних стереотипних кластерів, враховуючи мутаційний статус *IGHV* генів, були недостовірними, швидше за все, через малу кількість випадків у кожному кластері. Лише хворі кластеру #4 мали тенденцію мати довший ТТТ порівняно з хворими кластеру #2 ($p = 0,057$).

У нашій когорті хворих на ХЛЛ було виявлено 47 пацієнтів з АГА (11,4 %). Це ускладнення розвинулось у 13 пацієнтів до початку лікування ХЛЛ та у 34 пацієнтів – після початку терапії. АГА частіше зустрічалась у пацієнтів з експресією UM *IGHV* генів (39 випадків (13,9 %), порівняно з 8 випадками (6,0 %) при M *IGHV* генах; $p = 0,017$). Найбільша частота АГА була виявлена у хворих кластеру #2 (у 3 із 6 випадків, 50 %) порівняно з іншими хворими з експресією M *IGHV* генів (5 із 127 мутованих випадків, 3,9 %), $p = 0,001$. За експресією UM *IGHV* генів серед хворих на ХЛЛ з АГА, на відміну від пацієнтів без АГА, частіше виявляли гени *IGHV4-59* (12,8 % проти 2,5 %; $p = 0,002$) і *IGHV3-11* (12,8 % проти 3,3 %; $p = 0,009$), незалежно від стереотипії ВКР.

Не виявлено чітких зв'язків між стереотипією ВКР і розвитком у хворих вторинних пухлин або трансформації Ріхтера. Слід зазначити, що в нашій когорті випадків кластеру #8, за яким ризик трансформації Ріхтера підвищений, не знайдено [22].

Мутації *NOTCH1*, *SF3B1*, *TP53* генів

Мутації гена *NOTCH1* були досліджені у 322 хворих на ХЛЛ. Ідентифіковано 37 мутацій, 34 з яких були представлені делецією c.7544_7545delCT, а три випадки – мутаціями в ділянці 3'UTR гена (139390152T>C - два випадки і 139390145T>C - один випадок). Більшість мутацій гена *NOTCH1* (97,3 %) було виявлено у пацієнтів з ХЛЛ з UM *IGHV* генами. Лише один випадок мутації гена *NOTCH1* був виявлений у пацієнта з M *IGHV* генами (кластер #2). Серед випадків ХЛЛ з експресією UM *IGHV* генів частота мутацій гена *NOTCH1* не відрізнялася у випадках зі стереотипними чи гетерогенними послідовностями (17,4 % і 14,9 % відповідно; $p = 0,614$). Однак, серед стереотипних випадків частота мутацій гена *NOTCH1* була значно вищою (42,3 %) у випадках з експресією UM *IGHV* генів клану I, крім гена *IGHV1-69*, порівняно з іншими UM *IGHV* генами, $p = 0,001$ (рис. 3). У цій підгрупі мутації гена *NOTCH1* були присутні в 7 з 19 виявлених кластерів (36,8 %), а саме

receiving first-line therapy. TTT period was significantly shorter in patients with UM *IGHV* genes compared with patients with M *IGHV* genes ($p = 0.001$). Differences in TTT duration in patients belonged to different stereotyped subsets, taking into account the mutational status of *IGHV* genes, were insignificant, most likely due to the small number of cases in each subset. Only cluster #4 tended to have a longer TTT compared to subset #2 ($p = 0.057$).

Forty-seven patients with AIHA (11.4 %) were identified in our CLL cohort. AIHA developed in 13 patients before the start of CLL treatment and in 34 patients- after the start of the therapy. AIHA was more common in patients with UM *IGHV* genes (39 cases, 13.9 % compared with eight cases, 6.0 %, in M CLL cases; $p = 0.017$). A remarkable frequency of AIHA was found in subset #2 (three of 6 cases; 50 %) compared to other M *IGHV* cases (five of 127 M cases; 3.9 %), $p = 0.001$. Among UM *IGHV* cases CLL patients with AIHA in contrast to patients without AIHA more often expressed *IGHV4-59* (12.8 % vs 2.5 %; $p = 0.002$) and *IGHV3-11* (12.8 % vs 3.3 %; $p = 0.009$) genes, regardless of BCR stereotypy.

No clear associations were found between BCR stereotypy and the development of secondary tumors or Richter transformation. It should be noted that there were no cases of cluster #8 in our cohort, in which the risk of Richter transformation is increased [22].

Mutations of *NOTCH1*, *SF3B1*, *TP53* genes

NOTCH1 mutations were studied in 322 CLL patients. Thirty-seven mutations have been identified, 34 of them were represented by a c.7544_7545delCT deletion, and three cases by a mutations in the 3'UTR region of the *NOTCH1* gene (139390152T>C, two cases and 139390145T>C, one case). Most *NOTCH1* mutations (97.3 %) were detected in CLL patients with UM *IGHV* genes. Only one case of *NOTCH1* mutation was found in a patient with M *IGHV* genes (subset #2). Among CLL cases with UM *IGHV* genes, the frequency of *NOTCH1* mutations did not differ in cases with stereotyped BCR and heterogeneous sequences (17.4 % and 14.9 %, correspondingly; $p = 0.614$). However, among the stereotyped cases, the frequency of *NOTCH1* mutations was significantly higher (42.3 %) in cases with expression of UM *IGHV* clan I genes, except *IGHV1-69*, comparing to others *IGHV* genes, $p = 0.001$ (Fig. 3). In this sub-

