

DOI: 10.17650/2313-805X-2022-9-3-69-84



Мутационный профиль диффузной В-крупноклеточной лимфомы с рецидивами в центральной нервной системе

Е.Н. Воропаева^{1,2}, Т.И. Поспелова², В.С. Карпова², М.И. Чуркина², Ю.В. Вяткин³, Т.А. Агеева², В.Н. Максимов¹

¹Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»; Россия, 630089 Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1;

²ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 630091 Новосибирск, Красный проспект, 52;

³ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»; Россия, 630090 Новосибирск, ул. Пирогова, 1

Контакты: Елена Николаевна Воропаева vena.81@mail.ru

Введение. Рецидив диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы в центральной нервной системе в подавляющем большинстве случаев является фатальным проявлением заболевания. Изучение мутационного профиля лимфомы может способствовать улучшению точности прогноза рецидива в центральной нервной системе и обоснованию отбора пациентов для профилактического лечения.

Цель исследования – изучить мутационный профиль случаев диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы с рецидивами в центральной нервной системе.

Материалы и методы. На платформе Illumina выполнено полноэкзомное секвенирование диагностических образцов диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы с рецидивами в центральной нервной системе. Проанализирована панель, включающая более 70 генов.

Результаты. Можно выделить 4 основные группы генетических событий в исследованных образцах, а именно: сочетанные мутации в генах сигнальных путей NF-κB (*MYD88*, *NOTCH1*, *CD79B*, *CARD11*) и JAK-STAT (*PIM1*, *STAT6*), а также абберрации в главном онкосупрессоре *TP53* и генах системы ремоделирования хроматина (*ARID1A*, *KMT2D*, *EP300*, *SMARCA4*). В группе исследования выявлена рекуррентная мутация с. 794Т>С, р. L265Р *MYD88*. Среди других находок следует отметить мутации в генах *СНТА* и *CD58*, имеющих значение в уклонении опухолевых клеток от иммунного надзора.

Заключение. Несмотря на кажущуюся гетерогенность мутационного профиля диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы с рецидивами в центральной нервной системе, в большинстве случаев для опухолевых клеток были характерны генетические нарушения, приводящие к продукции злокачественными лимфоцитами большого количества провоспалительных цитокинов, а также абберрации, снижающие иммуногенность и способствующие избеганию опухоли иммунного надзора.

Ключевые слова: лимфома, мутационный профиль, высокопроизводительное секвенирование, рецидив, сигнальный путь NF-κB, сигнальный путь JAK-STAT, ген *TP53*, ремоделирование хроматина, иммунологический контроль, центральная нервная система, диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома

Для цитирования: Воропаева Е.Н., Поспелова Т.И., Карпова В.С. и др. Мутационный профиль диффузной В-крупноклеточной лимфомы с рецидивами в центральной нервной системе. Успехи молекулярной онкологии 2022; 9(3):69–84. DOI: 10.17650/2313-805X-2022-9-3-69-84

Mutation profile of diffuse large B-cell lymphoma with relapses in the central nervous system

E.N. Voropaeva^{1,2}, T.I. Pospelova², V.S. Karpova², M.I. Churkina², Yu. V. Vyatkin³, T.A. Ageeva², V.N. Maksimov¹

¹Scientific Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian branch of the Russian Academy of Sciences; 175/1 Boris Bogatkov St., Novosibirsk 630089, Russia;

²Novosibirsk State Medical University, Ministry of Health of Russia; 52 Krasny Prospekt, Novosibirsk 630091, Russia;

³Novosibirsk National Research State University; 1 Pirogova St., Novosibirsk 630090, Russia

Contacts: Elena Nikolaevna Voropaeva vena.81@mail.ru

Introduction. The recurrence of diffuse large B-cell lymphoma in the central nervous system in the vast majority of cases is a fatal manifestation of the disease. The study of the lymphoma mutational profile can improve the accuracy of the prognosis of relapse in the central nervous system and justify the selection of patients for preventive treatment.

Aim. To evaluate the mutational profile of cases of diffuse large B-cell lymphoma with central nervous system damage in relapse based on the results of our own experiment on high-performance sequencing.

Materials and methods. On the Illumina platform, full-exome sequencing of diagnostic samples of diffuse large B-cell lymphoma with relapses in the central nervous system was performed. A panel including more than 70 genes was analyzed.

Results. Four main groups of genetic events can be distinguished in the group of studied samples, namely: combined mutations in the NF- κ B (*MYD88*, *NOTCH1*, *CD79B*, *CARD11*) and JAK-STAT (*PIM1*, *STAT6*) signaling pathways, as well as aberrations in the main oncosuppressor *TP53* and chromatin remodeling system genes (*ARID1A*, *KMT2D*, *EP300*, *SMARCA4*). A recurrent mutation c. 794T>C, p.L265P *MYD88* was detected in the study group. Among other findings, mutations in the *CITTA* and *CD58* genes should be noted, which are important in avoiding tumor cells from immune surveillance.

Conclusion. Despite the apparent heterogeneity of the mutational profile of diffuse large B-cell lymphoma with relapses in the central nervous system, in most cases, tumor cells were characterized by genetic disorders leading to the production of a large number of pro-inflammatory cytokines by malignant lymphocytes, as well as aberrations that reduce immunogenicity and contribute to the avoidance of immune surveillance by the tumor.

Keywords: lymphoma, mutational profile, high-throughput sequencing, relapse, NF- κ B signaling pathway, JAK-STAT signaling pathway, *TP53* gene, chromatin remodeling, immunological control, diffuse large B-cell lymphoma, central nervous system

For citation: Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Karpova V.S. et al. Mutation profile of diffuse large B-cell lymphoma with relapses in the central nervous system. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2022;9(3): 69–84. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2022-9-3-69-84

ВВЕДЕНИЕ

Диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома (ДВККЛ) является доминирующим типом агрессивных вариантов неходжкинских лимфом. При этом рецидивы ДВККЛ в центральную нервную систему (ЦНС) остаются одной из самых сложных клинических проблем. На одной чаше весов – относительно низкая частота данного события (до 5 % случаев заболевания), а на другой – выраженная тяжесть течения заболевания и высокая летальность пациентов [1].

Повышенная частота вовлечения ЦНС в рецидив ДВККЛ наблюдается в случаях лимфом, имеющих перестройки с вовлечением *MYC* и *BCL2* и/или *BCL6*, а также с поражением костного мозга, яичек или молочной железы, что подчеркивает необходимость выяснения особенностей биологии опухоли, связанных с потенциалом лимфомных клеток проникать в ЦНС [2–4].

В настоящее время неизвестно, какие еще молекулярно-генетические маркеры опухолевых клеток могут насторожить клинициста в отношении высокого риска вовлечения в опухолевый процесс ЦНС уже на этапе диагностики лимфомы. Кроме того, требуется разработка таргетных подходов, которые могут быть эффективны при профилактике и терапии данного типа прогрессирующей опухоли.

При использовании существующей прогностической модели Central Nervous System International Prognostic Index (Международного прогностического индекса CNS-IPI) можно рассчитывать на предотвращение большого числа рецидивов в ЦНС. Для этого в группе высокого риска применяется многократное интратекальное или системное введение метотрексата в высоких дозах. К сожалению, такое профилактическое лечение является крайне токсичным и не может

быть назначено пожилым и соматически ослабленным пациентам [5]. В то же время примерно у 70–80 % больных, отнесенных к группе высокого риска, которым обязательно проводится терапия с целью профилактики, рецидивы не возникают, что приводит к чрезмерному лечению этих пациентов. Поэтому так важно вести поиск дополнительных предикторов развития рецидива ДВККЛ в ЦНС для возможного их учета совместно с существующей прогностической моделью [6, 7].

Обращают на себя внимание следующие факты. По мнению ряда авторов, развитие поражения ЦНС в ходе проведения или сразу после завершения первичной химиотерапии может указывать на наличие субклинического поражения ЦНС уже на начальных этапах формирования опухоли [6]. Согласно опубликованным данным, медиана срока от постановки диагноза ДВККЛ до возникновения рецидива с поражением ЦНС составляет около 6–7 мес. Кроме того, бывают изолированные рецидивы в ЦНС или рецидивы в ЦНС, предшествующие системному возобновлению проявления опухоли [8]. Все это должно свидетельствовать о ранней миграции лимфомных клеток за гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Биопсия опухолевого поражения в случае вовлечения ЦНС при рецидиве ДВККЛ проводится далеко не всегда, что может быть связано как с тяжестью состояния больного, так и с недоступностью очага поражения и приводит к малой изученности биологических свойств опухоли и отсутствию биобанка образцов [2].

Именно по этим причинам мы решили изучить мутационный статус лимфомы на основании анализа первичного биоматериала – биоптатов опухолевой ткани пациентов с ДВККЛ, полученных на этапах диагностики.

Опубликованы результаты таргетного, полногеномного и полноэкзомного секвенирования образцов ДВККЛ, полученных от пациентов, а также нескольких клеточных линий данного типа лимфомы [1, 9].

