

Nuevas mutaciones en leucemia linfocítica crónica

Novel mutations in chronic lymphocytic leukemias

Dos Santos P, Slavutsky I

*Laboratorio de Genética de Neoplasias Linfoides
Instituto de Medicina Experimental
CONICET-Academia Nacional de Medicina*

islavutsky@hematologia.anm.edu.ar



SUBCOMISIÓN
DE LLC:
MUTACIONES EN
LEUCEMIA LINFÁTICA
CRÓNICA-RECEPTORES
ESTEREOTIPADOS
EN LLC

HEMATOLOGÍA
Volumen 21 N° Extraordinario: 397-404
XXIII Congreso Argentino
de Hematología
Noviembre 2017

Palabras claves: leucemia linfocítica crónica,
mutaciones,
factores pronóstico.

Keywords: chronic lymphocytic leukemia,
mutations,
prognostic factors.

Introducción

La leucemia linfocítica crónica (LLC) es una enfermedad altamente heterogénea asociada a una gran variedad de cambios genéticos y epigenéticos involucrados en su desarrollo. Los pacientes presentan un curso clínico altamente variable, de estable a rápidamente progresivo, con sobrevidas que varían entre 1 y 15 años o más. Si bien se cuenta con sistemas de estadificación y numerosos parámetros biológicos, los mismos no resultan suficientes para clarificar la heterogeneidad clínica de la LLC, siendo necesario profundizar el estudio de nuevos marcadores que permitan definir en forma más precisa el curso clínico de los pacientes y su respuesta al trata-

miento en estadios iniciales de la enfermedad. Entre los factores pronóstico disponibles encontramos los estudios citogenéticos, que han permitido detectar alteraciones clonales en el 40-50% de los casos, con implicancias adversas en la evolución clínica de los pacientes^(1,2). Simultáneamente, la introducción de las técnicas citomoleculares ha hecho factible observar rearrreglos genómicos en más del 80% de los casos, permitiendo establecer grupos de riesgo^(3,4). Dichos rearrreglos comprenden la delección monoalélica de 13q14.3 (55% de los casos), asociada a buen pronóstico cuando se encuentra como única alteración, las delecciones de los genes *ATM* (*ataxia telan-*

glectasia mutated) (11q22) y *TP53* (*tumor protein P53*) (17p13), relacionadas a mala evolución clínica y escasa respuesta al tratamiento, y la trisomía 12, con un pronóstico intermedio. Asimismo, las mutaciones en los genes de *IGHV* (*immunoglobulin heavy chain variable region*) han permitido dividir a la LLC en dos grupos acorde al nivel de homología respecto a la línea germinal: mutado (M) (<98%) con mejor pronóstico, y no-mutado (NM) (≥98%) asociados a peor evolución clínica^(5,6).

Mutaciones y leucemia linfocítica crónica

Estudios relativamente recientes basados en secuenciación masiva, tanto del genoma completo (WGS; *whole-genome sequencing*) como de todos los exones (WES; *whole-exome sequencing*) permitieron revelar en LLC la presencia de ~0,9 mutaciones por megabase (Mb) y una carga de ~10-30 eventos no-silentes por paciente^(7,8). Esta carga mutacional es menor que la observada en tumores epiteliales y otras neoplasias linfoides, y similar a la encontrada en tumores pediátricos y leucemias agudas^(9,10). Asimismo, estos estudios hicieron posible la detección de mutaciones somáticas previamente desconocidas, entre las cuales cabe mencionar las observadas en los genes *NOTCH1* (*neurogenic locus notch homolog protein 1*) (9q34.3), *MYD88* (*myeloid differentiation primary response 88*) (3p22.2), *SF3B1* (*splicing factor 3B subunit 1*) (2q33.1) y *BIRC3* (*baculoviral IAP repeat-containing protein 3*) (11q22.2), que podrían constituir nuevos marcadores moleculares en LLC^(11,12). En concordancia con

estos estudios, la revisión reciente de la clasificación WHO (*World Health Organization*) sugiere una relevancia clínica potencial para dichas mutaciones, las que podrían, en un futuro, ser integradas en un perfil de riesgo conjunto a los rearrreglos genómicos detectados por FISH⁽¹³⁾.