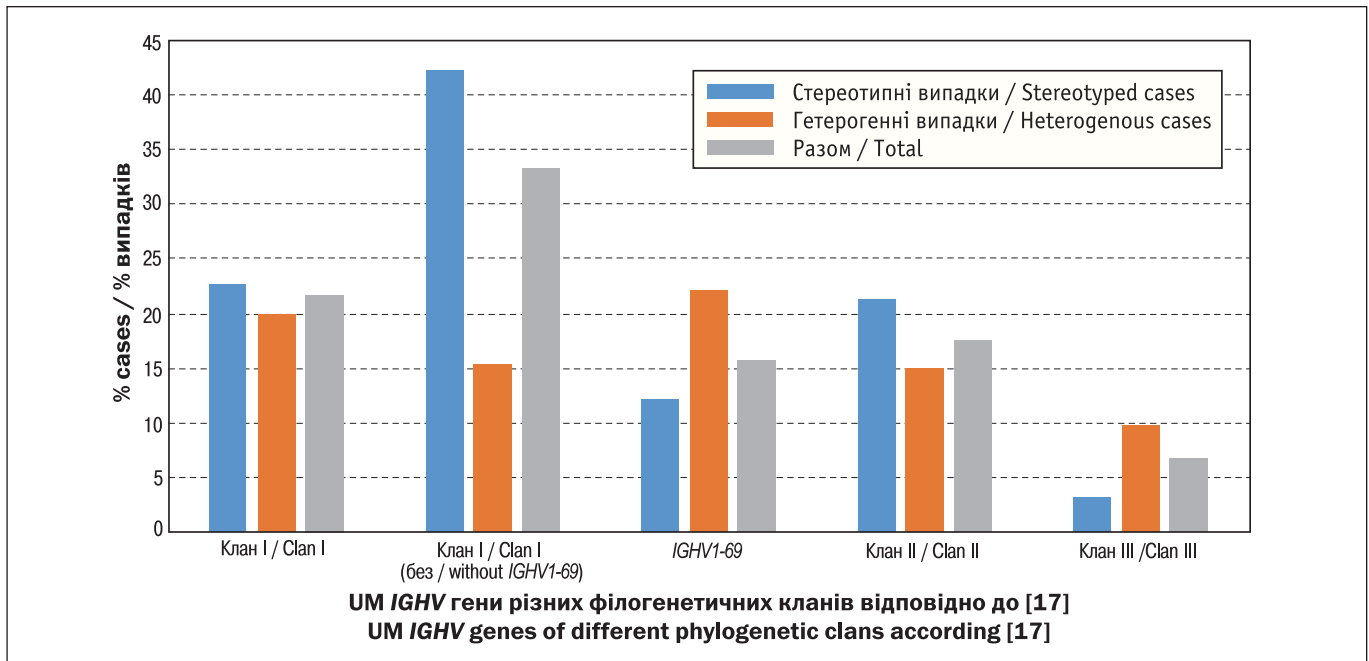


Рисунок 3. Частота *NOTCH1* мутацій у випадках ХЛЛ з експресією UM *IGHV* генів різних філогенетичних кланів

Figure 3. The frequencies of *NOTCH1* mutations in CLL cases with expression of UM *IGHV* genes of different phylogenetic clans

у складі кластерів #1 (чотири з дев'яти, 44,4 %), #28А (два випадки, обидва *NOTCH1*-мутовані), #59 (один з двох), #117А, #96, #99, #V1-2|J6|22|2 (по одному випадку в кожному і всі *NOTCH1*-мутовані). Серед стереотипних випадків з експресією UM *IGHV1-69* гена *NOTCH1* мутації були виявлені в кластерах #6 (один із шести випадків, 16,7 %), #9Е4, #V1-69|J6|21|15, #V1-69|J6|25|2, #V1-69|J6|22|1 і #V1|J6|19|1 (по одному випадку в кожному і всі *NOTCH1*-мутовані), всього – у 6 із 41 виявлених кластерів з експресією UM *IGHV1-69* гена (14,6 %).

Мутації гена *SF3B1* були досліджені у 238 хворих з ХЛЛ. Майже всі ідентифіковані *SF3B1* мутації (22/23, 95,6 %) були гетерозиготними міссенс-замінами, і тільки одна представлена делецією с.2352-2360del19. Не виявлено відмінностей у розподілі *SF3B1* мутацій залежно від мутаційного статусу *IGHV* генів ($p = 0,364$) або їх належності до того чи іншого філогенетичного клану ($p = 0,448$). Найвища частота мутацій гена *SF3B1* була виявлена у послідовностях кластеру #2 (у трьох із шести випадків; 50 %) порівняно з іншими випадками (8,6 %), $p = 0,013$. На жаль, *SF3B1* мутації були досліджені лише в одному з двох випадків кластера #3С2 та в одному з трьох випадків кластера #3С3. В обох випадках *SF3B1* мутації були виявлені.

Мутації гена *TP53* були досліджені у 255 пацієнтів з ХЛЛ та виявлені у 28 хворих. Тоді як *TP53* мутації у

group, *NOTCH1* mutations were present in 7 of 19 detected clusters (36.8 %), namely: clusters #1 (four of nine, 44.4 %), #28А (two cases, both *NOTCH1*-mutated), #59 (1 of 2), #117А, #96, #99, #V1-2|J6|22|2 (one case in each and all *NOTCH1*-mutated). Among stereotyped cases with UM *IGHV1-69* gene expression *NOTCH1* mutations were found in clusters #6 (one of six cases, 16.7 %), #9Е4, #V1-69|J6|21|15, #V1-69|J6|25|2, #V1-69|J6|22|1, and #V1|J6|19|1 (one case in each and all *NOTCH1*-mutated), in total - in 6 of 41 detected clusters (14.6 %).

SF3B1 mutations were studied in 238 CLL patients. Almost all identified *SF3B1* mutations (22/23, 95.6 %) were heterozygous missense substitutions and only one in-frame deletion с.2352-2360del19 was detected. No differences in the distribution of *SF3B1* mutations depending on the mutational status ($p = 0.364$) or different phylogenetic clan *IGHV* genes expression ($p = 0.448$) were found. A higher frequency of *SF3B1* mutations was revealed in subset #2 (three of 6 cases; 50 %) compared to other cases (8.6 %), $p = 0.013$. Unfortunately, *SF3B1* mutations were investigated only in one of two cases of cluster #3С2 and in one of three cases of cluster #3С3. In both cases *SF3B1* mutations were revealed.

