

РОЛЬ АБЕРРАЦИЙ ГЕНА МУС/8q24 В ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ МАНТИЙНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЫ

Клеина Е.В.¹, Волошин С.В.^{1,2}, Семенова Н.Ю.¹, Линников С.Ю.¹, Немсцверидзе Н.Н.¹, Бакай М.П.¹, Смирнова А.П.¹, Лазарева Н.М.¹, Карягина Е.В.², Успенская О.С.³, Зюзгин И.С.⁴,
Бессмельцев С.С.¹, Сидоркевич С.В.¹, Мартынкевич И.С.¹

¹*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии» Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация*

²*Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия*

³*Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская больница № 15», Санкт-Петербург, Российская Федерация*

⁴*Государственное бюджетное медицинское учреждение «Ленинградская областная клиническая больница», Санкт-Петербург, Российская Федерация*

⁵*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация*

Резюме

Мантийноклеточная лимфома (МКЛ) - особый тип агрессивных В-клеточных неходжкинских лимфом, составляющий примерно 3–10% от всех лимфом. Ведущую роль в цито- и молекулярно-цитогенетической диагностики МКЛ играет обнаружение высокоспецифической транслокации t(11;14)(q13;q32), приводящей к гиперэкспрессии циклина D1 и нарушению регуляции клеточного цикла. В дополнении к транслокации t(11;14)(q13;q32), являющейся первичным событием лимфоогенеза МКЛ часто выявляются вторичные генетические aberrации, вовлекающие гены МУС/8q24 и TP53/17p13, которые определяют патоморфологические характеристики опухолевого клона, а также прогрессирующее клиническое течение МКЛ. Протоонкогенный белок МУС, кодируемый геном МУС/8q24, - важнейший фактор транскрипции, регулирующий экспрессию 10-15% генов человеческого генома и один из наиболее часто deregулируемых онкогенов при злокачественных новообразованиях. Несмотря на то, что реарранжировка гена МУС/8q24 является диагностической генетической aberrацией у пациентов с лимфомой Беркитта, в

последние годы обнаружено, что изменения *MYC*/8q24 могут также встречаться и при других лимфомах, в том числе, при МКЛ, обуславливая неблагоприятный прогноз с низкой продолжительностью общей выживаемости (ОВ) и безрецидивной выживаемости (БРВ). В нашем исследовании, проведенном у 117 пациентов с МКЛ, мы проанализировали частоту встречаемости и влияние на ОВ и БВ изменений гена *MYC*/8q24. Кроме того, большое внимание уделили рассмотрению группы высокого риска МКЛ, «double-hit» МКЛ, изучение которой в последние годы представляет особый интерес.

Цель

Определить частоту встречаемости и прогностическое влияние на общую и безрецидивную выживаемость aberrаций гена *MYC*/8q24 у 117 пациентов с МКЛ и выделить группу пациентов «double-hit» МКЛ.

Материалы и методы

Представлены результаты стандартного цитогенетического (СЦИ) и FISH-исследований 117 пациентов с диагнозом МКЛ. Кариотипирование выполнялось на метафазных пластинках, окрашенных методом G-banding, полученных из клеток костного мозга или периферической крови. Транслокация t(11;14)(q13;q22), aberrации, вовлекающие гены *TP53*/17p13, *MYC*/8q24 выявлялись FISH-исследованием с использованием локус-специфичных ДНК-зондов.

Результаты

Проведенное исследование на нашей выборке пациентов выявило гетерогенность aberrаций гена *MYC*/8q24 и их ассоциацию со снижением продолжительности ОВ, БРВ, а также неблагоприятное прогностическое влияние на клинические характеристики течения опухолевого процесса.

Выводы

Генетическая диагностика МКЛ с применением FISH-исследования для выявления aberrаций гена *MYC*/8q24 помогает детектировать больных МКЛ группы высокого риска, «double-hit» МКЛ, характеризующуюся изменениями гена *MYC*/8q24, транслокацией t(11;14)(q13;q32) и множественными хромосомными нарушениями.

Ключевые слова: Мантийноклеточная лимфома, «double-hit» мантийноклеточная лимфома, генетические aberrации, общая выживаемость, безрецидивная выживаемость

THE ROLE OF *MYC*/8q24 GENE ABERRATIONS IN THE GENETIC DIAGNOSIS OF MANTLE CELL LYMPHOMA

Kleina E.¹, Voloshin S.^{1,2}, Semenova N.¹, Linnikov S.¹, Nemscveridze N.¹, Bakai M.¹, Smirnova A.¹, Lazareva N.¹, Kariagina E.³, Uspenskaia O.⁴, Ziuzgin I.⁵, Bessmeltsev S.¹, Sidorkevich S.¹,
Martynkevich I.¹

¹ *Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Federal Medical and Biological Agency, Russian Federation, Saint-Petersburg*

² *Kirov SM Military Medical Academy, Russian Federation, Saint-Petersburg*

³ *St. Petersburg State budgetary medical institution of health care "City Hospital No.15", Russian Federation, Saint-Petersburg*

⁴ *State budgetary medical institution Leningrad Regional Clinical Hospital, Russian Federation, Saint-Petersburg*

⁵ *"The N.N. Petrov National Medicine Research Institute of oncology" Ministry of Health of Russia, Russian Federation, Saint-Petersburg*