El gen *NOTCH1* codifica para una proteína de transmembrana que actúa como un factor de transcripción cuya activación constitutiva ha sido relacionada con resistencia a la apoptosis y aumento de la supervivencia de las células leucémicas^(14,15). Las mutaciones ocurren preferentemente en el exón 34 (83% de los casos; delección de un dinucleótido: c.7541_7542het_delCT) y en la región 3'UTR (3' *untranslated region*), y generan la aparición de codones *stop* prematuros que originan una proteína NOTCH1 constitutivamente activa y más estable, que carece del dominio PEST en el extremo C terminal (**Figura 1**), responsable de la degradación proteasomal⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. Estas mutaciones son más frecuentes en pacientes CD38 positivos, con *IGHV*-NM y trisomía 12, permitiendo identificar a un subgrupo de pacientes caracterizados biológicamente por desregulación del ciclo celular y supervivencia corta^(14,16,19). Estudios más recientes muestran que los pacientes con *NOTCH1* mutado presentan baja expresión de CD20, resistencia a la inmunoterapia con anti-CD20 y pronóstico adverso⁽²⁰⁻²²⁾, sugiriéndose la importancia de evaluar la presencia de estas mutaciones previo a la inclusión de pacientes en protocolos de tratamiento con inmuno-quimioterapia anti-CD20.

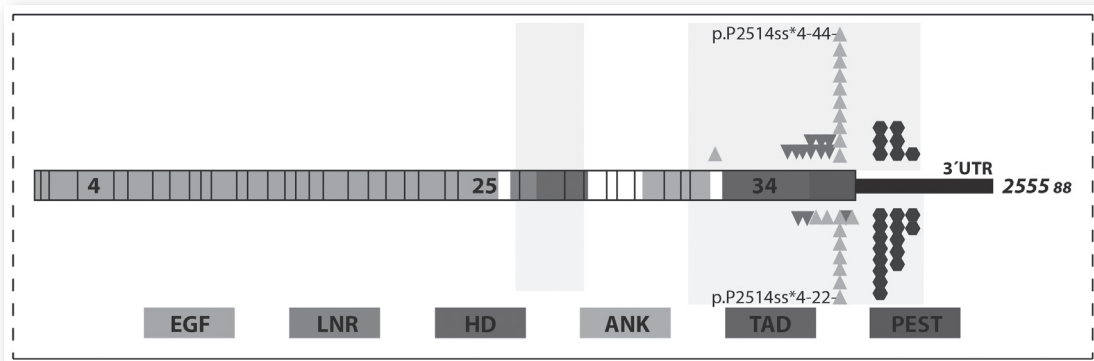


Figura 1. Diagrama del gen *NOTCH1* mostrando la ubicación de mutaciones a nivel del exón 34 y la región 3'UTR. (modificado de Nadeu et al⁽⁵¹⁾).

Por su parte, *SF3B1* es un componente del *core* del “esplaciosoma”, un complejo de cinco pequeñas ribonucleoproteínas involucradas en el empalme del precursor del ARNm y en la formación del

ARN maduro⁽²³⁾. Particularmente, *SF3B1* codifica para U2 snRNP (*small nuclear ribonucleoprotein*), un componente crucial de este complejo que actúa en la fase inicial del empalme⁽²⁴⁾. Las mutaciones

de este gen en LLC afectan por lo general el dominio HEAT de la proteína, modificando su funcionamiento^(26,27) y afectando la interacción de *SF3B1* con el RNA⁽²⁵⁾ (**Figura 2**), siendo la mutación más frecuente K700E observada en aproximadamente el 50% de los casos. Las mutaciones de este gen se encuentran preferencialmente asociadas a deleciones de 11q22-23 y a mutaciones de *ATM*^(22,26), indicando una cooperación entre estos eventos y alteraciones citogenéticas en la leucemogénesis, con probable influencia en la heterogeneidad clínica de la enfermedad^(15,19). Estudios recientes sugieren que *SF3B1* podría controlar el ciclo celular y la apoptosis, y que

sus mutaciones llevarían a errores en el empalme de transcritos específicos que afectarían la patogénesis de la LLC, así como también podrían influir en la respuesta del daño al ADN⁽²⁸⁾. Al presente existen datos controvertidos sobre su impacto clínico, con trabajos que indican su asociación con un pronóstico relativamente malo y otros que no muestran relación con la evolución de los pacientes⁽²⁹⁻³²⁾. No obstante, un meta-análisis reciente encuentra una supervivencia libre de progresión y supervivencia global significativamente más cortas en los casos con *SF3B1* mutado respecto de los no mutados⁽³³⁾.