Цель данного исследования – оценить мутационный профиль случаев ДВККЛ с поражением ЦНС при рецидиве на основании результатов собственного эксперимента по высокопроизводительному секвенированию.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили диагностические блоки фиксированных формалином и парафинизированных биоптатов опухолевых лимфатических узлов и экстранодальных очагов поражения пациентов с ДВККЛ ($n = 9$), у которых при рецидиве

возникло поражение ЦНС. Клиническая характеристика пациентов представлена в табл. 1.

В исследование с блоков брали срезы толщиной 10–12 мкм с содержанием опухолевых клеток не менее 50 %. Для выделения ДНК использовали набор QiaAmp DNA FFPE Tissue kit (Qiagen, Германия) согласно инструкции к набору. Оценку и контроль качества выделенных нуклеиновых кислот проводили с помощью аппарата Epoch (BioTek, США).

Далее проводили фрагментацию ДНК ультразвуком на наборе Covaris S2. Полученную геномную ДНК использовали для приготовления и обогащения библиотек при помощи наборов NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit (Illumina, США) и NEBNext FFPE DNA Repair Mix (NEB, США) по инструкции производителей. Полученные библиотеки гибридизовали

Таблица 1. Характеристика пациентов с поражением центральной нервной системы в рецидиве диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы, которым было выполнено высокопроизводительное секвенирование

Table 1. Characteristics of patients with central nervous system lesions in recurrent diffuse large B-cell cell lymphoma who underwent high-throughput sequencing, central nervous system

Параметр Parameter	Случай Case								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Пол Sex	Ж F	Ж F	М M	Ж F	М M	Ж F	Ж F	Ж F	Ж F
Возраст, лет Age, years	54	55	27	66	69	73	53	55	30
ECOG-статус, баллы ECOG status, points	1	2	3	3	2	2	3	1	2
Стадия Stage	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV
В-симптомы B-symptoms	+	+	+	+	+	–	–	+	+
Экстранодальные поражения Extranodal lesions	+	–	–	+	–	–	+	+	+
Лейкемизация Leukemization	+	+	+	+	–	–	–	+	–
Массивные опухолевые поражения Massive tumor lesions	–	–	–	+	–	–	+	–	+
Уровень ЛДГ, МЕ/л LDH level, IU/l	609	589	406	986	746	671	807	708	953
Группа риска по Международному прогностическому индексу Risk group according to the International Prognostic Index	ПВ IH	ПВ IH	ПН IL	В H	ПВ IH	В H	ПВ IH	ПВ IH	В H
Период от ремиссии до рецидива с вовлечением ЦНС, мес Period from remission to relapse with CNS involvement, months	20	2	4	2	5	3	5	48	5
Тип поражения ЦНС Type of CNS lesion	ВМ IC	ВМ IC	ВМ + НЛ IC + NL	ВМ IC	ВМ IC	ВМ/ IC	ВМ IC	ВМ IC	ВМ/ IC
Характер поражения мозга The nature of brain damage	С S	С S	МФ MF	С S	С S	С S	МФ MF	С S	МФ MF

Примечание. М – мужчина; Ж – женщина; ECOG – Eastern Cooperative Oncology Group, Восточная кооперативная онкологическая группа; ПН – промежуточный низкий риск; ПВ – промежуточный высокий риск; В – высокий риск; ВМ – внутримозговое поражение; НЛ – нейролейкемия, МФ – мультифокальное поражение; С – солитарное поражение.

Note. M – male; F – female; ECOG – Eastern Cooperative Oncology Group; IL – intermediate low risk; IH – intermediate high risk; H – high risk; IC – intracerebral lesion; NL – neuroleukemia, MF – multifocal lesion; S – solitary lesion.

с SureSelect Human All Exon V7 exome (Agilent, США) согласно инструкции. Секвенирование выполняли на приборе HiSeq1500 с генерацией данных до среднего покрытия 100x.

Биоинформационный анализ необработанных данных проводили на платформе Genomenal [10] по следующей процедуре: контроль качества и фильтрация необработанных чтений, выравнивание на референсный геном человека версии GRCh38/hg38 с помощью инструмента BWA версии 0.7.17, отбор SNV/indels с использованием GATK версии 4.1.3.0 с последующими фильтрацией и контролем качества. Порог частоты альтернативных аллелей установлен на уровне 5 %. Все варианты, встречающиеся в базах данных dbSNP, 1000Genomes и ExAC с частотой выше 1 %, были исключены из анализа. Дополнительно проводили аннотирование по базам данных COSMIC и dbSNP, а также оценку функционального эффекта миссенс-мутаций с помощью предикторов Polyphen2, SIFT, Mutation Assessor и PROVEAN. Для работы были выбраны нонсенс-мутации, мутации со сдвигом рамки считывания, замены в сайтах сплайсинга, миссенс-замены.

Для анализа отобрана таргетная панель генов, которые играют важную роль в развитии и функционировании В-лимфоцитов и, по данным литературы, вовлечены в онкогенез. В исследование были включены гены регуляции иммунного ответа (*CIITA*, *B2M*, *TNFRSF14*, *CD58*), клеточного цикла и апоптоза (*RBI*, *MFHAS1*, *XPO1*, *MYC*, *CDKN2A*, *CDKN2B*, *FOXO1*, *TP53*, *ATM*, *GNA13*, *ERBB2*, *ERBB4*, *FBXW7*, *BCL2*, *GNA11*, *KRAS*, *NRAS*, *NPM1*, *STK11*), пролиферации, дифференцировки и миграции клеток (*ABL1*, *ALK1*, *APC*, *RET*, *SMAD4*, *EGFR*, *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*, *CDH1*, *CSF1R*, *CTNNA1*, *FLT3*, *GNAQ*, *HRAS*, *KDR*, *KIT*, *SOC1*, *PDGFRA*, *PIK3CA*, *PTEN*), сигнальных путей NOTCH (*NOTCH1*, *NOTCH2*), NF-κB (*TNFAIP3*, *MYD88*, *PIM1*, *CARD11*, *IRF4*, *PRDM1*), MAP-киназного (*BRAF*, *PTPN11*), JAK-STAT (*SOC1*, *STAT6*, *JAK2*, *JAK3*, *MET*), BCR (*CD79A*, *CD79B*, *ITPKB*, *TCF3*, *ID3*), эпигенетической регуляции (*EZH2*, *KMT2D*, *EP300*, *MEF2B*, *CREBBP*, *SMARCB1*, *SMARCA4*, *ARID1A*) и репарации ДНК (*MSH2*, *MSH6*, *MLH1*).

Патогенные и вероятно патогенные однонуклеотидные замены с частотой мутантного аллеля 30 % и более были подтверждены методом прямого капиллярного секвенирования по Сэнгеру. Делеции валидированы методом полимеразной цепной реакции с фланкирующими праймерами с последующим электрофорезом в высокопроцентном полиакриламидном геле с добавлением глицерина.

С помощью онлайн-сервиса OncoPrinter [11] была получена картина совместного появления и взаимного исключения мутаций в генах при лимфоме. Мутации отдельных генов были представлены в виде графика «леденец на палочке» с помощью программы Lollipop software [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Функционально значимые мутации были выявлены в ряде генов анализируемой панели (табл. 2). На рис. 1 представлены результаты подтверждения выявленных находок с частотой мутантного аллеля более 30 % методами секвенирования по Сэнгеру.

Миссенс-мутации составили 22/35 (62,8 %), небольшие делеции – 8/35 (23 %), замены с образованием «стоп»-кодона – 3/35 (8,6 %), инсерция нуклеотида и синонимичная замена нуклеотида в сайте сплайсинга – по 1/35 (2,8 %). При этом только 3/8 делеций приводили к утрате кодонов в рамке считывания, в остальных случаях они вызывали сдвиг рамки считывания и преждевременную терминацию синтеза кодируемого белка.

В табл. 3 представлены результаты анализа функциональной значимости выявленных миссенс-замен. Все мутации, за исключением *MYD88* p.V204F, были отнесены большинством биоинформационных предикторных программ к возможно/вероятно патогенным заменам.

В целом можно выделить 4 группы основных генетических событий в группе исследованных образцов, а именно мутации в генах: сигнальных путей NF-κB (*MYD88*, *NOTCH1*, *CD79B*, *CARD11*) – 6/9 образцов, JAK-STAT (*PIM1*, *STAT6*) – 5/9 образцов, системы ремоделирования хроматина (*ARID1A*, *KMT2D*, *EP300*, *SMARCA4*) – 5/9 образцов, а также в главном онкосупрессоре *TP53* – 3/9 образцов.

Мутации в генах сигнальных путей NF-κB и JAK-STAT носили сочетанный характер, а наибольшее число нарушений было выявлено в образцах с мутациями в генах *MSH2* и *MSH6* (рис. 2), которые входят в систему мисс-матч-репарации и участвуют в процессах исправления инсерций, делеций и включений ошибочных нуклеотидов в последовательность ДНК в процессе репликации [13]. В 3/4 случаев выявленных мутаций в *MYD88* в группе исследования зафиксирована рекуррентная замена с.794T>C, p.L265P, которая является «горячей» точкой мутаций в гене (рис. 3).