TP53 mutations were studied in 255 CLL patients. Overall, *TP53* mutations were detected in 28 CLL

хворих на ХЛЛ групи порівняння переважали за експресії UM *IGHV* генів (15,1 % проти 3,6 % у випадках з M *IGHV* генами; $p = 0,013$), у пацієнтів з ХЛЛ, які мали в анамнезі вплив ІВ, частота *TP53* мутацій у випадках з UM і M *IGHV* генами не відрізнялась (11,4 % проти 10,8 %; $p = 0,923$). Не було виявлено зв'язку появи мутацій гена *TP53* зі стереотипією ВКР як у загальній когорті ХЛЛ ($p = 0,690$), серед пацієнтів, які зазнали впливу ІВ ($p = 0,767$), так і серед неопромієних хворих ($p = 0,425$).

Загальне виживання

За період спостереження помер 301 пацієнт. Медіана OS становила 84 місяці. Фактори, які були пов'язані з OS при однофакторному регресійному аналізі, наведені в табл. 4. Одним із них була експресія гена *IGHV3-21* незалежно від стереотипії ВКР: медіана OS становила 133 міс. у хворих кластеру #2 (всі випадки експресували M *IGHV3-21* ген) та 73 міс. у випадках з експресією гетерогенного M *IGHV3-21* гена ($p = 0,131$).

При мультіваріантному аналізі (поетапний метод) наступні фактори були асоційовані з OS: клінічна стадія (Binet A vs Binet B–C; $p = 0,001$), мутаційний статус *IGHV* генів ($p = 0,001$), експресія гена *IGHV3-21* ($p = 0,001$), ініціальний лейкоцитоз

patients. While *TP53* mutations in IR-non exposed CLL patients had tendency to be clustered in UM *IGHV* cases (15.1 % vs 3.6 % in M *IGHV* cases; $p = 0.013$), in IR-exposed CLL patients the distribution of *TP53* mutations among UM and M *IGHV* cases did not differ (11.4 % vs 10.8 %; $p = 0.923$). No association with BCR stereotypy was found both in total CLL cohort ($p = 0.690$), among IR-exposed patients ($p = 0.767$) or among IR-non exposed patients ($p = 0.425$).

Overall survival

During the observation period 301 patients died. Median of OS was 84 months. Factors, that were associated with OS in univariate analysis, are listed in Table 4. One of the factors was expression of *IGHV3-21* gene regardless BCR stereotypy: median of OS was 133 months in cluster #2 (all cases expressed M *IGHV* gene) and 73 months in cases with expression of heterogeneous M *IGHV3-21* gene ($p = 0.131$).

In multivariate analysis (method forward stepwise), the following factors were predictive for OS: clinical stage (Binet A vs Binet B–C; $p = 0.001$), mutational status of *IGHV* genes ($p = 0.001$), *IGHV3-21* expression ($p = 0.001$), initial leukocyte

Таблиця 4

Фактори, пов'язані із загальним виживанням хворих на ХЛЛ при однофакторному аналізі

Table 4

Factors, associated with overall survival of CLL patients in univariate analysis

| Показники Parameters | | Медіана OS, місяці Median of overall survival, months | 95 % довірчий інтервал, місяці 95 % CI, months | <i>p</i> |
|---|--|--|---|----------|
| Мутаційний статус <i>IGHV</i> генів Mutational status of <i>IGHV</i> genes | мутовані | 143 | 104,8–181,2 | 0,0001 |
| | немутовані | 84 | 61,5–78,5 | |
| Стадія за Binet Stage by Binet | A | 125 | 108,7–141,3 | 0,0001 |
| | B | 66 | 55,2–76,7 | |
| | C | 36 | 26,8–45,2 | |
| Ініціальний лейкоцитоз Initial leukocyte count | $< 20 \times 10^9/\text{л} // < 20 \times 10^9/\text{l}$ | 133 | 115,8–150,1 | 0,0001 |
| | $\geq 20 \times 10^9/\text{л} // \geq 20 \times 10^9/\text{l}$ | 62 | 53,0–70,9 | |
| Вік Age | < 65 років / years | 97 | 84,6–109,4 | 0,0001 |
| | > 65 років / years | 50 | 35,8–64,2 | |
| Стать Gender | жінка / female | 102 | 75,3–128,7 | 0,026 |
| | чоловік / male | 79 | 69,2–88,8 | |
| <i>SF3B1</i> мутації <i>SF3B1</i> gene mutations | немає / no | 107 | 85,7–128,3 | 0,018 |
| | є / yes | 69 | 45,5–92,5 | |
| <i>TP53</i> мутації <i>TP53</i> gene mutations | немає / no | 103 | 81,9–124,1 | 0,022 |
| | є / yes | 58 | 23,0–92,9 | |
| Експресія <i>IGHV3-21</i> гена у M <i>IGHV</i> випадках <i>IGHV3-21</i> gene expression in M <i>IGHV</i> cases | немає / no | 174 | 121,2–226,8 | 0,007 |
| | є / yes | 97 | 44,6–149,4 | |
| Експресія <i>IGHV3-21</i> гена у UM <i>IGHV</i> випадках <i>IGHV3-21</i> gene expression in UM <i>IGHV</i> cases | немає / no | 71 | 62,2–79,6 | 0,017 |
| | є / yes | 43 | 15,1–80,9 | |

(< 20 × 10⁹/л проти ≥ 20 × 10⁹/л; *p* = 0,001), вік (≤ 65 років проти > 65 років; *p* = 0,001), стать (чоловік/жінка; *p* = 0,004), *SF3B1* мутації (*p* = 0,024) та *TP53* мутації (*p* = 0,051).

Такі фактори, як *NOTCH1* мутації, належність послідовностей до кластеру #2 або кластеру #4, були незначущими. Відмінностей у тривалості загального виживання хворих, які належали до різних кластерів, враховуючи мутаційний статус *IGHV* генів, не виявлено. Лише хворі кластеру #4 мали тенденцію до більшого OS порівняно з хворими кластеру #2 (*p* = 0,09).