Abstract

Mantle cell lymphoma (MCL) is a special type of aggressive B-cell non-Hodgkin's lymphomas, accounting for approximately 3–10% of all lymphomas. The detection of a highly specific translocation t(11;14)(q13;q32), which leads to overexpression of the cyclin D1 and dysregulation of the cell cycle, plays a leading role in the cyto- and molecular-cytogenic diagnosis of MCL. In addition to the translocation t(11;14)(q13;q32), which is the primary event of MCL lymphomogenesis, secondary genetic aberrations involving the *MYC*/8q24 and *TP53*/17p13 genes are often detected, which determine the pathomorphological characteristics of the tumor clone, as well as the progressive clinical course of MCL. The proto-oncogenic protein MYC, encoded by the *MYC*/8q24 gene, is the most important transcription factor that regulates the expression of 10-15% of the genes in the human genome and one of the most frequently deregulated oncogenes in malignant neoplasms. Despite the fact that *MYC*/8q24 gene rearrangement is a diagnostic genetic aberration in patients with Burkitt's lymphoma, in recent years it has been found that *MYC*/8q24 changes can also occur in other lymphomas, including MCL, causing an unfavorable prognosis with low overall survival (OS) and disease-free survival (DFS). In our study, conducted in 117 patients with MCL, we analyzed the frequency of occurrence and the impact on OS and DFS of changes in the *MYC*/8q24 gene. In addition, much attention was paid to the consideration of the high-risk MCL group, "double-hit" MCL, the study of which has been of particular interest in recent years.

Aim. To determine the causes and prognostic impact on overall and disease-free survival of *MYC*/8q24 gene aberrations in 117 patients with MCL and identify a group of patients with a “double-hit” MCL.

Materials and methods. The results of standard cytogenetic and FISH studies of 117 patients diagnosed with MCL are presented. Karyotyping was performed on G-banded metaphase plates obtained from bone marrow or peripheral blood cells. Translocation t(11;14)(q13;q22), aberrations involving *TP53*/17p13, *MYC*/8q24 genes were detected by FISH study using locus-specific DNA probes.

Results. The conducted study on our sample of patients revealed the heterogeneity of *MYC*/8q24 gene aberrations and their association with a decrease in the duration of OS, DFS, as well as an unfavorable prognostic effect on the clinical characteristics of the course of the tumor process.

Conclusion. Genetic diagnosis of MCL using FISH study to detect aberrations of the *MYC*/8q24 gene helps to detect high-risk MCL patients, “double-hit” MCL characterized by changes in the *MYC*/8q24 gene, translocation t(11;14)(q13;q32) and multiple chromosomal abnormalities.

Keywords: Mantle cell lymphoma, “double-hit” mantle cell lymphoma, genetic aberrations, overall survival, disease-free survival

ВВЕДЕНИЕ

Мантйноклеточная лимфома — неходжкинская лимфома, отличающаяся вариабельностью морфологических, цитогенетических характеристик, клинических проявлений и гетерогенным течением заболевания, от редко встречающихся индолентных вариантов, длительное время не требующих лечения и при которых возможно применение тактики “watch and wait”, до быстро прогрессирующих типов опухоли с безотлагательным применением специфической терапии [1,2].

Различия в тяжести клинического течения объясняются наличием вторичных цитогенетических aberrаций, которые выявляются в дополнение к перестройке локуса гена *CCND1*/11q13 и вовлекают гены, изменения в которых способствуют прогрессии МКЛ [2,3]. Несмотря на то, что транслокация t(11;14)(q13;q32) считается важнейшим событием в патогенезе МКЛ, исследования на трансгенных мышах обнаружили, что только наличия данной транслокации и нарушения регуляции циклина D1 недостаточно для инициации лимфомагенеза МКЛ. Результаты стандартного цитогенетического исследования (СЦИ) показали, что изолированная транслокация t(11;14)(q13;q32) редко обнаруживается у больных с МКЛ, гораздо чаще у пациентов определяются кариотипы с множественными хромосомными aberrациями. Проведение флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) у таких

пациентов помогает выявить дополнительные прогностически неблагоприятные молекулярно-генетические aberrации, в особенности изменения гена *MYC/8q24* [2-7].

Также выявлено, что цитогенетический профиль опухолевого клона соотносится с клинической и морфологической картиной заболевания. В то время как при индолентных МКЛ выявляется стабильность генома, в кариотипе пациентов с бластоидным и плеоморфным вариантами МКЛ часто определяются комплексные изменения кариотипа. Исследования пациентов методом сравнительной геномной гибридизации (CGH) выявило частые вторичные амплификации и делеции генов, необходимых для поддержания стабильности генома клетки, пролиферации и апоптоза, таких как *TP53*, *ATM*, *BCL2*, *BMI1*, *CDK4* и *MYC*, роль которого является ведущей при онкогенной трансформации В-клеток с транслокацией $t(11;14)(q13;q32)$ в лимфомагенезе МКЛ [2].

Перестройка протоонкогена *MYC*, локализованного на длинном плече хромосомы 8 в регионе 8q24, приводит к нарушению регуляции белка *MYC* и является важным фактором, инициирующим онкогенную трансформацию как в дебюте заболевания, так и при прогрессии или рецидиве опухоли. Показано, что белок *MYC* оказывает ключевое влияние на рост клеток за счет активации генов, ускоряющих клеточный метаболизм, митохондриальный биогенез, биосинтез нуклеиновых кислот, рибосом и белков. Кроме того, он регулирует переход клетки из G0/G1 в S фазу клеточного цикла за счет усиления пролиферации генов, кодирующих циклин D1 и ингибирующих циклинзависимую киназу. Также выявлена ведущая роль белка *MYC* в дифференцировке клеток и процессах апоптоза [8,9].