Мутации в онкосупрессорных генах системы ремоделирования хроматина были представлены следующими находками. В 2 образцах выявлены замены в гене *KMT2D* (p.G2279R и p.Q3683X), кодирующем лизин-специфическую метилтрансферазу 2D [14]. В 1 из образцов была обнаружена мутация p.F1448S в гене *EP300*, ответственном за синтез фермента гистон-ацетилтрансферазы P300, которая действует как коактиватор для различных факторов транскрипции и участвует в регуляции генов, контролирующей клеточную пролиферацию, апоптоз, дифференцировку, клеточный цикл и репарацию ДНК [15]. Также в группе исследования выявлены мутации *SMARCA4* p.E187fs и *ARID1A* p.Q1212HfsX4 и p.Q1334del. Интересно, что все они представляли собой небольшие делеции, 2 из которых вызывают сдвиг рамки считывания и возникновение преждевременных «стоп»-кодонов,

Таблица 2. Данные секвенирования образцов опухолей пациентов с диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой, у которых в рецидиве заболевания поражение центральной нервной системы

Table 2. Data from sequencing of tumor specimens from patients with diffuse large B-cell lymphoma who have relapsed disease central nervous system lesion developed

Ген Gene	Положение мутации Mutation position (GRCh38)	Генотип Genotype	Экзон Exon	Положение Position		Идентификатор Identifier		Частота мутации* Mutation frequency*	Референсная последовательность Reference sequence	Глубина чтения (W/M) Reading depth (W/M)
				В ДНК In DNA	В белке In protein	dbSNP	COSMIC			
Образец 1 Sample 1										
<i>MSH2</i>	chr2:47412552 G>A	G/A	4	c.G784A	p.E262K	—	—	H/д N/a	ENST00000233146.6	17x (9/8)
<i>MYD88</i>	chr3:38141150 T>C	T/C	3	c.T794C	p.L265P	rs387907272	COSV57169334	0,0001	ENST00000495303.6	63x (15/48)
<i>PIM1</i>	chr6:37171466 G>T	G/T	4	c.G582T	p.K194N	—	—	H/д N/a	—	44x (29/15)
	chr6:37171468– 37171476 delACACCGTCT	ACACC GTCT/–	4	c.584_592del	p.195_198del	—	—	—	ENST00000373509.5	44x (29/15)
<i>CARD11</i>	chr7:2939925 C>T	C/T	6	c.G688A	p.D230N	—	COSV67796694	H/д N/a	ENST00000396946.8	41x (11/30)
<i>NOTCH1</i>	chr9:136505728 G>T	G/T	25	c.C4168A	p.P1390T	rs191645600	COSV53103214	0.0006	ENST00000277541.7	24x (18/6)
<i>TP53</i>	chr17:7674220 C>T	C/T	3	c.G347A	p.R116Q	rs11540652	COSV52661580	0.0002	ENST00000504290.5	25x (4/21)
<i>CD79B</i>	chr17:63929320 A>G	A/G	5	c.T284C	p.L95P	—	COSV50075918	H/д N/a	ENST00000349817.2	47x (18/29)
<i>SMARCA4</i>	chr19:11007900– 11007902 delAGG	AGG/–	6	c.559_559del	p.E187fs	rs759896283	—	0,00001	ENST00000643208.1	42x (36/6)
Образец 2 Sample 2										
<i>TP53</i>	chr17:7674253 A>G	A/G	3	c.T314C	p.M105T	—	COSV53037559	H/д N/a	ENST00000504290.5	77x (54/23)
Образец 3 Sample 3										
<i>MSH2</i>	chr:47463067 G>C	G/C	9	c.G1423C	p.D475H	—	—	H/д N/a	ENST00000233146	16x (8/8)
<i>MYD88</i>	chr3:38140534 G>T	G/T	3	c.G610T	p.V204F	rs776995408	—	0,000007	ENST00000495303.6	307x (182/124)
<i>PIM1</i>	chr6:37171287 G>C	G/C	4	c.G403C	p.E135Q	—	—	H/д N/a	ENST00000373509.6	500x (260/240)

Продолжение табл. 2
Continuation of table 2

Ген Gene	Положение мутации Mutation position (GRCh38)	Генотип Genotype	Экзон Exon	Положение Position		Идентификатор Identifier		Частота мутации* Mutation frequency*	Референтная последовательность Reference sequence	Глубина чтения (W/M) Reading depth (W/M)
				В ДНК In DNA	В белке In protein	dbSNP	COSMIC			
<i>CD79B</i>	chr17:63929439 T>A	T/A	5	c.T586A	p.Y196N	—	—	H/д N/a	ENST00000006750.7	214x (39/175)
<i>ARID1A</i>	chr17:26772908 delG	G/—	14	c.3636del	p.Q1212HfsX4	—	—	H/д N/a	ENST00000324856.13	10x (8/2)
Образец 4 Sample 4										
<i>KMT2D</i>	chr12:49040935 C>T	C/T	31	c.G6835A	p.G2279R	—	—	H/д N/a	ENST00000301067.11	166x (114/52)
Образец 5 Sample 5										
<i>MSH6</i>	chr2:47801134 G>A	G/A	2	c.G2761A	p.V921I	rs576269342	COSV52273761	0,0009	ENST00000540021.5	190x (97/93)
<i>MYD88</i>	chr3:38141150 T>C	T/C	3	c.T794C	p.L265P	rs387907272	COSV57169334	0,00001	ENST00000495303.6	322x (198/124)
<i>KMT2D</i>	chr12:49033658 G>A	G/A	39	c.C11047T	p.Q3683X	—	COSV56419976	—	ENST00000301067.11	335x (230/105)
<i>CIITA</i>	chr16:10910180– 10910186 delCTCTCCA	CTCT CCA/—	11	g. 10910180– 10910186	p.R809fs	—	—	—	ENST00000324288.13	48x (22/26)
<i>TP53</i>	chr17:7673802 C>T	C/T	4	c.G422A	p.R141H	rs28934576	COSV52660980	0,00003	ENST00000504290.5	46x (27/19)
<i>EP300</i>	chr22:41170462 T>C	T/C	27	c.T4343C	p.F1448S	—	COSV54331536	—	ENST00000263253.8	290x (222/67)
Образец 6 Sample 6										
<i>CD58</i>	chr1:116570907 G>T	G/T	1	c.C66A	p.C22X	—	—	H/д N/a	ENST00000369487.3	107x (4/103)
<i>MYD88</i>	chr3:38141150 T>C	T/C	3	c.T794C	p.L265P	rs387907272	COSV57169334	0,00001	ENST00000495303.6	116x (74/42)
<i>PIM1</i>	chr6:37171024 G>A	G/A	3	c.G233A	p.G78E	—	COSV65165083	H/д N/a	ENST00000373509.5	63x (48/15)
<i>BCL2</i>	chr18:63318090 C>T	C/T	1	c.G577A	p.G193R	—	—	H/д N/a	ENST00000398117.1	83x (61/22)

Окончание табл. 2
The end of table 2

Ген Gene	Положение мутации Mutation position (GRCh38)	Генотип Genotype	Экзон Exon	Положение Position		Идентификатор Identifier		Частота мутации* Mutation frequency*	Референсная последовательность Reference sequence	Глубина чтения (W/M) Reading depth (W/M)
				В ДНК In DNA	В белке In protein	dbSNP	COSMIC			
Образец 7 Sample 7										
ARID1A	chr1:26773690–26773693 delGCA	GCA/–	16	c.3999–4001del	p.Q1334del	–	COSV95590316	0,00005	ESNT00000324856.13	39x (29/10)
CD79B	chr17:63929309–63929324 delIGTCAATG TCCAGGCC	GTC AATGT CCAG GCC/–	6	c.592–606del	p.G198_D202del	–	–	H/д N/a	ESNT00000349817.2	28x (22/6)
CD79B	chr17:63929839–63929840 delC	C/–	4	c.479del	p.G160VfsX4	–	–	H/д N/a	ESNT00000349817.2	14x (8/6)
Образец 8 Sample 8										
PIM1	chr6:37171029 C>T	C/T	3	c.C 238T	p.L80L	rs376834220	COSV97848761	H/д N/a	ENST00000373509.6	115x (79/35)
CD79B	chr17:63929435 T>TC	T/TC	5	c.589dup	p.E197GfsX6	–	–	H/д N/a	ESNT00000349817.2	130x (75/65)
Образец 9 Sample 9										
STAT6	chr12:57102472 G>A	G/A	13	c.G1330A	p.E444K	–	–	H/д N/a	ENST00000300134.8	19x (14/5)
CIITA	chr16:10907411 T>G	T/G	11	c.T1919G	p.L641R	–	–	H/д N/a	ENST00000324288.13	71x (56/15)
CIITA	chr16:10923259 C>T	C/T	19	c.C3349T	p.Q1118X	–	–	H/д N/a	ENST00000324288.13	47x (34/12)
SOCS1	chr16:11255269–11255284 delGCCGCC GTGATGCCG	GCGCG CGTGAT GCGC/–	1	c.195_209del	p.R66_A70del	–	–	H/д N/a	ENST00000644787.1	63x (55/8)

*Данные Exome Aggregation Consortium database.

*Data from Exome Aggregation Consortium database.