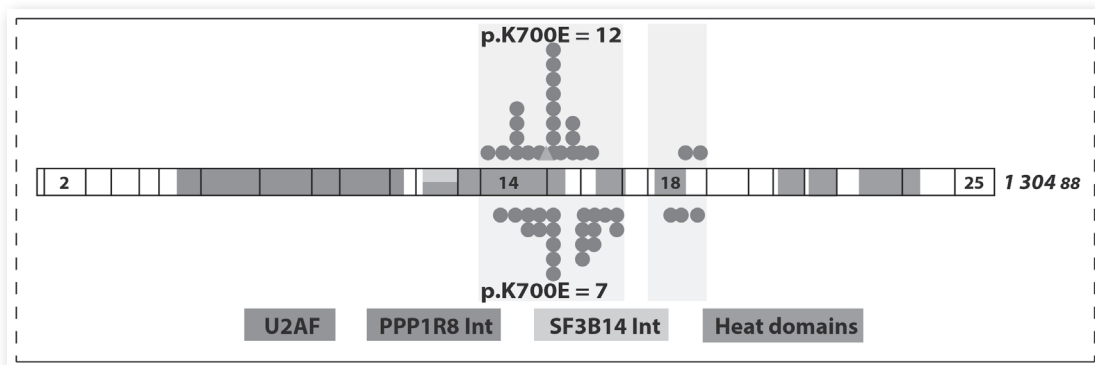


Figura 2. Diagrama del gen *SF3B1* mostrando la ubicación de mutaciones mayoritariamente en los exones 14 y 16 que afectan al dominio HEAT (modificado de Nadeu et al⁽⁵¹⁾).

Por su parte, *BIRC3* es un regulador negativo de la quinasa serina treonina MAP3K14, importante activador de NF- κ B (*nuclear factor kappa B*)⁽³⁴⁾. Se encuentra involucrado en el mantenimiento de los niveles de TP53, a través de la modulación de MDM2 (*Mouse Double Minute 2, Human Homolog*), y su represión contribuye a la progresión neoplásica⁽³⁵⁾. *BIRC3* se encuentra ubicado a 6Mb centromérico al locus de *ATM*, observándose en el 80% de los pa-

cientes con deleción de *ATM* la pérdida de un alelo de *BIRC3*^(36,37). Las mutaciones de este gen en LLC determinan la ruptura del dominio RING en el extremo C-terminal de la proteína (**Figura 3**), cuya actividad es necesaria para permitir la degradación del proteasoma a través de MAP3K14, llevando a la activación constitutiva no-canónica de NF- κ B, considerado como un mecanismo de resistencia a la erradicación de la leucemia⁽³⁶⁾.

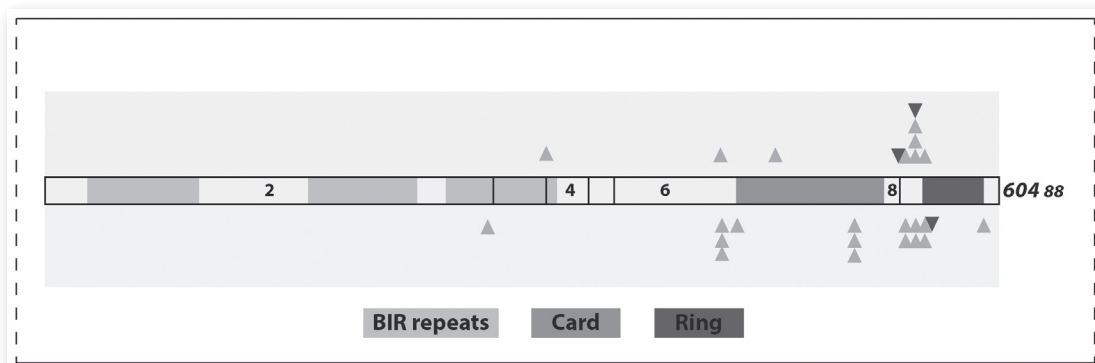


Figura 3. Diagrama del gen *BIRC3* mostrando la ubicación de mutaciones en los exones 7 a 10 que afectan al dominio RING (modificado de Nadeu et al⁽⁵¹⁾).