Онкогенный потенциал *MYC/8q24* в лимфомагенезе был впервые продемонстрирован в 1985г. Adams и соавторами, который показал, что связывание *MYC/8q24* с энхансером иммуноглобулина μ или κ у трансгенных мышей приводило к развитию незрелых и зрелых В-клеточных новообразований [10]. Однако в отличие от других протоонкогенов *MYC* не активируется за счет онкогенных мутаций в кодирующей последовательности. Трансформация клетки происходит в результате нерегулируемой гиперэкспрессии интактного белка *MYC* [9]. Идентифицировано несколько механизмов дерегуляции гена *MYC/8q24* в опухолевых клетках: в результате транслокации хромосом, амплификации гена и вирусного инсерционного мутагенеза [8,9]. Инсерционный мутагенез выявляется в ретровирус-индуцированных опухолях, таких как гематопоэтических, вызванных вирусом птичьего лейкоза, при которых происходит интеграция провирусного энхансера, приводящая к повышенной экспрессии *MYC/8q24*. Нарушение регуляции *MYC/8q24* происходит также за счет увеличения копийности гена *MYC/8q24* как при гемопоэтических, так и солидных опухолях, включая легкие, молочные железы и толстую кишку [9]. В случае транслокации

MYC/8q24 встраивается в район генов тяжелых (*IGH*) (14q32) или легких (*IGκ*, *IGλ*) (2p11 и 22q11) цепей иммуноглобулинов, оказываясь под активирующим влиянием IgH или IgL-энхансеров, что приводит к его aberrантной экспрессии [5,8,9,11]. Следует отметить, что при лимфопролиферативных заболеваниях (ЛПЗ) генетические aberrации *MYC/8q24* определяются при В-клеточных ЛПЗ и включают прежде всего реаранжировки и амплификации [9].

Показано, что реаранжировка *MYC/8q24* комбинации с транслокацией гена *CCND1/11q13* оказывают синергетическое действие в онкогенетической трансформации МКЛ, способствуя быстрому прогрессированию заболевания и активации механизмов, препятствующих апоптозу [5,6,9,12]. Высокая пролиферативная активность опухолевых клеток является предрасполагающим фактором к возникновению дополнительных генетических нарушений, в особенности aberrаций гена *TP53*, что также вносит свой вклад в патогенез МКЛ за счет нарушения репарации поврежденной ДНК [6]. В основе поддержания жизнеспособности и пролиферации патологического клона при МКЛ лежит передача сигнала через В-клеточный рецептор (BCR). Активация BCR, в свою очередь, способствует активности антиапоптозного пути ядерного фактора NFκB через комплекс CBM (*CARD11–BCL10–MALT1*) и, в частности, *MALT1*, конститутивная активация которого индуцирует экспрессию *MYC* [9]. Исследования также показали, что *MYC/8q24* играет важную роль в резистентности к ибрутинибу при МКЛ, предположительно за счет подавления двух микроРНК-супрессоров опухолей, *miR15a* и *miR16-1*, участвующих в патогенезе МКЛ [13,14]. Выявление aberrаций *MYC/8q24* у пациентов с В-клеточными лимфопролиферативными новообразованиями имеет независимое неблагоприятное прогностическое влияние при постановке диагноза или прогрессировании заболевания [11].

В настоящее время среди пациентов с МКЛ выделяют наиболее прогностически неблагоприятную подгруппу МКЛ, «double-hit» МКЛ, с перестройками, вовлекающими локусы генов *CCND1/11q13* и *MYC/8q24*. В большинстве случаев у таких больных выявляется высокая группа риска по шкале Международного прогностического индекса (МПИ), III/IV стадии заболевания по классификации Ann-Arbor, повышенный уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в сыворотке крови, В-симптомы, частое вовлечение в патологический процесс костного мозга, центральной нервной системы, большая смертность в течение первых двух лет после постановки диагноза, несмотря на проведение агрессивной химиотерапии и трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток. При гистологическом и иммуногистохимическом исследовании у больных обнаруживается бластоидный морфологический вариант МКЛ, высокие экспрессия P53 и индекс пролиферативной активности опухолевых клеток Ki-67.

Важно отметить, что у пациентов с увеличением копийности гена *MYC*/8q24 определяются клиничко-патологические особенности сходные со случаями МКЛ с реарранжировкой *MYC*/8q24, что позволяет их также отнести к группе высокого риска «double-hit» МКЛ [9,12].

Цель. Определить частоту встречаемости и прогностическое влияние на общую и безрецидивную выживаемость aberrаций гена *MYC*/8q24 у 117 пациентов с МКЛ и выделить группу пациентов «double-hit» МКЛ.

Материалы и методы. В исследование включены 117 пациентов с гистологически подтвержденным диагнозом МКЛ. Из 117 больных 79 (67,5%) – мужчины, 38/117 (32,5%) – женщины (соотношение по полу 2:1). Медиана возраста составила 60 лет (диапазон от 26 до 83 лет), медиана срока наблюдения после постановки диагноза – 30 месяцев. На момент выполнения СЦИ и FISH – исследования у 87 из 117 (74,4%) больных выявлялся дебют МКЛ, у 10/117 (8,5%) – рецидив, 8/117 (6,8%) – прогрессия, 12/117 (10,3%) – ремиссия заболевания.

К окончанию исследования число выживших больных составило – 77/117 (65,8%), умерли 40 из 117 (34,2%). В соответствии со стадирующей системой (Ann-Arbor, 1972 в модификации Cotswold, 1989) распределение по стадиям заболевания было следующим: I стадия – 1/117 (0,9%), II стадия – 2/117 (1,7%), III стадия – 6/117 (5,1%), IV стадия – 108/117 (92,3%). Соматический статус по шкале ECOG у 25 из 117 больных соответствовал 0 баллам (21,4%), 67/117 (57,3%) – 1 баллу, 19/117 (16,2%) – 2 баллам и 6/117 (5,1%) – 3 баллам. По прогностической шкале МРPI пациенты подразделялись на группы риска: низкий риск – 17/117 (14,5%), промежуточный риск – 33/117 (28,2%), высокий риск – 67/117 (57,3%).