Примечание. H/д – нет данных; W – число чтений дикого аллеля; M – число чтений мутантного аллеля.

Note. N/a – no data available; W – number of wild allele readings; M – number of mutant allele readings.

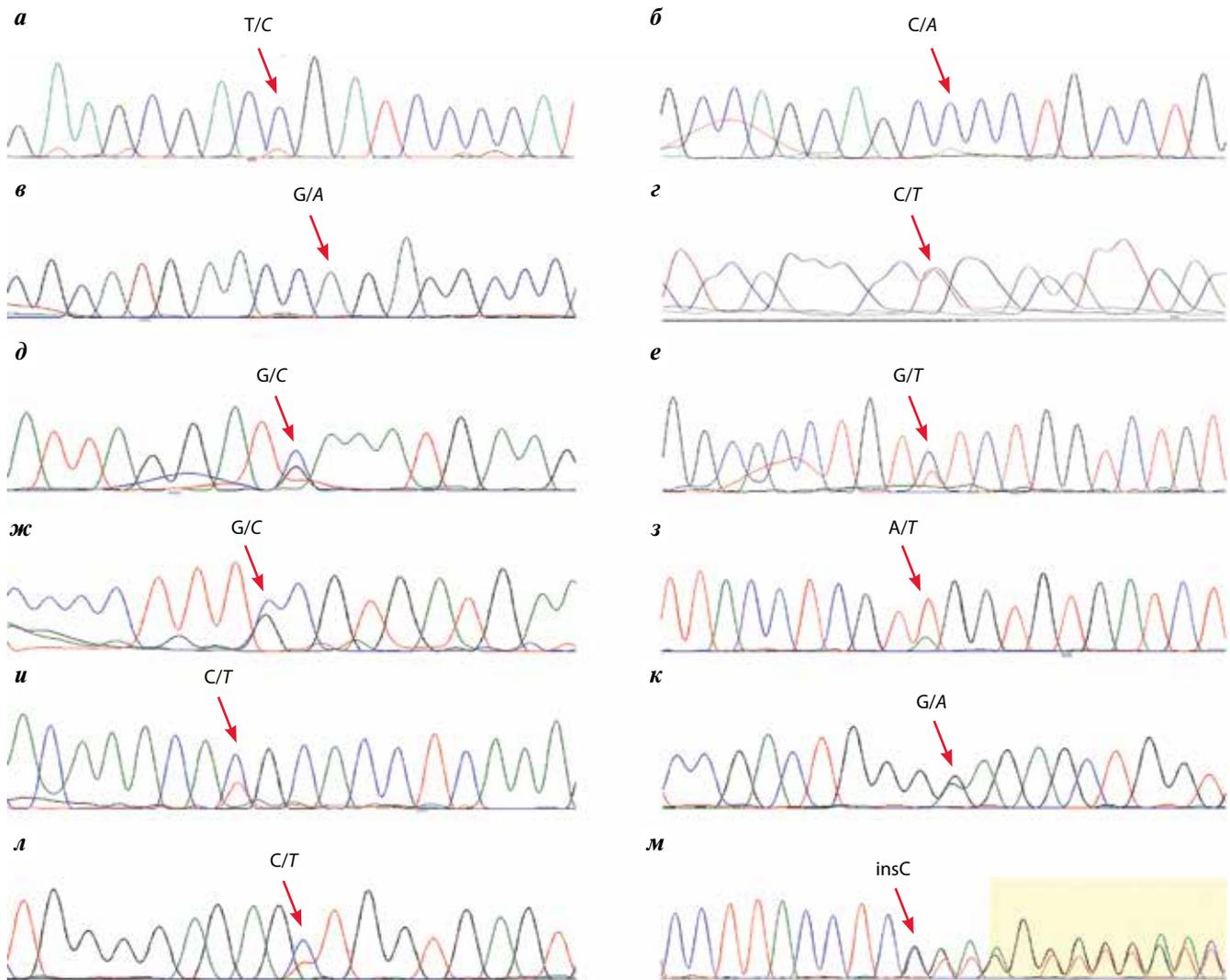


Рис. 1. Секвенограммы мутаций: а – MYD88 p.L265R; б – NOTCH1 p.P1390T; в – TP53 p.R116Q; г – CD79B p.L95P; д – MSH2 p.D475H; е – MYD88 p.V204F; ж – PIM1 p.E135Q; з – CD79B p.Y196N; и – TP53 p.R141H; к – PIM1 p.G78E; л – PIM1 p.L80L; м – CD79B p.E197GfsX6
Fig. 1. Mutation sequences: а – MYD88 p.L265R; б – NOTCH1 p.P1390T; в – TP53 p.R116Q; г – CD79B p.L95P; д – MSH2 p.D475H; е – MYD88 p.V204F; ж – PIM1 p.E135Q; з – CD79B p.Y196N; и – TP53 p.R141H; к – PIM1 p.G78E; л – PIM1 p.L80L; м – CD79B p.E197GfsX6

что неминуемо приводит к снижению количественного содержания функционально активного белка [16].

Мутации в ДНК-связывающем домене главного онкосупрессорного гена *TP53* были выявлены в 1/3 исследованных случаев: p.M105T, p.R116Q и p.R141H. Все они зафиксированы в базе данных COSMIC при различных злокачественных новообразованиях, а 2 последние мутации являются «горячими» точками мутаций в гене и многократно упоминаются в этой базе, в том числе при лимфоидных опухолях (см. рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Рецидив ДВККЛ в ЦНС является одним из наиболее тяжелых проявлений опухолевой прогрессии заболевания и фатальным в подавляющем большинстве случаев. Добавление ритуксимаба – анти-CD20 моноклонального антитела – в протоколы лечения В-клеточных лимфом привело к улучшению исходов

ДВККЛ, но не решило проблемы поражения ЦНС при рецидиве опухоли в силу малой проницаемости препарата через ГЭБ [2].

Прогнозирование риска рецидива развития лимфомы в ЦНС и отбор пациентов для проведения агрессивной профилактики остаются не до конца решенными задачами. Международный прогностический индекс CNS-IPi, основанный на учете таких факторов риска, как возраст старше 60 лет, заболевание III и IV стадии, общесоматический статус >1 балла, наличие 2 и более очагов экстранодального поражения, повышенный уровень лактатдегидрогеназы сыворотки крови, а также вовлечение почек или надпочечников, позволяет определить группу повышенного риска вовлечения ЦНС с частотой рецидива до 10–12 %. Однако 50 % рецидивов ДВККЛ в ЦНС происходит в группах пациентов низкого/среднего риска, не получающих профилактического лечения [17].

Таблица 3. Функциональный анализ выявленных мутаций

Table 3. Functional analysis of identified mutations

Мутация Mutation		Предикторная программа Predictor program				
Изменение в белке Change in protein	Эффект Effect	SIFT	PolyPhen2	LRT	MutationAssessor	PROVEAN
<i>MYD88</i> p.L265P	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	П P	П P	П P
<i>MYD88</i> p.V204F	Замена аминокислоты Amino acid replacement	НП NP	НП NP	НП NP	НП NP	НП NP
<i>MSH2</i> p.E262K	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	П P	П P	П P
<i>MSH2</i> p.D475H	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	П P	П P	П P
<i>PIM1</i> p.E135Q	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	П P	П P	П P
<i>PIM1</i> p.K194N	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	П P	П P	П P
<i>PIM1</i> p.G78E	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	П P	П P	П P
<i>CARD11</i> p.D230N	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	П P	П P	П P
<i>NOTCH1</i> p.P1390T	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	П P	П P	П P
<i>TP53</i> p.R116Q	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	П P	П P	П P
<i>TP53</i> p.M105T	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	П P	П P	П P
<i>TP53</i> p.R141H	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	П P	П P	П P
<i>CD79B</i> p.L95P	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	П P	П P	П P
<i>CD79B</i> p.Y196N	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	П P	П P	П P
<i>KMT2D</i> p.G2279R	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	П P	П P	П P
<i>MSH6</i> p.V921I	Замена аминокислоты Amino acid replacement	НП NP	НП NP	П P	П P	П P
<i>EP300</i> p.F1448S	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	П P	П P	П P
<i>BCL2</i> p.G193R	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	П P	П P	П P
<i>STAT6</i> p.E444K	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	П P	П P	П P
<i>СИТА</i> p.L641R	Замена аминокислоты Amino acid replacement	П P	П P	НП NP	П P	НП NP
<i>СИТА</i> p.Q1118X	Образование «стоп»-кодона “Stop”-codon formation	—	—	—	—	—
<i>SOCS1</i> p.R66_A70del	Делеция в рамке считывания In-frame deletion	—	—	—	—	—

Окончание табл. 3

The end of table 3

Мутация Mutation		Предикторная программа Predictor program				
Изменение в белке Change in protein	Эффект Effect	SIFT	PolyPhen2	LRT	MutationAssessor	PROVEAN
<i>ARID1A</i> p.Q1334del	Делеция в рамке считывания In-frame deletion	–	–	–	–	–
<i>ARID1A</i> p.Q1212HfsX4	Сдвиг рамки считывания Frameshift	–	–	–	–	–
<i>SMARCA4</i> p.E187fs	Сдвиг рамки считывания Frameshift	–	–	–	–	–
<i>PIM1</i> p.195_198del	Сдвиг рамки считывания Frameshift	–	–	–	–	–
<i>PIM1</i> p.L80L	Мутация в сайте сплайсинга Mutation at the splicing site	–	–	–	–	–
<i>CD79B</i> p.G198_D202del	Делеция в рамке считывания In-frame deletion	–	–	–	–	–
<i>CD79B</i> p.G160VfsX4	Сдвиг рамки считывания Frameshift	–	–	–	–	–
<i>CD79B</i> p.E197GfsX6	Сдвиг рамки считывания Frameshift	–	–	–	–	–
<i>KMT2D</i> p.Q3683X	Образование «стоп»-кодона “Stop”-codon formation	–	–	–	–	–
<i>CD58</i> p.C22X	Образование «стоп»-кодона “Stop”-codon formation	–	–	–	–	–
<i>СИТА</i> p.R809fs	Сдвиг рамки считывания Frameshift	–	–	–	–	–

Примечание. П – патогенная; НП – непатогенная.