Показники загального виживання опромінених і неопромінених хворих були близькими (медіана 105 та 79 місяців відповідно; *p* = 0,088). У випадках з *M IGHV* генами пацієнти, які мали вплив ІВ в анамнезі, за експресії стереотипних ВКР мали тенденцію до більшої тривалості OS у порівнянні з пацієнтами з гетерогенним ВКР (328 місяців проти 167 місяців, *p* = 0,09). Інших відмінностей у тривалості OS залежно від стереотипії ВКР не знайдено як у опромінених, так і неопромінених хворих.

ОБГОВОРЕННЯ

Частота стереотипних випадків ХЛЛ в українській когорті була високою і досягала 50,5 %. Співвідношення мажорних і мінорних кластерів, а також частота окремих кластерів були порівнянними з даними літератури за деякими винятками.

По-перше, в українській когорті була виявлена низька частота кластеру #2: ідентифіковано лише шість (всі з *M IGHV* генами) випадків, що становить 1,45 % обстежених хворих порівняно з 2,51 % у спільній європейсько-американській когорті хворих на ХЛЛ [6]. При цьому частота *IGHV3-21* гена (~ 4,4 %) у цих двох когортах не відрізнялася. Детальний аналіз даних Agathangelidis та співавт. [6] показав, що найвища частота кластеру #2 спостерігалась у Великобританії (5,07 %), Нідерландах (4,67 %), Швеції (4,43 %), північній Німеччині (4,17 %), тоді як у Македонії, Греції, Сербії вона складала менше 1 %. Наші дані були близькі до частоти кластеру #2 в Росії (1,57 %) [6]. Крім того, у нашій когорті не були знайдені будь-які послідовності сателітів кластеру #2.

Також не було виявлено випадків, що належали до кластеру #8 або його сателітів, а частота *IGHV4-39* гена була нижчою (2,2 %), ніж у спільній європейсько-американській когорті ХЛЛ (~ 4%).

Частота експресії гена *IGHV3-23* у нашій когорті була знижена (9 випадків; 2,2 %), і лише одна *IGHV3-23*-позитивна послідовність мала стереотипний ВКР (кластер #V3|J4|13|46).

count (< 20 × 10⁹/l vs ≥ 20 × 10⁹/l; *p* = 0.001), age (≤ 65 years vs > 65 years; *p* = 0.001), gender (male/female; *p* = 0.004), *SF3B1* mutations (*p* = 0.024), and *TP53* mutations (*p* = 0.051).

Factors such as *NOTCH1* mutations, belonging of sequences to cluster #2, and cluster #4 were insignificant. Taking into account the mutational status of *IGHV* genes, no differences in OS were found in patients from different clusters. Only cluster #4 tended to have a longer OS compared to subset #2 (*p* = 0.09).

OS of IR-exposed and IR-non exposed patients was similar (medians 105 and 79 months, correspondingly; *p* = 0.088). In *M IGHV* cases, IR-exposed patients with stereotyped BCR demonstrated a tendency to longer median OS compared to patients with heterogenous BCR (328 months vs. 167 months, *p* = 0.09). No other differences in OS depending on BCR stereotypy (both in group of IR-exposed or IR-non exposed patients) were found.

DISCUSSION

The incidence of stereotyped CLL cases in Ukrainian cohort was high and reached 50.5 %. The ratio of major and minor clusters as well as the frequency of individual clusters was comparable with reported data with some exceptions.

First, a low incidence of subset #2 was found: only six (all *IGHV*-mutated) cases, representing 1.45 % of the entire group, were identified compared to 2.51 % in joint European-American CLL cohort [6]. At the same time, the *IGHV3-21* frequency (~ 4.4%) in these two cohorts did not differ. A detailed analysis of Agathangelidis's data showed that the highest frequencies of subset #2 were observed in UK (5.07 %), the Netherlands (4.67 %), Sweden (4.43 %), in northern Germany (4.17 %), while in Macedonia, Greece, Serbia they were less than 1 %. Our data were close to the frequency of subset #2 in Russia (1.57 %) [6]. Also, any satellites to subset #2 were found in our cohort.

Next, no cases belonged to subset #8 were found, and the frequency of *IGHV4-39* gene was lower (2.2 %) than in joint European-American CLL cohort (~ 4%).

IGHV3-23 gene was underrepresented in our cohort (9 cases; 2.2 %) and only one case had stereotyped BCR (subset #V3|J4|13|46).

Крім того, частота мінорного кластеру #V4|J4.5.6|18|5 становила 0,73 % у нашій когорті, що в 25 разів перевищувала її частоту (0,029 %) за даними Agathangelidis та співавт. [6].

Наші результати вказують на значну частоту стереотипних випадків у хворих на ХЛЛ із впливом ІВ в анамнезі, яка суттєво не відрізнялась від частоти стереотипії в групі порівняння та в інших ХЛЛ когортах [6]. Виявленими відмінними рисами опромінених хворих були: 1) однакова частота стереотипних кластерів серед випадків ХЛЛ з мутованими і немуваними *IGHV* генами ($p = 0,557$); 2) відсутність достовірних розбіжностей в репертуарі *IGHV* генів серед стереотипних і гетерогенних випадків ($p = 0,508$); 3) «гетерогенність» стереотипних випадків: всі ідентифіковані кластери, за винятком кластеру #1, були представлені одним випадком.

Більшість клінічних показників хворих на ХЛЛ були пов'язані з мутаційним статусом *IGHV* генів, а саме: стадія захворювання, ініціальний лейкоцитоз, розвиток АГА, тривалість періоду ТТТ, OS. Їх зв'язок зі стереотипією ВКР був слабкішим. Серед стереотипних випадків з експресією UM *IGHV* генів I клану (крім гена *IGHV1-69*) частіше зустрічались *NOTCH1* мутації. Найбільш очевидним це було для випадків кластера #1, який є основним у цій підгрупі. Серед хворих кластеру #2 частіше діагностували АГА ($p = 0,001$ порівняно з іншими випадками з експресією M *IGHV* генів) та мутації гена *SF3B1* ($p = 0,013$ порівняно з іншими випадками). Крім того, пацієнти кластеру #2 мали найменшу тривалість ТТТ періоду серед всіх хворих у когорті, хоча відмінності (з огляду на незначну кількість випадків у складі кластеру #2) не досягли рівня статистичної значущості. Пацієнти кластеру #4 були молодшими, мали довший період ТТТ і OS порівняно з пацієнтами кластеру #2.