Из 117 больных кариотип удалось проанализировать у 80/117 (68,4%) больных. Нормальный кариотип выявлялся у 44/80 (55,0%) пациентов, 1-2 хромосомные aberrации в кариотипе определялись в 18,75% (15/80) случаев, у 21/80 (26,25%) пациентов детектировался комплексный кариотип (3 и более хромосомных aberrации).

Для выявления транслокации t(11;14)(q13;q32), а также изменений локусов генов *MYC*/8q24, TP53/17p13 117 пациентам проведено FISH-исследование с локус-специфическими ДНК-пробами. Полученные препараты анализировались на микроскопе Carl Zeiss Axio Imager 2 с системой видеоанализа ISIS (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия и MetaSystems Hard & Software GmbH, Германия). При кариотипировании оценивались 20 метафазных пластинок, при FISH – анализе – не менее 200 интерфазных ядер с каждой ДНК-пробой. Результаты исследований описывали согласно Международной цитогеномной номенклатуре ISCN, 2020 [15]. У больных оценивались клиничко-гематологические показатели и медианы общей и безрецидивной выживаемости в зависимости от выявленных генетических aberrаций.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью программы StatTech v. 3.0.6 (разработчик - ООО "Статтех", Россия). Оценка функции выживаемости пациентов проводилась по методу Каплана-Мейера. В качестве точки отсчета для вычисления общей выживаемости (ОВ) выбирали дату постановки диагноза МКЛ. Безрецидивная выживаемость (БРВ) рассчитывалась от момента наступления ремиссии заболевания до момента регистрации рецидива. Для анализа выживаемости больных использовался метод регрессии Кокса. Для статистического изучения связи между явлениями использовался непараметрический метод корреляции Спирмена, при котором определялась фактическая степень параллелизма между двумя количественными рядами изучаемых признаков и давалась оценка тесноты установленной связи с помощью количественно выраженного коэффициента. Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью U-критерия Манна-Уитни.

Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. Аберрации с вовлечением локуса гена *MYC/8q24* определялись у 29 из 117 (24,8%) больных. Исследование методом FISH обнаружило генетическую гетерогенность изменений *MYC/8q24*: перестройка *MYC/8q24* выявлена у 2/29 (7,0%) пациентов, амплификация *MYC/8q24* с 1-14 дополнительными копиями гена *MYC/8q24* определялась у 23/29 (79,3%) больных, амплификация *MYC/8q24* с делецией теломерного участка *MYC/8q24* – в 10,3% (3/29) случаев; амплификация *MYC/8q24* с делецией центромерного участка *MYC/8q24* – у 1/29 (3,4%) пациента.

Из 29 пациентов с изменениями *MYC/8q24* оценить кариотип удалось у 19 (65,5%) больных. Патологический кариотип детектировался в 47,4% (9/19) случаев, из которых 8/9 (88,9%) – пациенты с комплексными изменениями кариотипа (КК), у 1/9 (11,1%) пациентов при оценке кариотипа обнаруживалась изолированная транслокация $t(11;14)(q13;q32)$. У 11/29 (37,9%) больных методом FISH определялись изменения хромосомы 17, делеция локуса гена *TP53/17p13*, моносомия хромосомы 17. Статистический анализ выявил достоверное неблагоприятное влияние аберраций гена *MYC/8q24* на продолжительность ОВ пациентов с МКЛ (43 месяца против 108, $p = 0,013$) (рисунок 1).

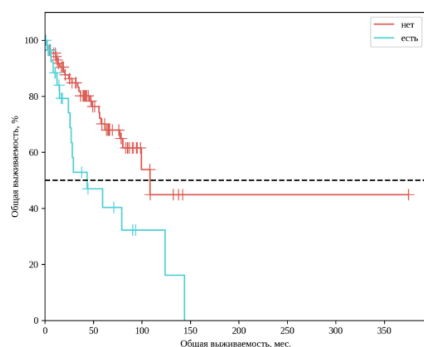


Рисунок 1. Кривая ОВ у больных с МКЛ в зависимости от выявления aberrаций гена *MYC*/8q24

Самая короткая медиана ОВ наблюдалась у пациентов с амплификацией гена *MYC*/8q24 в сочетании с делецией центромерного участка *MYC*/8q24, которая составила 15 месяцев ($p=0,028$). Медианы ОВ в других группах в зависимости от выявленных изменений *MYC*/8q24: без aberrаций *MYC* /8q24 – 108 месяцев, перестройка с вовлечением *MYC*/8q24 – 27 месяцев ($p=0,074$), увеличение копийности *MYC*/8q24 – 43 месяца ($p=0,098$), амплификация *MYC*/8q24 с делецией теломерного участка *MYC*/8q24 – 59 месяцев. Различия ОВ, обнаруженные у пациентов в зависимости от вида aberrации *MYC*/8q24 были статистически значимы ($p = 0,001$) (рисунок 2).