Note. P – pathogenic; NP – not pathogenic.

Существуют предположения, что есть вероятность предсказать риск рецидива в ЦНС у пациентов с ДВККЛ на молекулярной основе [5]. Специфические генетические сигнатуры могут быть связаны с вовлечением ЦНС в опухолевый процесс при лимфоме, а их выявление поможет улучшить точность прогноза и обосновать выбор больных для профилактической терапии.

Применение методов секвенирования нового поколения значительно расширило понимание генетического ландшафта всех типов неходжкинских лимфом. В частности, в публикациях, содержащихся в базе PubMed, описаны результаты таргетного, полногеномного и полноэкзомного секвенирования более 2000 образцов системной ДВККЛ и более 150 образцов первичной ДВККЛ ЦНС [18–21].

Ранее мы провели анализ доступных баз данных, в которых содержалась информация о результатах профилирования методами секвенирования нового поколения случаев ДВККЛ с рецидивами в ЦНС. В поле нашего внимания попала C-Bioporlal for cancer

genomics database, в которой содержатся данные о молекулярно-генетическом профиле и клинических характеристиках более 1200 пациентов с ДВККЛ. В ней можно было выделить 355 случаев данной патологии без вовлечения ЦНС и 48 – с рецидивом опухоли в ЦНС [22].

Были проанализированы данные мутационного профиля этих 2 подгрупп ДВККЛ по мутационному ландшафту, определенному методами высокопроизводительного секвенирования. В группе больных с рецидивами ДВККЛ в ЦНС значимое увеличение частоты выявления мутаций по сравнению с группой без вовлечения ЦНС были получены по 5 генам: *MID88*, *PIM1*, *CD79B*, *ARID1A* и *INO80*. Обращала на себя внимание еще одна особенность: мутации в генах *MYD88*, *PIM1* и *CD79B* достоверно сочетались друг с другом, тогда как мутации в генах системы ремоделирования хроматина *INO80*, *ARID1A* и *SMARCA4* имели тенденцию к взаимному исключению [1, 9].

Полученные нами в ходе эксперимента с использованием метода высокопроизводительного секвенирования

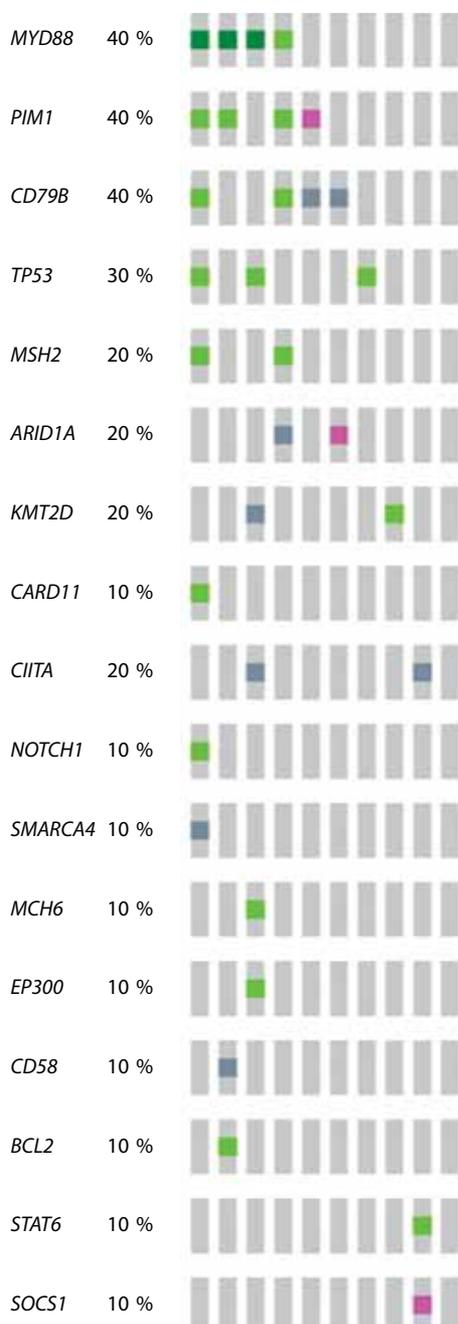


Рис. 2. Совместное выявление и взаимное исключение мутаций в группе исследования: темно-зеленым цветом выделены мутации с доказанным драйверным значением, светло-зеленым — миссенс-замены, серым — приводящие к синтезу усеченного варианта белка мутации, розовым — другие варианты мутаций

Fig. 2. Co-detection and mutual exclusion of mutations in the study group: dark green indicates mutations with a proven driver value, light green indicates missense substitutions, gray indicates mutations leading to the synthesis of a truncated protein variant, pink indicates other mutations

данные по мутационному профилю случаев ДВККЛ с поражением ЦНС в рецидиве в целом подтверждают результаты проведенного ранее анализа CBioPortal for Cancer Genomics database. В частности, отмечено наличие сочетанных мутаций в генах сигнальных путей NF-κB и JAK-STAT у ряда больных. Из 4 находок в *MYD88* 3 были представлены рекуррентной мутаци-

ей 265-го кодона. Мутации в гене *ARID1A* выявлены в 2 исследованных образцах, в гене *SMARCA4* — в 1.

Таким образом, совокупность полученных данных свидетельствует о том, что среди ДВККЛ с рецидивом в ЦНС можно выделить по меньшей мере 2 подгруппы случаев. Согласно данным анализа CBioPortal for Cancer Genomics database, к каждой из этих подгрупп можно отнести около 1/3 случаев (37,5 и 31,2 % соответственно).

Первая по спектру мутаций (сочетанные мутации в генах *MYD88*, *PIM1* и *CD79B*) близка первичной ДВККЛ ЦНС и соответствует молекулярному подтипу из активированных В-клеток, а точнее варианту MCD, согласно классификации ДВККЛ на основании мутационных профилей и геномных перестроек, предложенной N. Schmitz и соавт. [23], или варианту C5, согласно классификации ДВККЛ на основании мутационных профилей и оценки копийности генов, разработанной В. Charu и соавт. [23], каждый из которых ассоциирован с неблагоприятным исходом лимфомы.

Пути патогенеза первичной ДВККЛ ЦНС хорошо изучены и подробно описаны в литературе [24]. Отметим лишь, что ведущую роль в них играет активация транскрипционного фактора NF-κB, основным эффектом которой является аутокринная сигнализация посредством выделяемых провоспалительных цитокинов и цитокиновых рецепторов на поверхности злокачественных лимфоцитов, что способствует выживанию и росту опухолевых клеток [25]. Тот факт, что вариант MCD или молекулярный подтип из активированных В-клеток ассоциированы и с другими локализациями экстранодальных поражений лимфомы (яичко, молочные железы, кожа), позволяет предположить, что риск вовлечения в опухолевый процесс ЦНС при ДВККЛ имеет именно молекулярную основу [3, 26].

Обнаружение во 2-й подгруппе пациентов мутаций в генах системы ремоделирования хроматина (изолированных мутаций в генах *INO80*, *ARID1A* и *SMARCA4*) делает эти случаи схожими с лимфомой Беркитта [27, 28]. Анализ данных литературы за последние несколько лет показал, что среди самых часто мутирующих генов при данной лимфоме 4-е и 5-е места занимают *SMARCA4* и *ARID1A*. При этом лимфома Беркитта является вариантом неходжкинских злокачественных лимфом с очень частым (до 30–35 % случаев) вовлечением в опухолевый процесс ЦНС [27, 29–31].

Кодируемые генами *INO80*, *ARID1A* и *SMARCA4* белки являются ключевыми структурно-функциональными единицами 2 комплексов системы ремоделирования хроматина — SWI/SNF (SWItch/Sucrose Non-Fermentable) и INO80 (Inositol 80). Основная их функция — изменение структуры, состава и расположения нуклеосом для обеспечения посадки транскрипционных факторов, белков системы репарации

ДНК и репликации. Белки, кодируемые *SMARCA4* и *INO80*, являются каталитическими субъединицами и обеспечивают получение энергии аденозинтрифосфата (АТФ) для перемещения комплекса, а *ARID1A* обеспечивает доступность той или иной области генома [32].