Експресія окремих *IGHV* генів незалежно від стереотипії ВКР мала додатковий вплив. Так, експресія гена *IGHV3-21* була асоційована з низькими показниками загального виживання при уні- та мультиваріантному регресійному аналізі. АГА частіше зустрічалась у хворих з експресією UM *IGHV4-59* і *IGHV3-11* генів.

Отримані нами дані узгоджувалися з результатами інших дослідників. Sutton та співавт. [24, 25] виявили підвищену частоту *NOTCH1* мутацій у кластерах #1, #6, #8, #59 та *SF3B1* мутацій у кластерах #2 і #3. Rossi та співавт. [26] охарактеризували мутації гена *SF3B1* як генетичну ознаку кластера #2. Молодший вік пацієнтів кластеру #4 і менша тривалість періоду ТТТ пацієнтів кластеру #2 були відзначені Jaramillo та співавт. [27]. Існують різні дані щодо негативного прог-

Further, the frequency of minor subset #V4|J4.5.6|18|5 was 0.73 % in our group, which was 25 times higher than its frequency (0.029 %) according to Agathangelidis et al. [6].

Our results indicated a significant frequency of the BCR stereotyped cases in IR-exposed CLL patients that was comparable with IR non-exposed patients and reported data [6]. There were also no significant differences in the distribution of individual stereotyped subsets. The distinctive features found were: 1) comparable frequency of stereotyped cases among M and UM *IGHV* genes cases ($p=0.557$); 2) lack of differences *IGHV* gene repertoires among stereotyped and heterogeneous cases ($p = 0.508$); 3) «heterogeneity» of stereotyped cases: all identified stereotyped clusters, with the exception of cluster #1, consisted of one case.

Most clinical indicators of CLL patients were associated with mutational status of *IGHV* genes, namely: stage of disease, initial leukocyte count, development of AHA, duration of TTT period, OS. Their association with BCR stereotypy was weaker. Stereotyped cases with expression of UM *IGHV* clan I genes (except *IGHV1-69* gene) were more susceptible to the appearance of *NOTCH1* mutations. It is most obvious for cases of cluster #1, which was the main one in this subgroup. Patients of cluster #2 are more likely to have AHA ($p = 0.001$ compared to other M *IGHV* cases) and *SF3B1* mutations ($p = 0.013$ compared to other cases), the lowest TTT in the cohort, although the differences (in view of the small number of cases) did not reach the level of significance. Patients of cluster #4 were younger, tended to have a longer TTT and OS compared to subset #2.

The expression of some *IGHV* genes regardless of BCR stereotypy had additional impact. Thus, *IGHV3-21* expression was associated with worse OS in univariate and multivariate analysis. AHA was more common in patients with UM *IGHV4-59* and *IGHV3-11* genes.

The obtained data were consistent with the results of other researchers. Sutton et al. [24, 25] found increased frequency of *NOTCH1* mutations in subsets #1, #6, #8, #59 and *SF3B1* mutations in subsets #2 and #3. Rossi et al. [26] characterized *SF3B1* mutations as the genetic hallmark of subset #2. The younger age of patients belonged to cluster #4 and the shorter TTT of patients belonged to cluster #2 were noted by Jaramillo et al. [27]. There are different data regarding the negative

ностичного значення експресії гена *IGHV3-21*, яке було виявлено в нашій когорті. Не з'ясовано, чи пов'язано це з усіма *IGHV3-21*-позитивними чи лише зі стереотипними випадками кластера #2. За даними Jeromin та співавт. [28], пацієнти кластеру #2 з мутованими *IGHV3-21* генами мають меншу тривалість ТТТ періоду порівняно з іншими мутованими *IGHV3-21*-позитивними випадками. Водночас Cahill і співавт. [29] підтвердили, що негативний прогностичний вплив експресії *IGHV3-21* гена на виживання хворих не залежав від мутаційного статусу та стереотипії ВКР.

В цілому, виявлені розбіжності розподілу стереотипних випадків в українській когорті хворих на ХЛЛ найбільш вірогідно відображають вплив генетичних факторів, факторів навколишнього середовища (включаючи й ІВ), та їх взаємодію у певній географічній зоні.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Developmentally restricted immunoglobulin heavy chain variable region gene expressed at high frequency in chronic lymphocytic leukemia / T. J. Kipps, E. Tomhave, L. F. Pratt et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1989. Vol. 86, no. 15. P. 5913–5917. doi:10.1073/pnas.86.15.5913.
2. Chronic lymphocytic leukemias utilizing the VH3-21 gene display highly restricted Vλ2-14 gene use and homologous CDR3s: implicating recognition of a common antigen epitope / G. Tobin, U. Thunberg, A. Johnson et al. *Blood*. 2003. Vol. 101, no. 12. P. 4952–4957. doi: 10.1182/blood-2002-11-3485.
3. Remarkably similar antigen receptors among a subset of patients with chronic lymphocytic leukemia / F. Ghiotto, F. Fais, A. Valetto et al. *J. Clin. Invest*. 2004. Vol. 113, no. 7. P. 1008–1016. doi: 10.1172/JCI19399.
4. Multiple distinct sets of stereotyped antigen receptors indicate a role for antigen in promoting chronic lymphocytic leukemia / B. T. Messmer, E. Albesiano, D. G. Efremov et al. *J. Exp. Med*. 2004. Vol. 200, no. 4. P. 519–25. doi: 10.1084/jem.20040544.
5. Stereotyped B-cell receptors in one-third of chronic lymphocytic leukemia: a molecular classification with implications for targeted therapies / A. Agathangelidis, N. Darzentas, A. Hadzidimitriou et al. *Blood*. 2012. Vol. 9, no. 19. P. 4467–75. doi: 10.1182/blood-2011-11-393694.
6. Higher-order connections between stereotyped subsets: implications for improved patient classification in CLL / A. Agathangelidis, A. Chatzidimitriou, K. Gemenetzi et al. *Blood*. 2021. Vol. 137, no. 10. P. 1365–76. doi: 10.1182/blood.2020007039.
7. B-cell receptor, clinical course and prognosis in chronic lymphocytic leukaemia: the growing saga of the IGHV3 subgroup gene usage / M. Dal-Bo, I. Del Giudice, R. Bomben et al. *Brit. J. Haematol*. 2011. Vol. 153, no. 1. P. 3–14. doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08440.x