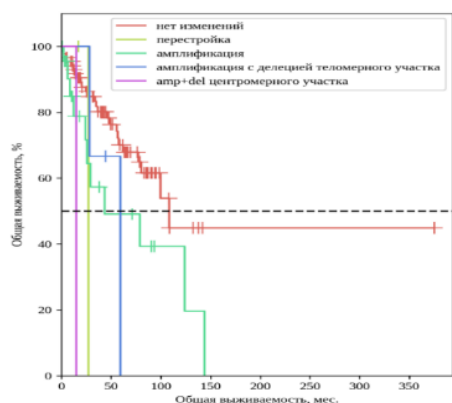


Рисунок 2. Кривая ОВ больных с МКЛ в зависимости от вида aberrации *MYC*/8q24

Статистический анализ БРВ выявил тренд к снижению медианы БРВ только для реарранжировки *MYC*/8q24 ($p=0,071$) и амплификации *MYC*/8q24 с делецией центромерного участка ($p=0,093$). Многопараметрический регрессионный анализ обнаружил негативное влияние на ОВ пациентов с МКЛ независимо от других параметров изменений гена *MYC*/8q24 ($b \pm SD = -0,21 \pm 0,08$, $p=0,05$). Кроме того, обнаружена наибольшая тенденция к негативному влиянию изменений гена *MYC*/8q24 при оценке БРВ ($b \pm SD = -0,20 \pm 0,11$, $p=0,30$). У большинства пациентов с нарушениями *MYC*/8q24 (95,8%) выявлялась IV стадия заболевания по Ann-Arbor, III стадия определялась у 4,2% больных. Распределение на группы риска по прогностической шкале МРП было следующим: группа низкого риска - 4,35% пациентов,

промежуточного риска – 21,74% и высокого риска – 73,97%. По шкале ECOG соматический статус 1 балл определялся у 55,2% больных, 2 балла – 37,9%, 3 балла – 6,9%. У 95,8% обнаруживалось вовлечение костного мозга. Гепатомегалия и спленомегалия выявлялись в 95,5% и 78,3% соответственно. Повышенный уровень ЛДГ детектировался у 82,4% пациентов (3,9–20,5 мккат/л). Лейкоцитоз в периферической крови обнаруживался у 84,0% больных (11,08–550,3 $\times 10^9$ /л), анемия – в 77,3% случаях (гемоглобин: мужчины – 43 - 127 г/л, женщины – 92 - 117 г/л), тромбоцитопения – у 72,7% пациентов (42–175 $\times 10^9$ /л). Бластемия выявлялась у 28,6% больных (2,0–68,0%), повышенное содержание лимфобластов в костном мозге – в 66,7% случаев (0,6–55,0%). В-симптомы определялись у 65,2% пациентов. Исследование трепанобиоптата выявило очаговый (21,05%), очагово-интерстициальный и интерстициальный (21,05%), диффузный (36,84%), нодулярно-диффузный (15,8%) и нодулярно-интерстициальный (5,26%) типы поражения костного мозга. При биопсии опухолевой ткани определялись классический (41,67%), мелкоклеточный (41,67%) и полиморфноклеточный (16,6%) морфологические варианты опухоли.

Статистический анализ клинико-гематологических параметров в зависимости от FISH-статуса гена *MYC*/8q24 показал, что у пациентов с абберациями *MYC*/8q24 по сравнению с группой больных без нарушений *MYC*/8q24 достоверно чаще выявлялись гепатомегалия (78,3% vs 41,35%, $p=0,002$), спленомегалия (95,5% vs 72,3%, $p=0,023$), вовлечение костного мозга (95,8% vs 75%, $p=0,027$), тромбоцитопения (72,7% vs 34,8%, $p=0,002$), анемия (77,3% vs 39,4%, $p=0,002$). Кроме того, у пациентов с изменениями *MYC*/8q24 был значимо выше уровень лейкоцитов (Me 24 $\times 10^9$ /л по сравнению с 8 $\times 10^9$ /л, $p<0,001$). Также обнаружено, что у больных с изменениями *MYC*/8q24 достоверно чаще определялся соматический статус, соответствующий 2 и 3 баллам по шкале ECOG (37,9% vs 9,1% и 6,9% vs 4,5%, $p<0,001$) в то время как у большинства пациентов без аббераций *MYC*/8q24 обнаруживался ECOG 0-1 балл (28,4% vs 0% и 58,0% vs 55,2%, $p<0,001$).

Отдельное внимание исследованию мы уделили изучению группы пациентов «double-hit» МКЛ (22/117 (18,8%)), у которых выявлялось сочетание изменений *MYC*/8q24 с наличием транслокации t(11;14)(q13;q32). У пациентов с «double-hit» МКЛ кариотип удалось проанализировать у 16 из 22 больных (72,7%). В 18,2% (4/22) случаев СЦИ не проводилось, у 2 из 22 (9,1%) пациентов отсутствовала митотическая активность клеток. Нарушения кариотипа выявлялись у 9/16 (56,3%) больных, при этом у 8/9 (88,9%) обнаруживались комплексные числовые и структурные изменения кариотипа (от 4 до 23–25 аббераций). Проведенное FISH-исследование с ДНК-пробой к локусу гена *MYC*/8q24 у 20/22 (90,9%) пациентов обнаружило увеличение копийности гена *MYC*/8q24 (1–14 дополнительных копий

MYC/8q24), а также в 4,5% (1/22) случаев амплификацию MYC/8q24 с делецией теломерного участка MYC/8q24 и у 1/22 (4,5%) больных - амплификацию MYC/8q24 с делецией центромерного участка MYC/8q24.