En cuanto al gen **MYD88**, el mismo se encuentra involucrado en el camino de señalización de IL-1 y de receptores Toll-like (TLR)⁽³⁸⁾; tiene un rol importante en la respuesta inmune innata y en la homeostasis de las células B⁽³⁹⁾. La mutación más frecuente se encuentra en el exón 5 y determina el cambio del aminoácido leucina por prolina en la posición 265 de la proteína (L265P)⁽⁴⁰⁾, llevando al aumento de la actividad de NF-κB y del camino de señalización JAK (*Janus kinase*)-STAT3 (*signal transducer and activator of transcription 3*), con la producción consecuente de citoquinas y el incremento de la supervivencia celular⁽⁴¹⁾. La alta producción de estas citoquinas ha sido relacionada con el secuestro de macrófagos y linfocitos T por las células de LLC, creando un nicho favorable para su supervivencia⁽⁴²⁾. Las mutaciones de **MYD88** se asociaron a pacientes más jóvenes y con **IGHV-M**^(19,43). Esta misma mutación ha sido

detectada en diferentes linfomas, indicando su relevancia en la patogénesis de neoplasias linfoides⁽⁴¹⁾.

En pacientes europeos la frecuencia de estas mutaciones es baja al diagnóstico (5-10% de los casos)^(44,45) y aumenta progresivamente con la evolución de la enfermedad, ampliando el espectro de los eventos genéticos asociados a la evolución clonal, llegando al 15-20% de los casos al momento de la recaída y a alrededor del 30% en la transformación a síndrome de Richter (**Tabla 1**). Un estudio reciente en pacientes chinos muestra menor frecuencia (2-8%), así como diferencias en el impacto pronóstico de las mismas⁽²⁹⁾. Estos hallazgos sustentan la importancia de efectuar su análisis en diferentes poblaciones, tendiente a delinear más específicamente el mecanismo de evolución clonal y refinar la estratificación pronóstica de los pacientes con esta patología.

Tabla 1. Frecuencia de mutaciones en diferentes momentos de la enfermedad

LLC	<i>NOTCH1</i> (%)	<i>SF3B1</i> (%)	<i>BIRC3</i> (%)	<i>MYD88</i> (%)
Diagnóstico	5-10	5-10	5	3-5
Progresión	13-20	15	25	-
Rec/refractaria	13-20	20	25	-

Rec.: recaída

Por otra parte, resulta importante destacar que aproximadamente el 70% de los casos resistentes al tratamiento con fludarabina presentan una o más alteraciones en *NOTCH1*, *SF3B1* y *BIRC3*, sustentando el rol de los mismos en la patogénesis de estos pacientes⁽⁴⁶⁾. En concordancia con su participación en la progresión de la enfermedad y resistencia a la terapia, estas mutaciones son observadas a menudo formando parte de subclones al momento del diagnóstico, los que pueden aumentar en proporción luego del tratamiento, resaltando la importancia pronóstica de los estudios de secuenciación masiva capaces de detectar dichos subclones en estadios iniciales de la enfermedad^(8,47).

Asimismo, la asociación entre los rearrreglos genómicos y estas mutaciones permitió establecer un nuevo esquema de clasificación, en el que las alteraciones de *TP53* y *BIRC3* constituyen el peor pronóstico y la del13q14 como única anomalía el curso clínico más favorable (**Tabla 2**)^(44,45). Este esquema integrado ha mantenido su valor pronóstico independiente durante la progresión de la enfermedad,

refinando de esta manera la clasificación de riesgo previamente establecida^(3,4), y ayudando a identificar con certeza un subgrupo de pacientes con enfermedad muy indolente⁽⁴⁴⁾.

Tabla 2. Clasificación integrando los rearrreglos genómicos y las nuevas mutaciones.