prognostic value of *IGHV3-21* expression, which was found in our cohort. It is unclear whether it is associated with all *IGHV3-21* cases or only with stereotyped cases of cluster #2. According to Jeromin et al. [28] patients of subset #2 with M *IGHV3-21* genes had a shorter TTT compared to other M *IGHV3-21* cases. In the same time Cahill et al. [29] confirmed the poor outcome for *IGHV3-21* patients to be independent of mutational status and found stereotypy to have no impact on survival.

In summary, revealed differences in distribution of stereotyped subsets in Ukrainian cohort are most likely to reflect variations in the genetic background, environmental factors (including IR exposure), and their interactions in different geographic areas.

REFERENCES

1. Kipps TJ, Tomhave E, Pratt LF, Duffy S, Chen PP, Carson DA. Developmentally restricted immunoglobulin heavy chain variable region gene expressed at high frequency in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989;86(15):5913-7. doi: 10.1073/pnas.86.15.5913.
2. Tobin G, Thunberg U, Johnson A, Eriksson I, Söderberg O, Karlsson K, et al. Chronic lymphocytic leukemias utilizing the VH3-21 gene display highly restricted Vλ2-14 gene use and homologous CDR3s: implicating recognition of a common antigen epitope. *Blood*. 2003;101(12):4952-4957. doi: 10.1182/blood-2002-11-3485.
3. Ghiotto F, Fais F, Valetto A, Albesiano E, Hashimoto S, Dono M, Ikematsu H, et al. Remarkably similar antigen receptors among a subset of patients with chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Invest*. 2004;113(7):1008-1016. doi: 10.1172/JCI19399.
4. Messmer BT, Albesiano E, Efremov DG, Ghiotto F, Allen SL, Kolitz J, et al. Multiple distinct sets of stereotyped antigen receptors indicate a role for antigen in promoting chronic lymphocytic leukemia. *J Exp Med*. 2004;200(4):519-25. doi: 10.1084/jem.20040544.
5. Agathangelidis A, Darzentas N, Hadzidimitriou A, Brochet X, Murray F, Yan XJ, et al. Stereotyped B-cell receptors in one-third of chronic lymphocytic leukemia: a molecular classification with implications for targeted therapies. *Blood*. 2012;119(19):4467-75. doi: 10.1182/blood-2011-11-393694.
6. Agathangelidis A, Chatzidimitriou A, Gemenetzi K, Giudicelli V, Karypidou M, Plevova K, et al. Higher-order connections between stereotyped subsets: implications for improved patient classification in CLL. *Blood*. 2021;137(10):1365-1376. doi: 10.1182/blood.2020007039.
7. Dal-Bo M., Del Giudice I., Bomben R. Capello D, Bertoni F, Forconi F, et al. B-cell receptor, clinical course and prognosis in chronic lymphocytic leukaemia: the growing saga of the IGHV3 subgroup gene usage. *Brit J Haematol*. 2011;153(1):3-14. doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08440.x