Анализ интерфазных ядер выявил нарушения гена TP53/17p13 у 10 из 22 (45,5%) пациентов с «double-hit» МКЛ, у 7/10 (70,0%) - делецию TP53/17p13, у 3/10 (30,0%) – моносомию хромосомы 17. Результаты СЦИ и FISH-исследования пациентов с ДНК-пробами к генам MYC/8q24 и TP53/17p13 у пациентов с «double-hit» МКЛ представлены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты СЦИ и FISH-исследования с ДНК-пробами к генам MYC/8q24 и TP53/17p13 у пациентов с «double-hit» МКЛ

ФИО	Пол	Возраст	Исследуемый материал	Кариотип	Результат FISH – исследование с ДНК-пробой к гену MYC/8q24	Результат FISH – исследование с ДНК-пробой к гену TP53/17p13
Н.М. А.	муж	57	периферическая кровь	46,XY,t(11;14)(q13;q22),i(17)(q10),add(22)(p13)[23]/46,XY,idem,10,+mar[7]	del TP53 - 96,0%	amp MYC (3F) - 26,5%
К.В.А.	муж	57	периферическая кровь	46,XY[20]	del TP53 – 0%	amp MYC (3F) – 90,0%
Х.Р.К.	жен	79	периферическая кровь	46,XX,t(11;14)(q13;q32)[2]/46,XX[18]	del TP53 – 0%	amp MYC (3F) – 90,0%
М.В. М.	муж	50	периферическая кровь	46,XY[20]	del TP53 – 0%	amp MYC (3F) – 13,0%

Е.Е.Б.	жен	56	периферическая кровь	46,XX[20]	del <i>TP53</i> – 13,5%	amp <i>MYC</i> (3F) - 77,0%
К.О.Н.	жен	45	периферическая кровь	43-44,XX,t(1;5)(p12p33;q35),t(9;13)(p24;q12q21)+der(9),t(11;14)(q13;q32),-15,-17,add(19)(p13),-20,-22 с вариациями[12]/46,XX[8]	-17 - 61,0%	amp <i>MYC</i> (3F) - 60,0%
У.А.В.	муж	73	периферическая кровь	46,XY[20]	del <i>TP53</i> – 0%	amp <i>MYC</i> (3F) – 34,0%
С.Н.А.	муж	74	костный мозг	46,XY[20]	del <i>TP53</i> – 36,5%	amp <i>MYC</i> (3F) - 26,0%
Б.Г.И.	муж	65	периферическая кровь	44-46,XY,-6,t(7;17)(p22;q11.2),add(8)(p23),t(9;11)(p24;q11),dic(11;19)(p15;p13.3),+der(11)del(11)(q23),-14,+18,-21,+mar1-3,с вариациями[18]/46,XY[2]	del <i>TP53</i> – 11,0%	amp <i>MYC</i> + del 5' <i>MYC</i> (2F1G) - 80%
А.С.Б.	муж	64	периферическая кровь	46,XY,der(3),+der(3),-8,-10,t(11;14)(q13;q32),der(13) t(11;13)(q13;q34) с вариациями [6]/46,XY [14]	-17 – 99,0%	amp <i>MYC</i> (3-4F) - 95,0%

К.Г.А. .	муж	69	периферическая кровь	44-45,XY,-10,del(11)(q23),t(11;14)(q13;q32),ins(13)(q14),add(17)(p13),add(21)(p13), с вариациями[8]/46,XY[12]	del TP53 – 85,0%	amp MYC (3F) - 12,0%
М.В.Ю.	муж	56	периферическая кровь	46,XY[20]	del TP53 – 0%	amp MYC (3F) – 10,0%
Я.А.Г. .	муж	51	периферическая кровь	37-41,X,-Y,add(3)(p26),-7,-8,add(9)(p24),-11,-12,-13,-14,der(14)t(11;14)(q13;q32),add(19)(p13),+der(19),-21,+5-8mar,ПФ,dic с вариациями[20]	del TP53 – 92%	amp MYC (8-16F) - 92,0%
К.В.В. .	муж	48	костный мозг	46,XY,del(1)(p34),i(9)(q10),t(11;14)(q12;q32),add(14)(p13)[9]/46,XY[11]	del TP53 – 44%	amp MYC (3F) - 31,0%
С.О.Э. .	жен	58	костный мозг	46,XX[20]	del TP53 – 0%	amp MYC (4F) – 8,0%
Ш.Н.А.	жен	72	периферическая кровь	46-47,XX,+3,t(11;14)(q13;q32),-17,+ПФ с вариациями[17]/46,XX[3].	-17 - 63,0%	amp MYC (3F) - 78,0%

Комплексный подход к генетической диагностике МКЛ, включающий СЦИ и FISH-исследование, помогает выявить группу пациентов высокого риска, с прогностически неблагоприятными абберациями, ассоциированными с короткими ОВ и БРВ: КК и

изменениями генов *MYC/8q24* и *TP53/17p13*. Кроме того, проведение FISH – анализа, позволяет дополнительно обнаруживать криптические молекулярно-генетические нарушения, что создает полную картину генетического профиля пациентов с МКЛ и дает возможность выделить отдельную подгруппу пациентов с «double-hit» МКЛ.