Grupo	Riesgo	% SV a 10 años
Disrupción <i>TP53</i> Disrupción <i>BIRC3</i>	Muy alto	37,7
Mut <i>NOTCH1</i> Mut <i>SF3B1</i> Del11q22	Intermedio	48,5
Cariotipo normal Trisomía 12	Bajo	70,7
Del13q14	Muy bajo	84,2

SV: supervivencia; Mut: mutación; Del: delección (modificado de Rossi et al⁽⁴⁵⁾)

En cuanto a su asociación con las características clínicas de los pacientes, se ha observado una estrecha relación entre las mutaciones de *NOTCH1*, *SF3B1*

y *BIRC3* con IGHV-NM, estadios clínicos avanzados y trisomía 12, en tanto que *MYD88* se relaciona con IGHV-M y del13q14 como única anomalía^(11,48) (Tabla 3).

Tabla 3. Factores pronóstico asociados a las nuevas mutaciones

Gen	Estadio clínico	Alteración por FISH	Curso clínico	Estatus mut	IGHV	Subset BCRC (%)
<i>NOTCH1</i>	avanzado	+12	adverso	NM	1-69	#1 (27);#59 (33); #99 (22); #6 (22)
					4-39	#8 (30)
					3-21	#2 (45)
<i>SF3B1</i>	avanzado	+12 y del13q14	adverso	NM	1-69	#3 (46); #7 (25) #6 (13); #5 (8)
					4-34	#4 (45)
<i>BIRC3</i>	avanzado	del11q22 y +12	adverso	NM	1-69	#5 (5); #7 (8)
<i>MYD88</i>	inicial	del13q14	favorable	M	3-23	-

IGHV: inmunoglobulin heavy chain variable region; *M*: mutado; *NM*: no mutado;

Mut: mutacional; *BCRC*: receptor de células B estereotipado.

En lo que respecta a la asociación con el uso de genes *IGHV* y receptores estereotipados, la literatura muestra una importante asociación de *NOTCH1* con el clan 1 e *IGHV1-69*, particularmente con los subsets #1, #6, #59 y #99 (22%-33% de los casos) así como con el subset #8 del gen *IGHV4-39*, todos asociados a pronóstico desfavorable, y de *SF3B1* con el subset #2 de *IGHV3-21* (45%), los subsets #3 y #7 de *IGHV1-69* (25%-46%) y el subset #4 de *IGHV4-34* (45%)⁽⁴⁹⁾. En la Tabla 3 se detalla la distribución de cada uno de ellos. Simultáneamente, Baliakas et al⁽⁵⁰⁾ detectaron una tendencia de *MYD88* al uso de *IGHV3-23* no estereotipado.

Sin duda, un conocimiento más profundo de estas mutaciones y su análisis en diferentes cohortes de pacientes con LLC contribuirá a una mejor delineación clínico-biológica de la patología, pudiendo ser asimismo, un aporte a la comprensión de la heterogeneidad clínica presente la misma.

Declaración de conflictos de interés:

Las autoras declaran que no poseen conflictos de interés.

Bibliografía

1. Haferlach C, Dicker F, Schnittger S y col. Comprehensive genetic characterization of CLL: a study of 506 cases analyzed with chromosome banding analysis, interphase FISH, IgV_H status and immunophenotyping. *Leukemia*. 2007; 21: 2442-51.
2. Travella A, Ripollés L, Aventin A y col. Structural alterations in chronic lymphocytic leukemia. Cytogenetic and FISH analysis. *Hematol Oncol*. 2013; 31: 339-47.
3. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A y col. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2000; 343: 1910-6.
4. Van Dyke DL, Werner L, Rassenti LZ y col. The Döhner fluorescence in situ hybridization prognostic classification of chronic lymphocytic leukaemia (CLL): the CLL Research Consortium experience. *Br J Haematol*. 2016; 173: 105-13.
5. Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A y col. Unmutated Ig VH genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukaemia. *Blood*. 1999; 94: 1848-54.
6. Damle RN, Wasil T, Fais F y col. Ig V gene

- mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999; 94: 1840-7.
7. Puente XS, Beà S, Valdés-Mas R y col. Non-coding recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature*. 2015; 526: 519-24.
 8. Landau DA, Tausch E, Taylor-Weiner AN y col. Mutations driving CLL and their evolution in progression and relapse. *Nature*. 2015; 526: 525-30.
 9. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE y col. Cancer genome landscapes. *Science*. 2013; 339: 1546-58.
 10. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC y col. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature*. 2013; 500: 415-21.
 11. Baliakas P, Hadzidimitriou A, Sutton LA y col. Recurrent mutations refine prognosis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2015; 29: 329-36.
 12. Guièze R, Robbe P, Clifford R y col. Presence of multiple recurrent mutations confers poor trial outcome of relapsed/refractory CLL. *Blood*. 2015; 126: 2110-7.
 13. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA y col. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016; 127: 2375-90.
 14. Rossi D, Rasi S, Fabbri G y col. Mutations of NOTCH1 are an independent predictor of survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2012; 119: 521-9.
 15. Gianfelici V. Activation of the NOTCH1 pathway in chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica*. 2012; 97: 328-30.
 16. Sportoletti P, Baldoni S, Cavalli L y col. NOTCH1 PEST domain mutation is an adverse prognostic factor in B-CLL. *Br J Haematol*. 2010; 151: 404-6.
 17. Fabbri G, Rasi S, Rossi D y col. Analysis of the chronic lymphocytic leukemia coding genome: role of NOTCH1 mutational activation. *J Exp Med*. 2011; 208: 1389-401.
 18. Puente XS, Pinyol M, Quesada V y col. Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature*. 2011; 475: 101-5.
 19. López C, Delgado J, Costa D y col. Different distribution of NOTCH1 mutations in chronic lymphocytic leukemia with isolated trisomy 12 or associated with other chromosomal alterations. *Genes Chrom Cancer*. 2012; 51: 881-9.
 20. Stilgenbauer S, Schnaiter A, Paschka P y col. Gene mutations and treatment outcome in chronic lymphocytic leukemia: results from the CLL8 trial. *Blood*. 2014; 123: 3247-54.
 21. Bo MD, Del Principe MI, Pozzo F y col. NOTCH1 mutations identify a chronic lymphocytic leukemia patient subset with worse prognosis in the setting of a rituximab-based induction and consolidation treatment. *Ann Hematol*. 2014; 93: 1765-74.
 22. Bittolo T, Pozzo F, Bomben R y col. Mutations in the 3' untranslated region of NOTCH1 are associated with low CD20 expression levels in chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica*. 2017; 102: e305-9.
 23. Whal MC, Will CL, Lührmann R. The spliceosome: design principles of a dynamic RNP machine. *Cell*. 2009; 136: 701-18.
 24. Shin C, Manley JL. Cell signalling and the control of pre-mRNA splicing. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2004; 5: 727-38.
 25. Quesada V, Conde L, Villamor N y col. Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia. *Nat Genet*. 2011; 44: 47-52.
 26. Wang L, Lawrence MS, Wan Y y col. SF3B1 and other novel cancer genes in chronic lymphocytic leukemia. *N Eng J Med*. 2011; 365: 2497-506.
 27. Rossi D, Brusca A, Spina V y col. Mutations of the SF3B1 splicing factor in chronic lymphocytic leukemia: association with progression and fludarabine-refractoriness. *Blood*. 2011; 118: 6904-8.
 28. Te Raa GD, Derks IA, Navrkalova V y col. The impact of SF3B1 mutations in CLL on the DNA-damage response. *Leukemia*. 2015; 29: 1133-42.
 29. Xia Y, Fan L, Wang L y col. Frequencies of SF3B1, NOTCH1, MYD88, BIRC3 and IGHV mutations and TP53 disruptions in Chinese with