Согласно данным литературы, мутации в генах семейств SMARC и ARID действительно возникают взаимоисключающим образом. Связывают это с их функциональной синонимичностью [33]. Кодируемые *ARID1A* и *SMARCA4* субъединицы комплекса SWI/SNF имеют паралоги, которые включаются в состав комплекса ремоделирования хроматина на место мутировавшего белка, что влияет на работу комплекса в целом [16, 34]. В частности, в опухолевых клетках с дефицитом функции *ARID1A* имеет место активация сигнального пути JAK-STAT, усиленная продукция интерлейкина 6 (ИЛ-6) и фактора некроза опухоли α (ФНО- α) [16].

Отдельно следует остановиться на мутациях в гене *TP53*. Известно, что основной его функцией является защита от опухолевого роста с помощью самых различных механизмов. Здесь же отметим, что, помимо прочего, кодируемый *TP53* белок p53 модулирует активность путей передачи сигналов через рецепторы цитокинов. Потеря функции p53 приводит к увеличению фосфорилирования STAT3, который опосредует усиленную аутокринную/паракринную передачу сигналов ИЛ-6. Кроме того, некоторые мутанты p53 могут приобретать новые активности, влияющие на передачу сигналов цитокинов. Напротив, экспрессия мутанта p53 R175H способна усиливать передачу сигналов NF- κ B – фактора транскрипции, реагирующего на провоспалительные сигналы и приводящего к повышению уровня ФНО- α , интерлейкина-1 β , ИЛ-6 и других провоспалительных медиаторов [35].

Кроме того, статус p53 в злокачественных клетках формирует иммунный ландшафт опухоли. Нарушения в p53 не только помогают опухолевым клеткам ускользать от иммунного надзора за счет выраженной генетической нестабильности, но и способствуют созданию иммуносупрессивной среды. Делеции или мутации p53 в опухоли нарушают иммунное распознавание с помощью таких механизмов, как снижение на поверхности опухолевых клеток экспрессии главного комплекса гистосовместимости класса I (major histocompatibility complex class I, МНС-I) и других необходимых для презентации эндогенного антигена молекул [36].

Описано также увеличение экспрессии лиганда рецептора программируемой клеточной гибели 1 (programmed death-ligand 1, PD-L1) на поверхности опухолевых клеток при потере активности p53. Происходит это из-за снижения уровня транскрипционной мишени p53 – miR-34a, которая является репрессором экспрессии PD-L1. Посредством нее опухолевые клетки также участвуют в прямом подавлении функции

T-клеток. Контакт этих лигандов с рецепторами рецептора программируемой клеточной гибели 1 (programmed cell death 1, PD1) на поверхности T-лимфоцитов приводит к снижению их противоопухолевой активности и гибели [37].

Следует обратить внимание также на тот факт, что в 5/9 изученных нами образцах, помимо мутаций *TP53*, наблюдались нарушения в генах *СИТА* и *CD58*, также имеющих значение в уклонении опухолевых клеток от иммунного надзора.

Так, белок СИТА постоянно экспрессируется в В-клетках и является основным регулятором транскрипции гена главного комплекса гистосовместимости класса II (major histocompatibility complex class II, МНС-II). Функции последнего – связывание пептидных фрагментов, полученных при внутриклеточном расщеплении белковых молекул, и презентация этих пептидов на поверхности клеток для распознавания T- и NK-клеточными рецепторами. Мутации в гене *СИТА* являются наиболее распространенным механизмом подавления экспрессии МНС-II в опухолевой ткани пациентов с ДВККЛ, и их наличие коррелирует с уменьшением количества лимфоцитов (в первую очередь T-клеток), инфильтрирующих опухоль, и плохими исходами заболеваниями [35].

Белок CD58 экспрессируется на поверхности иммунных клеток, в том числе В-лимфоцитов, и участвует в усилении адгезии между ними и T-лимфоцитами. Этот процесс предшествует взаимодействию рецепторов МНС с T-клеточными рецепторами и активации T-клеток. Мутации CD58 являются характерной чертой первично-рефрактерных и рецидивирующих случаев ДВККЛ [38, 39].

В настоящее время становится очевидным, что успешное лечение злокачественных новообразований невозможно без учета их генетических особенностей. В будущем внедрение высокопроизводительного секвенирования в рутинную клиническую диагностику сделает генетическое профилирование опухоли более доступным и предоставит возможность выбора персонализированных комбинаций лекарственных средств и индивидуальных стратегий ведения пациентов [40].

Полученные в ходе анализа C-Bioportal for cancer genomics database и собственного эксперимента данные о мутационном спектре ДВККЛ с рецидивами в ЦНС позволяют предположить несколько подходов к терапии, направленных на лечение ДВККЛ в момент клинической манифестации рецидива и санацию ЦНС от опухолевых клеток еще на досимптомных этапах. Хорошую терапевтическую мишень для профилактики и лечения ДВККЛ с поражением ЦНС представляет собой *MYD88* p.L265P, поскольку данная рекуррентная мутация приводит к активации киназы, ассоциированной с рецептором интерлейкина 1 (interleukin-1 receptor-associated kinase, IRAK) и Брутон-тирозинкиназы с последующей нисходящей сигнализацией сразу по 2 путям: BCR-NF- κ B и JAK/STAT. При этом

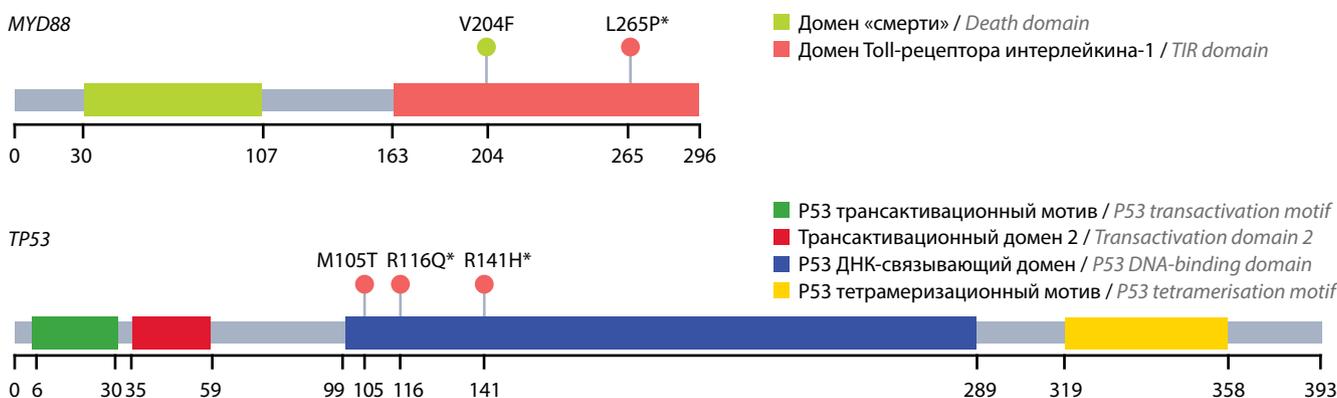


Рис. 3. Распределение мутаций, выявленных в группе исследования, по функциональным доменам генов MYD88 и TP53: красным цветом обозначены патогенные замены, зеленым – непатогенные замены, звездочкой – мутации в «горячих» точках

Fig. 3. Distribution of mutations identified in the study group according to the functional domains of the MYD88 and TP53 genes: pathogenic substitutions are highlighted in red, non-pathogenic substitutions are highlighted in green, mutations in hot spots are marked with an asterisk

забарьерное расположение опухоли требует поиска и применения препаратов, способных преодолевать ГЭБ и создавать в ЦНС терапевтические концентрации [41]. К таковым можно отнести ингибиторы Брутон-тирозинкиназы 1-го (ибрутиниб) [42] и 2-го (тирабрутиниб) [43] поколений.

Отдельное нацеливание на путь JAK-STAT также представляется перспективным, поскольку его ингибирование может оказывать двойное терапевтическое воздействие – на злокачественные клетки и на микроокружение опухоли [44]. Так, селективный ингибитор JAK/STAT руксолитиниб является привлекательной молекулой для изучения в качестве препарата, направленного на лечение ДВККЛ с вовлечением ЦНС, в силу его способности проникать через ГЭБ [45].

К еще одному направлению терапии ДВККЛ с рецидивами в ЦНС можно отнести иммунонаправленную терапию: иммуномодулирующими препаратами (леналидомидом) [46, 47], CD19-направленными CAR-T-клетками (chimeric antigen receptor) [48, 49] и ингибиторами контрольных точек иммунитета (ниволумабом и пембролизумабом) [50, 51].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, несмотря на гетерогенность мутационного профиля ДВККЛ с рецидивами в ЦНС, в большей части случаев для опухолевых клеток характерны генетические нарушения, приводящие к продукции злокачественными лимфоцитами большого количества провоспалительных цитокинов, а также aberrации, снижающие иммуногенность и способствующие избеганию опухоли иммунного надзора.