Обсуждение. Определение «double-hit» лимфомы впервые было предложено Aukema S.M. и соавторами для выделения группы пациентов с лимфомами из зрелых В-клеток с хромосомными перестройками, затрагивающими локус гена *MYC/8q24*, с дополнительными транслокациями, вовлекающими гены *BCL2*, *BCL6* или *CCND1*. Наиболее часто, примерно в 65% случаев, выявляется сочетание перестройки *MYC/8q24* и транслокации *t(14;18)(q32;q21)/IGH-BCL2* [16]. Мантийноклеточная лимфома с реарранжировкой *MYC/8q24* – более редкое событие, и, в настоящее время крайне мало информации о многоцентровых исследованиях, изучающих прогностическую значимость гена *MYC/8q24* у пациентов с МКЛ, сравнение ОВ и БРВ у больных с наличием aberrаций гена *MYC/8q24* и отсутствием изменений *MYC/8q24*. Описаны единичные случаи или небольшая выборка пациентов [2,5,6,11,17-20]. Таким образом, задачами нашего исследования являлись оценка влияния изменений гена *MYC/8q24* на ОВ и БРВ у 117 больных с МКЛ, изучение генетической гетерогенности aberrаций *MYC/8q24* и выделение группы пациентов высокого риска «double-hit» с изменениями локуса гена *MYC/8q24* и транслокацией *t(11;14)(q13;q32)*. Показано, что у больных с МКЛ накопление дополнительных хромосомных и молекулярных aberrаций, в особенности таких маркеров агрессивного клинического течения как КК, нарушения генов *MYC/8q24*, *TP53/17p13*, многократно потенцирует генетическую нестабильность опухолевого клона и способствуют клинической прогрессии заболевания [6,17]. Zhihong Hu и соавторы описали 17 пациентов с «double-hit» МКЛ. При этом перестройка *MYC/8q24* у 10 больных выявлялась при манифестации заболевания, в 7 случаях ген *MYC/8q24* вовлекался на поздних стадиях заболевания. У 13 из 14 пациентов, которым проведено СЦИ, определялся КК. У преобладающего количества пациентов на момент обнаружения aberrаций *MYC/8q24* выявлялась высокая группа риска по шкале MIPI, субстрат В-лимфоидных клеток с гистологическими характеристиками агрессивной опухоли, III/IV стадии по Ann Arbor, индекс пролиферативной активности Ki-67 $\geq$ 60%. Все пациенты получали высокодозную химиотерапию и трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток, однако медиана ОВ составила 31,3 месяца [6].

В нашем исследовании у больных в подгруппе «double-hit» МКЛ aberrации кариотипа выявлялись у 56,3% пациентов, в большинстве случаев (88,9%) определялись КК с множественными хромосомными нарушениями. Параллельное выполнение FISH-анализа

позволило дополнительно обнаружить прогностически неблагоприятные изменения с вовлечением гена *TP53/17p13* у 45,5%, делецию (70,0%) и моносомию хромосомы 17 (30,0%). На момент проведения исследования у 90% пациентов верифицирован дебют МКЛ, в 5% случаев – прогрессия, у 5% больных выявлен рецидив заболевания. По шкале МРІІ пациенты соответствовали промежуточной и высокой группам риска (26,3% и 73,7% соответственно). У 5,3% больных обнаруживалась III стадия по классификации Ann Arbor, в то время как в 94,7% случаев детектировалась IV стадия. Общесоматический статус по шкале ECOG у 54,5% пациентов оценивался в 1 балл, 36,4% – 2 балла, 9,1% – 3 балла. У всех пациентов обнаруживались спленомегалия, экстранодальные очаги поражения, в большинстве случаев (77,8%) – 2 и более. Увеличение печени выявлялось у 78,9% больных. Симптомы опухолевой интоксикации наблюдались в 66,7% случаев. Среднее значение индекса пролиферативной активности Ki-67 составляло 38%.

Reddy K. и группа исследователей опубликовали два случая бластоидного варианта МКЛ с перестройкой *MYC/8q24*. У одного пациента выявлялось 30% лимфоидных клеток в периферической крови с беркиттоподобной морфологией (лимфоидные клетки среднего размера с узким ободком темно-синей цитоплазмы и несколькими цитоплазматическими вакуолями), у другого больного определялись 30% бластов в костном мозге. В обоих случаях выявлялись транслокация *t(11;14)(q13;q32)* и перестройка локуса гена *MYC/8q24*. Экспрессия Ki-67 обнаруживалась в более чем 90% опухолевых клеток. Анализ пациентов методом СЦИ выявил КК:

44–45,XY,del(2)(q11.2q21),der(3;17)(p10;q10),der(5)t(3;5)(q12;q15),t(11;14)(q13;q32)[cp6]/
46,XY[14] у первого пациента и 42–44,X,-Y,add(1)(p13)
t(2;8)(p12;q24),der(2)t(2;15)(p25;q11.2),+3,del(9)(p22p24),del(9)(p22p24),-10, del(11)(q21q23),
t(11;14)(q13;q32),-13,-15,-17,add(17)(p11.2) [cp7]/46,XY[17] – у второго.

У данных больных, характеризующихся наличием транслокации *t(11;14)(q13;q32)* и перестройки с вовлечением гена *MYC/8q24*, заболевание отличалось агрессивным клиническим течением подобно высокозлокачественной лимфоме Беркитта. Несмотря на морфологические, иммунофенотипические и цитогенетические характеристики, специфичные для лимфомы Беркитта (экспрессия CD10, отсутствие экспрессии BCL2, высокий уровень Ki-67 и транслокацию, затрагивающую *MYC/8q24*), в опухолевых клетках определялись экспрессия CD5, гиперэкспрессия циклина D1, а также детектировалась транслокация *t(11;14)(q13;q32)*. Таким образом, в сложных диагностических случаях, в особенности между бластоидным вариантом МКЛ с транслокацией *MYC/8q24* и лимфомой Беркитта необходимо

проведение СЦИ и FISH – исследования с использованием ДНК-зондов к транслокации t(11;14)(q13;q32) или гену *CCND1/11q13* [18].

При проведении нашего исследования наличие транслокации t(11;14)(q13;q32) у каждого пациента с “double-hit” МКЛ подтверждалось FISH-методом, в особенности у больных с нормальным кариотипом (7/16 (43,8%)) и низкой митотической активностью (2/16 (12,5%)).