- chronic lymphocytic leukemia: disparities with Europeans. *Oncotarget*. 2015; 6: 5426-34.
30. Dreger P, Schnaiter A, Zenz T y col. TP53, SF3B1, and NOTCH1 mutations and outcome of allotransplantation for chronic lymphocytic leukemia: six-year follow-up of the GCLLSG CLL3x trial. *Blood*. 2013; 121: 3284-8.
 31. Oscier DG, Rose-Zerilli MJ, Winkelmann N y col. The clinical significance of NOTCH1 and SF3B1 mutations in the UK LRF CLL4 trial. *Blood*. 2013; 121: 468-75.
 32. Putowski M, Podgorniak M, Pirog M y col. Prognostic impact of *NOTCH1*, *MYD88*, and *SF3B1* mutations in Polish patients with chronic lymphocytic leukemia. *Polish Arch Int Med*. 2017; 127: 238-44.
 33. Zhang Z, Chen S, Chen S y col. SF3B1 mutation is a prognostic factor in chronic lymphocytic leukemia: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2017; doi: 10.18632/oncotarget.19455
 34. Zarnegar BJ, Wang Y, Mahoney DJ y col. Non canonical NF-kappa B activation requires coordinated assembly of a regulatory complex of the adaptors cIAP1, cIAP2, TRAF2 and TRAF3 and the kinase NIK. *Nat Immunol*. 2008; 9: 1371-8.
 35. Lau R, Niu MY, Pratt MA. cIAP2 represses IKK α/β -mediated activation of MDM2 to prevent p53 degradation. *Cell Cycle*. 2012; 11: 4009-19.
 36. Rossi D, Fangazio M, Rasi S y col. Disruption of BIRC3 associates with fludarabine chemorefractoriness in TP53 wild-type chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2012; 119: 2854-62.
 37. Rose-Zerilli MJ, Forster J, Parker H y col. ATM mutation rather than BIRC3 deletion and/or mutation predicts reduced survival in 11qdeleted chronic lymphocytic leukemia: data from the UK LRF CLL4 trial. *Haematologica*. 2014; 99: 736-42.
 38. Jeelall YS, Horikawa K. Oncogene MYD88 mutations drives Toll pathways to lymphoma. *Immunol Cell Biol*. 2011; 89: 659-60.
 39. Rawlings DJ, Schwartz MA, Jackson SW, Meyer-Bahlburg A. Integration of B cell responses through Toll-like receptors and antigen receptors. *Nat Rev Immunol*. 2012; 12: 282-94.
 40. Treon S, Xu L, Yang G y col. MYD88 L265P somatic mutation in Waldenström's Macroglobulinemia. *NEJM*. 2012; 367: 826-32.
 41. Ngo VN, Young RM, Schmitz R y col. Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma. *Nature*. 2011; 470: 115-9.
 42. Burger JA, Quiroga MP, Hartmann E y col. High-level expression of the T-cell chemokines CCL3 and CCL4 by chronic lymphocytic leukemia B cells in nurse like cell co-cultures and after BCR stimulation. *Blood*. 2009; 113: 3050-8.
 43. Martínez-Trillos A, Pinyol M, Navarro A y col. Mutations in TLR/MYD88 pathway identify a subset of young chronic lymphocytic leukemia patients with favorable outcome. *Blood*. 2014; 123: 3790-6.
 44. Rossi D, Rasi S, Spina V y col. Integrated mutational and cytogenetic analysis identifies new prognostic subgroups in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2013; 121: 1403-12.
 45. Foà R, Guarini A. A mechanism-driven treatment for chronic lymphocytic leukemia? *N Engl J Med*. 2013; 369: 85-7.
 46. Messina M, Del Giudice I, Khiabani H y col. Genetic lesions associated with chronic lymphocytic leukemia chemo-refractoriness. *Blood*. 2014; 123: 2378-88.
 47. Landau D A, Carter SL, Stojanov P y col. Evolution and impact of subclonal mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Cell*. 2013; 152: 714-26.
 48. Jeromin S, Weissmann S, Haferlach C y col. SF3B1 mutations correlated to cytogenetics and mutations in NOTCH1, FBXW7, MYD88, XPO1 and TP53 in 1160 untreated CLL patients. *Leukemia*. 2014; 28: 108-17.
 49. Sutton L-A, Young E, Baliakas P y col. Different spectra of recurrent gene mutations in subsets of chronic lymphocytic leukemia harboring stereotyped B-cell receptors. *Haematologica*. 2016; 101: 959-67.
 50. Baliakas P, Hadzidimitriou A, Agathangelidis A y col. Prognostic relevance of MYD88 mutations in CLL: the jury is still out. *Blood*. 2015; 126: 1043-4.
 51. Nadeu F, Delgado J, Royo C y col. Clinical impact of clonal and subclonal TP53, SF3B1, BIRC3, NOTCH1, and ATM mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2016; 127: 2122-30.