С одной стороны, достоверно известно, что высокий уровень провоспалительных цитокинов повышает проницаемость ГЭБ, что может способствовать проникновению опухолевых В-клеток из системного кровотока в ткань мозга. С другой стороны, трансформированные клетки выживают только в соответствующей окружающей среде, а устойчивость к запрограммированной клеточной смерти и способность опухолевых

лимфоидных клеток к пролиферации в большой степени зависят от внешних стимулов [52].

Можно предположить, что на первых этапах выживание лимфоидных В-клеток в бедной на ростовые факторы среде ЦНС обеспечивается мутациями, приводящими к активации сигнальных путей JAK-STAT и BCR-NF-κB, и аутокринной стимуляцией через цитокиновые рецепторы. И только позднее посредством секреции провоспалительных цитокинов, хемокинов и/или экзосом опухолевые клетки модулируют свое окружение в нервной ткани, подстраивая его под собственные нужды. Так, результаты недавних экспериментов показали, что экзосомы, полученные из клеток ДВККЛ, с высокой эффективностью могут быть интернализированы макрофагами микроокружения опухоли, что приводит к повышенной продукции такими макрофагами провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, интерлейкина 12 и CXCL10) [36]. Фактически речь идет о возможном механизме перестраивания макрофагов ЦНС (микроглии) на паракринную стимуляцию роста лимфомы.

Само по себе забарьерное расположение клеток лимфомы делает их недоступными для воздействия большего числа препаратов, применяемых для лечения опухоли. Анатомическая и функциональная обособленность ЦНС, обеспечиваемая ГЭБ, также препятствует полноценному функционированию иммунной системы в нервной ткани [53]. Не менее важным для развития ДВККЛ в ЦНС представляется и избегание лимфоидными клетками иммунного надзора, что может быть вызвано как генетическими нарушениями в механизмах презентации антигена, так и прямым подавлением иммунитета путем экспрессии иммуносупрессивных молекул.

Таким образом, иммунонаправленная терапия и нацеливание на сигнальные каскады BCR-NF-κB и JAK-STAT являются наиболее перспективными направлениями лечения ДВККЛ в момент клинической манифестации рецидива и санации ЦНС от опухолевых клеток еще на досимптомных этапах.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Воропаева Е.Н., Пospelova Т.И., Максимов В.Н. и др. Мутации в генах *ARID1A* и *SMARCA4* при рецидивах диффузной В-крупноклеточной лимфомы с поражением ЦНС. Медицинская генетика 2020;19(6):90–2. DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.90-92
2. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Maximov V.N. et al. Mutations in the *ARID1A* and *SMARCA4* genes in relapses of diffuse large B-cell lymphoma with CNS damage. Medicinskaya genetika = Medical genetics 2020;19(6):90–2. (In Russ.). DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.90-92
3. Savage K.J. Secondary CNS relapse in diffuse large B-cell lymphoma: defining high-risk patients and optimization of prophylaxis strategies. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2017;2017(1):578–86. DOI: 10.1182/asheducation-2017.1.578
4. Ollila T.A., Olszewski A.J. Extranodal diffuse large B cell Lymphoma: molecular features, prognosis, and risk of central nervous system recurrence. Curr Treat Options Oncol 2018;19(8):38. DOI: 10.1007/s11864-018-0555-8
5. Grimm K.E., O'Malley D.P. Aggressive B cell lymphomas in the 2017 revised WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. Ann Diagn Pathol 2019;38:6–10. DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2018.09.014
6. Illerhaus G. CNS relapse in DLBCL: a calculable risk? Blood 2021;137(8):1011–2. DOI: 10.1182/blood.2020009269
7. Hall K.H., Panjic E.H., Valla K. et al. How to decide which DLBCL patients should receive CNS prophylaxis. Oncology (Williston Park) 2018;32(6):303–9.
8. Ma'koseh M., Tamimi F., Abufara A. et al. Impact of Central Nervous System International Prognostic Index on the treatment of diffuse large B cell lymphoma. Cureus 2021;13(8):e16802. DOI: 10.7759/cureus.16802
9. Nagpal S., Glantz M.J. Treatment and prevention of secondary CNS lymphoma. Semin Neurol 2010;30(3):263–72. DOI: 10.1055/s-0030-1255222
10. Voropaeva E., Beresina O., Pospelova T. et al. Mutational profile of diffuse large B-cell lymphoma with central nervous system relapse: analysis of CBioPortal for Cancer Genomics database. 2020 Cognitive Sciences, Genomics and Bioinformatics (CSGB) 2020:190–4. DOI: 10.1109/CSGB51356.2020.9214638.
11. NGS WIZARD by Genomenal. Доступно по: <https://www.genomenal.ru/>. NGS WIZARD by Genomenal. (In Russ.). Available at: <https://www.genomenal.ru/>.
12. Gao J., Aksoy B.A., Dogrusoz U. et al. Integrative analysis of complex cancer Genomics and clinical profiles using the cBioPortal. Sci Signal 2013;6(269):p11. DOI: 10.1126/scisignal.2004088.
13. Jay J.J., Brouwer C. Lollipops in the clinic: information dense mutation plots for precision medicine. PLoS One 2016;11(8):e0160519. DOI: 10.1371/journal.pone.0160519
14. Salem M.E., Bodor J.N., Puccini A. et al. Relationship between MLH1, PMS2, MSH2 and MSH6 gene-specific alterations and tumor mutational burden in 1057 microsatellite instability-high solid tumors. Int J Cancer 2020;147(10):2948–56. DOI: 10.1002/ijc.33115
15. Ortega-Molina A., Boss I., Canela A. et al. The histone lysine methyltransferase KMT2D sustains a gene expression program that represses B cell lymphoma development. Nat Med 2015;21:1199–208. DOI: 10.1038/nm.3943. DOI: 10.1038/nm.3943
16. Garbati M.R., Thompson R.C., Haery L., Gilmore T.D. A rearranged EP300 gene in the human B-cell lymphoma cell line RC-K8 encodes a disabled transcriptional co-activator that contributes to cell growth and oncogenicity. Cancer Letters 2011;302:76–83. DOI: 10.1016/j.canlet.2010.12.018
17. Hu B., Lin J.-Z., Yang X.-B., Sang X.-T. The roles of mutated SWI/SNF complexes in the initiation and development of hepatocellular carcinoma and its regulatory effect on the immune system: A review. Cell Proliferation 2020;00:e12791. DOI: 10.1111/cpr.12791
18. Schmitz N., Nickelsen M., Savage K.J. Central nervous system prophylaxis for aggressive B-cell lymphoma: who, what, and when? Hematol Oncol Clin North Am 2016;30:1277–91. DOI: 10.1016/j.hoc.2016.07.008
19. Karube K., Enjuanes A. Integrating genomic alterations in diffuse large B-cell lymphoma identifies new relevant pathways and potential therapeutic targets. Leukemia 2018;32(3):675–84. DOI: 10.1038/leu.2017.251
20. Schmitz R., Wright G.W. Genetics and pathogenesis of diffuse large B-Cell lymphoma. N Engl J Med 2018;378(15):1396–407. DOI: 10.1056/NEJMoa1801445
21. Jardin F. Next generation sequencing and the management of diffuse large B-cell lymphoma: from whole exome analysis to targeted therapy. Discov Med 2014;18(97):51–65.
22. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I., Maksimov V.N. Frequency, spectrum and the functional significance of mutations in TP53 gene in patients with diffuse large B-cell lymphoma. Mol Biol (Mosk) 2017;51(1):64v72. DOI: 10.7868/S0026898416060227
23. cBioPortal for Cancer Genomics. Available at: <https://www.cbioportal.org/>.
24. Chapuy B., Stewart C., Dunford A.J. et al. Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. Nat Med 2018;24:679–90. DOI: 10.1038/s41591-018-0016-8
25. Lauw M.I.S., Lucas C.-H.G., Ohgami R.S., Wen K.W. Primary central nervous system lymphomas: a diagnostic overview of key histomorphologic, immunophenotypic, and genetic features. Diagnostics (Basel) 2020;10(12):1076. DOI: 10.3390/diagnostics10121076
26. deGroen R.A.L., Schrader A.M.R., Kersten M.J. et al. MYD88 in the driver's seat of B-cell lymphomagenesis: from molecular mechanisms to clinical implications. Haematologica 2019;104(12):2337–48. DOI: 10.3324/haematol.2019.227272
27. Wright G.W., Huang D.W., Phelan J.D. et al. A probabilistic classification tool for genetic subtypes of diffuse large B cell lymphoma with therapeutic implications. Cancer Cell 2020;37(4):551–68 e514. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.03.015
28. Wägner R., Seufert J. The mutational landscape of Burkitt-like lymphoma with 11q aberration is distinct from that of Burkitt lymphoma. Blood 2019;133(9):962–6. DOI: 10.1182/blood-2018-07-864025
29. Smith M.C., Kressin M.K., Crawford E. et al. B lymphoblastic leukemia with a novel t(11;15) (q23;q15) and unique Burkittoid morphologic and immunophenotypic findings in a 9-year-old boy. Lab Med Fall 2015;46(4):320–6. DOI: 10.1309/LM0BOC84GSQGHYKD
30. Greenough A., Dave S.S. New clues to the molecular pathogenesis of Burkitt lymphoma revealed through next-generation sequencing. Curr Opin Hematol 2014;21(4):326–32. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000059
31. Giulino-Roth L., Wang K. Targeted genomic sequencing of pediatric Burkitt lymphoma identifies recurrent alterations in antiapoptotic and chromatin-remodeling genes. Blood 2012;120(26):5181–4. DOI: 10.1182/blood-2012-06-437624.
32. Love C., Sun Z., Jima D. et al. The genetic landscape of mutations in Burkitt lymphoma. Nat Genet 2012;44(12):1321–5. DOI: 10.1038/ng.2468
33. Helming K.C., Wang X. Vulnerabilities of mutant SWI/SNF complexes in cancer. Cancer Cell 2014;26(3):309–17. DOI: 10.1016/j.ccr.2014.07.018