8. Immunoglobulin gene rearrangements in Chinese and Italian patients with chronic lymphocytic leukemia / M. Marinelli, C. Ilari, Y. Xia et al. / *Oncotarget*. 2016. Vol. 7, no. 15. e. 20520. doi: 10.18632/oncotarget.7819.
9. Receptores estereotipados en pacientes con leucemia linfocítica crónica. Frecuencia y distribución en diferentes países de Latinoamérica / C. Stanganelli, N. Sotelo, M. E. Marquez et al. *Revista Hematología*. 2018. Vol. 22, no. 1. P. 13–20.
10. Immunoglobulin heavy chain variable region gene repertoire and B-cell receptor stereotypes in Indian patients with chronic lymphocytic leukemia / L. Rani, N. Mathur, A. Gogia et al. / *Leuk. Lymphoma*. 2016. Vol. 57, no. 10. P. 2389–400. doi: 10.3109/10428194.2016.1153086.
11. Distinct immunoglobulin heavy chain variable region gene repertoire and lower frequency of del(11q) in Taiwanese patients with chronic lymphocytic leukaemia / Y. J. Huang, M. C. Kuo, H. Chang et al. *Br. J. Haematol.* 2019. Vol. 187, no. 1. P. 82–92. doi: 10.1111/bjh.16051.
12. Molecular and clinical features of chronic lymphocytic leukemia with stereotyped B-cell receptors in a Ukrainian cohort / N. Bilous, R. Bomben, M. Dal Bo et al. *Leuk. Lymphoma*. 2010. Vol. 51, no. 5. P. 822–38. doi: 10.3109/10428191003646002.
13. Analysis of immunoglobulin heavy variable chain rearrangement in chronic lymphocytic leukemia patients among Chernobyl clean-up workers / I. V. Abramenko, N. I. Bilous, A. A. Chumak et al. *Exp. Oncol.* 2020. Vol. 42, no. 3. P. 172–7. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-42-no-3.14839.
14. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia / K. R. Rai, A. Sawitsky, E. P. Cronkite. et al. *Blood*. 1975. Vol. 46. P. 219–34.
15. Rai K. R. A critical analysis of staging in CLL. In: Gale R. P., Rai K. R., eds. CLL recent progress and future directions, vol. 59. UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology. New York: Alan R. Liss, 1987: 253.
16. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis / J. L. Binet, A. Auquier, G. Dighiero et al. *Cancer*. 1981. Vol. 48, no. 1. P. 198–206. doi: 10.1002/1097-0142(19810701)48:1<198::aid-cnrcr2820480131>3.0.co.2-v.
17. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL / M. Hallek, B. D. Cheson, D. Catovsky et al. *Blood*. 2018. Vol. 131, no. 25. P. 2745–60. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2017-09-806398>.
18. Chronic lymphocytic leukemia patients exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl NPP accident – with focus on immunoglobulin heavy chain gene analysis / I. Abramenko, N. Bilous, A. Chumak et al. *Leuk. Res.* 2008. Vol. 32, no. 4. P. 535–45. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2007.08.013>.
19. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia / T. J. Hamblin, Z. Davis, A. Gardiner et al. *Blood*. 1999. Vol. 94, no. 6. P. 1848–54.
8. Marinelli M, Ilari C, Xia Y, Del Giudice I, Cafforio L, Della Starza I, et al. Immunoglobulin gene rearrangements in Chinese and Italian patients with chronic lymphocytic leukemia. *Oncotarget*. 2016;7(15):20520-31. doi: 10.18632/oncotarget.7819.
9. Stanganelli C, Sotelo N, Marquez ME, Cabrera J, Deglesne PA, Lopez JL, et al. Receptores estereotipados en pacientes con leucemia linfocítica crónica. Frecuencia y distribución en diferentes países de Latinoamérica. *Revista Hematología*. 2018;22(1):13-20.
10. Rani L, Mathur N, Gogia A, Vishnubhatla S, Kumar L, Sharma A, et al. Immunoglobulin heavy chain variable region gene repertoire and B-cell receptor stereotypes in Indian patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2016;57(10):2389-2400. doi: 10.3109/10428194.2016.1153086.
11. Huang YJ, Kuo MC, Chang H, Wang PN, Wu JH, Huang YM, et al. Distinct immunoglobulin heavy chain variable region gene repertoire and lower frequency of del(11q) in Taiwanese patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2019;187(1):82-92. doi: 10.1111/bjh.16051.
12. Bilous N, Bomben R, Dal Bo M, Capello D, Forconi F, Laurenti L, et al. Molecular and clinical features of chronic lymphocytic leukemia with stereotyped B-cell receptors in a Ukrainian cohort. *Leuk Lymphoma*. 2010;51(5):822-838. doi: 10.3109/10428191003646002.
13. Abramenko IV, Bilous NI, Chumak AA, Dyagil IS, Martina ZV. Analysis of immunoglobulin heavy variable chain rearrangement in chronic lymphocytic leukemia patients among Chernobyl clean-up workers. *Exp Oncol*. 2020;42(3):172-177. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-42-no-3.14839.
14. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1975;46:219-234.
15. Rai KR. A critical analysis of staging in CLL. In: Gale RP, Rai KR, eds. CLL recent progress and future directions, vol. 59. UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology. New York: Alan R. Liss; 1987. p. 253.
16. Binet JL, Auquier A, Dighiero G, Chastang C, Piguat H, Goasguen J, et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer*. 1981;48(1):198-206. doi: 10.1002/1097-0142(19810701)48:1<198::aid-cnrcr2820480131>3.0.co.2-v.
17. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*. 2018;131(25):2745-2760. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2017-09-806398>.
18. Abramenko I, Bilous N, Chumak A, Davidova E, Kryachok I, Martina Z, et al. Chronic lymphocytic leukemia patients exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl NPP accident – with focus on immunoglobulin heavy chain gene analysis. *Leuk Res*. 2008;32(4):535-545. doi: 10.1016/j.leukres.2007.08.013.
19. Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, Oscier DG, Stevenson FK. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999;94(6):1848-1854.

20. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia / R. N. Damle, T. Wasil, F. Fais et al. *Blood*. 1999. Vol. 94, no. 6. P. 1840–7.
21. The spectrum of TP53, SF3B1, and NOTCH1 mutations in chronic lymphocytic leukemia patients exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl NPP accident / N. Bilous, I. Abramenko, A. Chumak et al. *Probl. Radiac. Med. Radiobiol.* 2018. Vol. 23. P. 283–301. <https://doi.org/10.33145/2304-8336-2018-23-283-301>.
22. Stereotyped B-cell receptor is an independent risk factor of chronic lymphocytic leukemia transformation to Richter syndrome / D. Rossi, V. Spina, M. Cerri et al. *Clin. Cancer Res.* 2009. Vol. 15. P. 4415–22. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-3266.
23. Immunoglobulin VH clan and family identity predicts variable domain structure and may influence antigen binding / P. M. Kirkham, F. Mortari, J. A. Newton, H. W. Jr. Schroeder. *EMBO J.* 1992. Vol. 11, no 2. P. 603–9.
24. Distinct patterns of novel gene mutations in poor-prognostic stereotyped subsets of chronic lymphocytic leukemia: the case of SF3B1 and subset #2 / J. Strefford, L.A. Sutton, P. Baliakas et al. *Leukemia*. 2013. Vol. 27. P. 2196–2199. doi: 10.1038/leu.2013.98.
25. Different spectra of recurrent gene mutations in subsets of chronic lymphocytic leukemia harboring stereotyped B-cell receptors / L. A. Sutton, E. Young, P. Baliakas et al. *Haematologica*. 2016. Vol. 101, no 8. P. 959–967. doi: 10.3324/haematol.2016.141812.
26. Association between molecular lesions and specific B-cell receptor subsets in chronic lymphocytic leukemia / D. Rossi, V. Spina, R. Bomben et al. *Blood*. 2013. Vol. 121, no. 24. P. 4902–5. doi: 10.1182/blood-2013-02-486209.
27. Prognostic impact of prevalent chronic lymphocytic leukemia stereotyped subsets: analysis within prospective clinical trials of the German CLL Study Group (GCLLSG) / S. Jaramillo, A. Agathangelidis, C. Schneider et al. *Haematologica*. 2020. Vol. 105, no. 11. P. 2598–2607. doi: 10.3324/haematol.2019.231027.
28. Differences in prognosis of stereotyped IGHV3-21 chronic lymphocytic leukaemia according to additional molecular and cytogenetic aberrations / S. Jeromin, C. Haferlach, F. Dicker et al. *Leukemia*. 2016. Vol. 30. P. 2251–3. <https://doi.org/10.1038/leu.2016.189>.
29. IGHV3-21 gene frequency in a Swedish cohort of patients with newly diagnosed chronic lymphocytic leukemia / N. Cahill, L. A. Sutton, M. Jansson et al. *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* 2012. Vol. 12, no. 3. P. 201–6. doi: 10.1016/j.clml.2012.01.009.
20. Damle RN, Wasil T, Fais F, Ghiotto F, Valetto A, Allen SL, et al. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999;94(6):1840-1847.
21. Bilous NI, Abramenko IV, Chumak AA, Dyagil IS, Martina ZV, Saenko V, Bazyka DA. The spectrum of TP53, SF3B1, and NOTCH1 mutations in chronic lymphocytic leukemia patients exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl NPP accident. *Probl Radiac Med Radiobiol.* 2018;23:283-301. doi: 10.33145/2304-8336-2018-23-283-301.
22. Rossi D, Spina V, Cerri M, Rasi S, Deambrogi C, De Paoli L, et al. Stereotyped B-cell receptor is an independent risk factor of chronic lymphocytic leukemia transformation to Richter syndrome. *Clin Cancer Res.* 2009;15:4415-4422. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-3266.
23. Kirkham PM, Mortari F, Newton JA, Schroeder HWJr. Immunoglobulin VH clan and family identity predicts variable domain structure and may influence antigen binding. *EMBO J.* 1992;11(2):603-609.
24. Strefford JC, Sutton LA, Baliakas P, Agathangelidis A, Mal'kov J, Plevova K, et al. Distinct patterns of novel gene mutations in poor-prognostic stereotyped subsets of chronic lymphocytic leukemia: the case of SF3B1 and subset #2. *Leukemia*. 2013;27(11):2196-2199. doi: 10.1038/leu.2013.98.
25. Sutton LA, Young E, Baliakas P, Hadzidimitriou A, Moysiadis T, Plevova K, et al. Different spectra of recurrent gene mutations in subsets of chronic lymphocytic leukemia harboring stereotyped B-cell receptors. *Haematologica*. 2016;101(8):959-967. doi: 10.3324/haematol.2016.141812.
26. Rossi D, Spina V, Bomben R, Rasi S, Dal-Bo M, Brusca A, et al. Association between molecular lesions and specific B-cell receptor subsets in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2013;121(24):4902-4905. doi: 10.1182/blood-2013-02-486209.
27. Jaramillo S, Agathangelidis A, Schneider C, Bahlo J, Robrecht S, Tausch E, et al. Prognostic impact of prevalent chronic lymphocytic leukemia stereotyped subsets: analysis within prospective clinical trials of the German CLL Study Group (GCLLSG). *Haematologica*. 2020;105(11):2598-2607. doi: 10.3324/haematol.2019.231027.
28. Jeromin S, Haferlach C, Dicker F, Alpermann T, Haferlach T, Kern W. Differences in prognosis of stereotyped IGHV3-21 chronic lymphocytic leukaemia according to additional molecular and cytogenetic aberrations. *Leukemia*. 2016;30:2251-2253. doi: 10.1038/leu.2016.189.
29. Cahill N, Sutton LA, Jansson M, Murray F, Mansouri L, Gunnarsson R, et al. IGHV3-21 gene frequency in a Swedish cohort of patients with newly diagnosed chronic lymphocytic leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2012;12(3):201-206. doi: 10.1016/j.clml.2012.01.009.

ІНФОРМАЦІЯ ПРО АВТОРІВ

Білоус Надія Іванівна – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, лабораторія молекулярної біології, Інститут клінічної радіології ННЦПМ, м. Київ, Україна, ORCID: 0000-0001-9336-4767

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Nadiia I. Bilous – Candidate of Biological Sciences, Senior Scientific Researcher, Laboratory of Molecular Biology, Institute of Clinical Radiology, NRCRM, Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0001-9336-4767

Абраменко Ірина Вікторівна – доктор медичних наук, головний науковий співробітник, лабораторія молекулярної біології, Інститут клінічної радіології ННЦРМ, м. Київ, Україна, ORCID: 0000-0001-1261-1680

Чумак Анатолій Андрійович – доктор медичних наук, професор, член-кореспондент НАМН України, директор Інститут клінічної радіології ННЦРМ, м. Київ, Україна, ORCID: 0000-0002-2117-6174

Дягіль Ірина Сергіївна – доктор медичних наук, старший науковий співробітник, завідувач відділення радіаційної онкогематології та трансплантації стовбурових клітин ННЦРМ, м. Київ, Україна, ORCID: 0000-0001-6643-4141

Мартіна Зоя Володимирівна – кандидат медичних наук, завідувач відділення радіаційної гематології, ННЦРМ, м. Київ, Україна

Iryna V. Abramenko – Doctor of Medical Sciences, Chief Researcher, Molecular Biology Laboratory, Institute of Clinical Radiology, NRCRM, Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0001-1261-1680

Anatoliy A. Chumak – Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the NAMS of Ukraine, Director of the Institute of Clinical Radiology, NRCRM, Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0002-2117-6174

Iryna S. Dyagil – Doctor of Medical Sciences, Senior Scientific Researcher, Head of Radiation Hematology and Stem Cell Transplantation Department, NRCRM, Kyiv, Ukraine, ORCID : 0000-0001-6643-4141

Zoya V. Martina – Candidate of Medical Sciences, Head of Radiation Hematology Department, NRCRM, Kyiv, Ukraine

Стаття надійшла до редакції 20.04.2022

Received: 20.04.2022