33. Bögershausen N., Wöllnik B. Mutational landscapes and phenotypic spectrum of SWI/SNF-related intellectual disability disorders. *Front Mol Neurosci* 2018;11:252. DOI: 10.3389/fnmol.2018.00252
34. Dhodapkar M.V. Navigating the Fas lane to improved cellular therapy for cancer. *J Clin Invest* 2019;129(4):1522–3. DOI: 10.1172/JCI127581
35. Rimsza L.M., Roberts R.A., Campo E. et al. Loss of major histocompatibility class II expression in non-immune privileged site diffuse large B cell lymphoma is highly coordinated and not due to chromosomal deletions. *Blood* 2006;107:1101–7. DOI: 10.1182/blood-2005-04-1510
36. Blagih J., Buck M.D. p53, cancer and the immune response. *J Cell Sci* 2020;133(5):jcs237453. DOI: 10.1242/jcs.237453
37. Cortez M.A., Ivan C., Valdecanas D. et al. PDL1 regulation by p53 via miR-34. *J Natl Cancer Inst* 2016;108:djv303. DOI: 10.1093/jnci/djv303
38. Broséus J., Chen G., Valdecanas D. et al. Relapsed diffuse large B-cell lymphoma present different genomic profiles between early and late relapses. *Oncotarget* 2016;7(51):83987–4002. DOI: 10.18632/oncotarget.9793
39. Lee B., Lee H., Cho J. et al. Mutational profile and clonal evolution of relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Front Oncol* 2021;11:628807. DOI: 10.3389/fonc.2021.628807
40. Cocco N., Anelli L., Zagaria A. et al. Molecular complexity of diffuse large B-cell lymphoma: can it be a roadmap for precision medicine? *Cancers* 2020;12(1):185. DOI: 10.3390/cancers12010185
41. Angeli E., Nguyen T.T., Janin A. et al. How to make anticancer drugs cross the blood-brain barrier to treat brain metastases. *Int J Mol Sci* 2019;21(1):22. DOI: 10.3390/ijms21010022
42. Tsang M., Rubenstein J.L., Rubenstein J.L. Primary central nervous system lymphoma in older adults and the rationale for maintenance strategies: a narrative review. *Ann Lymphoma* 2021;5:25. DOI: 10.21037/aol-20-43
43. Mukasa A. Genome medicine for brain tumors: current status and future perspectives. *Neurol Med Chir* 2020;60(11):531–42. DOI: 10.2176/nmc.ra.2020-0175
44. Haile W.B., Gavegnano C., Tao S. et al. The Janus kinase inhibitor ruxolitinib reduces HIV replication in human macrophages and ameliorates HIV encephalitis in a murine model. *Neurobiol Dis* 2016;92(Pt. B):137–43. DOI: 10.1016/j.nbd.2016.02.007
45. Annese T., Tamma R., De Giorgis M. et al. RNAscope dual ISH-IHC technology to study angiogenesis in diffuse large B-cell lymphomas. *Histochem Cell Biol* 2020;153(3):185–92. DOI: 10.1007/s00418-019-01834-z
46. Rubenstein J.L., Geng H., Fraser E.J. et al. Phase 1 investigation of lenalidomide/rituximab plus outcomes of lenalidomide maintenance in relapsed CNS lymphoma. *Blood Adv* 2018;2(13):1595–607. DOI: 10.1182/bloodadvances.2017014845
47. Ghesquieres H., Chevrier M., Laadhari M. et al. Lenalidomide in combination with intravenous rituximab (REVRI) in relapsed/refractory primary CNS lymphoma or primary intraocular lymphoma: a multicenter prospective ‘proof of concept’ phase II study of the French Oculo-Cerebral lymphoma (LOC) Network and the Lymphoma Study Association (LYSA). *Ann Oncol* 2019;30(4):621–8. DOI: 10.1093/annonc/mdz032
48. De Groen R.A.L., Schrader A.M.R., Kersten M.J. et al. MYD88 in the driver’s seat of B-cell lymphomagenesis: from molecular mechanisms to clinical implications. *Vermaat Haematologica* 2019;104(12):2337–48. DOI: 10.1093/annonc/mdz032
49. Wudhikarn K., Pennisi M., Garcia-Recio M. et al. DLBCL patients treated with CD19 CAR T cells experience a high burden of organ toxicities but low nonrelapse mortality. *Blood Adv* 2020;4(13):3024–33. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020001972
50. Nayak L., Iwamoto F.M., LaCasce A. et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed/refractory primary central nervous system and testicular lymphoma. *Blood* 2017;129(23):3071–3. DOI: 10.1182/blood-2017-01-764209
51. Grommes C., Nayak L., Tun H.W., Batchelor T.T. Introduction of novel agents in the treatment of primary CNS lymphoma. *Neuro Oncol* 2019;21(3):306–13. DOI: 10.1093/neuonc/noy193
52. Wellenstein M.D., de Visser K.E. Cancer-cell-intrinsic mechanisms shaping the tumor immune landscape. *Immunity* 2018;48(3):399–416. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.03.004
53. Яшин К.С., Медяник И.А. Иммуноterapia злокачественных опухолей головного мозга (обзор). *СТМ* 2014;6(4):189–200. Yashin K.S., Medyanik I.A. Immunotherapy of malignant brain tumors (review). *STM = Modern Technologies in Medicine* 2014;6(4):189–200. (In Russ.).

Благодарность. Авторы выражают благодарность Штокало Дмитрию Николаевичу за поддержку биоинформационной обработки данных высокопроизводительного секвенирования.

Acknowledgment. The authors express their gratitude to Dmitry N. Shtokalo for supporting bioinformatic processing of high-performance sequencing data.

Вклад авторов

Е.Н. Воропаева: разработка концепции и дизайна исследования, выполнение секвенирования образцов, анализ и интерпретация данных, написание чернового варианта текста статьи, окончательное одобрение статьи;

Т.И. Поспелова: внесение дополнений в дизайн исследования, анализ и интерпретация данных, научное редактирование;

В.С. Карпова: сбор и анализ клинических данных, статистический анализ, анализ и интерпретация данных, научное редактирование;

М.И. Чуркина, Т.А. Агеева: сбор биологического материала, обзор публикаций по теме статьи, научное редактирование;

Ю.В. Вяткин: биоинформационный анализ полученных данных, научное редактирование;

В.Н. Максимов: обзор публикаций по теме статьи, анализ и интерпретация данных, написание текста статьи, научное редактирование.

Authors’ contribution

E.N. Voropaeva: development of the concept and design of the study, sequencing of samples, analysis and interpretation of data, writing a draft version of the text of the article, final approval of the article;

T.I. Pospelova: making additions to the research design, data analysis and interpretation, scientific editing;

V.S. Karpova: collection and analysis of clinical data, statistical analysis, analysis and interpretation of data, scientific editing;

M.I. Churkina, T.A. Ageeva: collection of biological material, review of publications on the topic of the article, scientific editing;

Yu.V. Vyatkin: bioinformatic analysis of the data obtained, scientific editing;

V.N. Maksimov: review of publications on the topic of the article, analysis and interpretation of data, scientific editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Е.Н. Воропаева / E.N. Voropaeva: <http://orcid.org/0000-0001-7542-7285>

Т.И. Поспелова / T.I. Pospelova: <http://orcid.org/0000-0002-1261-547>

В.С. Карпова / V.S. Karpova: <http://orcid.org/0000-0001-6887-3172>

М.И. Чуркина / M.I. Churkina: <http://orcid.org/0000-0002-1301-5944>

Т.А. Агеева / T.A. Ageeva: <http://orcid.org/0000-0001-7933-8394>

В.Н. Максимов / V.N. Maksimov: <http://orcid.org/0000-0002-7165-4496>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ молодым ученым МД-2706.2019.7. Работа выполнена в рамках бюджетной темы по Государственному заданию № АААА-А17-117112850280-2.

Funding. The work was performed with the financial support of the grant of the President of the Russian Federation to young scientists MD-2706.2019.7. The work was carried out within the framework of the budget topic under the State task No. ААААА-А17-117112850280-2.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Протокол исследования одобрен Комитетом по этике ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics. The local ethics committee of the Novosibirsk State Medical University, Ministry of Health of Russia, Ministry of Health of Russia approved the protocol of the study.

All patients signed an informed consent to participate in the study.