Lifu Wang с соавторами опубликовали результаты исследования 88 больных с МКЛ, в котором рассмотрели прогностическое влияние aberrаций гена *MYC/8q24* на ОВ. Важно отметить, что большое внимание группе ученых уделено роли амплификации *MYC/8q24* и ее ассоциации с продолжительностью ОВ больных МКЛ. Оценка FISH-анализа показала следующее распределение пациентов на группы в зависимости от *MYC*-статуса: у 27 пациентов обнаружена перестройка *MYC/8q24*, в 21 случае определялось увеличение копийности *MYC/8q24* (от 3 до 6 копий, в большинстве случаев 3-4), у 40 больных aberrации *MYC/8q24* не выявлялись. В группе с перестройкой *MYC/8q24* пациенты преимущественно характеризовались бластоидной или плеоморфной морфологией (89% по сравнению с 54%, $p=0,004$), высокой частотой экспрессии CD10 ($p=0,01$), *MYC* ($p=0,0001$), одновременной экспрессией белков *MYC* и *BCL2* ($p=0,0001$), повышенными показателями индекса пролиферативной активности Ki-67 (медиана 90% по сравнению с 60%) ($p<0,004$). СЦИ, выполненное у 18 больных с реарранжировкой *MYC/8q24* в 17 случаях выявило комплексные изменения кариотипа, включающие транслокацию t(11;14)(q13;q32). Несмотря на то, что больные с перестройкой *MYC/8q24* чаще получали интенсивную химиотерапию ($p=0,001$), их ОВ была значительно короче, чем у пациентов без нарушений *MYC/8q24*. Также исследователи сравнили продолжительность ОВ пациентов с реарранжировкой генов *MYC/BCL2* и перестройкой с вовлечением только гена *MYC/8q24*. Анализ показал, что несмотря на сходную ОВ, у больных с реарранжировкой *MYC/8q24* чаще обнаруживалось вовлечение костного мозга и IV стадия заболевания. Статистическая оценка ОВ у пациентов с амплификацией *MYC/8q24* выявила, что продолжительность ОВ в данной группе больных характеризовалась показателями промежуточными между ОВ пациентов с реарранжировкой *MYC/8q24* и без нарушений *MYC/8q24*. Мультивариативный анализ обнаружил, что перестройка *MYC/8q24*, а не амплификация *MYC/8q24* оказывала независимое неблагоприятное влияние на ОВ [3]. Преобладающим вариантом aberrации гена *MYC/8q24* у больных в нашем исследовании являлась амплификация *MYC/8q24* (20/22 (90,9%)), при которой определялись от 1 до 14 дополнительных копий гена *MYC/8q24*, гораздо реже

обнаруживались варианты с сочетанием амплификации *MYC/8q24* и делеции центромерного или теломерного участков *MYC/8q24* (1/22 (4,5%) для каждого случая).

Yi S и соавторы опубликовали данные о 18 пациентах с изменениями *MYC/8q24* (14 - с увеличением копийности *MYC/8q24* и 4 - с реарранжировкой *MYC/8q24*) и оценили их прогностическое влияние по сравнению с пациентами без aberrаций *MYC/8q24*, анализ которых продемонстрировал ассоциацию нарушений *MYC/8q24* с неблагоприятным прогнозом, более короткой беспрогрессивной выживаемостью (БПВ) (9 месяцев по сравнению с 48) и ОВ (12 месяцев против 94,5). У пациентов с изменениями *MYC/8q24* выявлялись более высокая опухолевая нагрузка и генетическая нестабильность, а также по прогностической шкале *MIP1* преимущественно определялись группы промежуточного и высокого риска. Проведенный мультивариативный анализ показал, что aberrации *MYC/8q24* являлись независимым неблагоприятным прогностическим фактором, влияющим как на БПВ, так и на ОВ, несмотря на получение курсов интенсивной химиотерапии [7].

Статистический анализ результатов исследования нашей группы пациентов выявил достоверную ассоциацию aberrаций гена *MYC/8q24* со снижением медианы ОВ (43 месяца против 108, $p = 0,013$). Наиболее неблагоприятное влияние на продолжительность ОВ обнаружено при сочетании амплификации гена *MYC/8q24* с делецией центромерного участка *MYC/8q24*, составившая 15 месяцев ($p=0,028$). Кроме того, выявлен тренд к снижению медианы БПВ при таких aberrациях как реарранжировка *MYC/8q24* ($p=0,071$) и амплификация *MYC/8q24* с делецией центромерного участка ($p=0,093$). Важно отметить, что многофакторный регрессионный анализ показал независимое неблагоприятное влияние на ОВ именно изменений гена *MYC/8q24* ($b \pm SD = -0,21 \pm 0,08$, $p=0,05$), а также обнаружил наибольшую тенденцию к негативному влиянию при оценке БПВ ($b \pm SD = -0,20 \pm 0,11$, $p=0,30$).

Setoodeh R и соавторы описали четырех пациентов МКЛ с изменениями локуса гена *MYC/8q24*, у троих больных определялась транслокация *MYC/8q24*, в одном случае детектировалась амплификация *MYC/8q24*. Все пациенты характеризовались бластоидным морфологическим вариантом МКЛ, выраженным лейкоцитозом в периферической крови с абсолютным лимфоцитозом (от 14 до 425 $\times 10^9/\text{л}$, медиана 68,5 $\times 10^9/\text{л}$), циркуляцией крупных опухолевых клеток, с круглыми или неправильными ядрами, бластоидным хроматином, заметными ядрышками и умеренным количеством базофильной цитоплазмы. Также у больных обнаруживались поражение костного мозга, спленомегалия и повышенный уровень ЛДГ и *Ki-67* ($>50\%$) [2]. Бластные клетки в периферической крови у пациентов с сочетанием aberrаций *MYC/8q24* и транслокации *t(11;14)(q13;q32)* определялись в 23,5% случаев (от 13% до 63%). Кроме того, у 76,5% пациентов выявлялась тромбоцитопения (42-175 $\times 10^9/\text{л}$), в 85% случаях –

лейкоцитоз (от 11,20 до 550,3x10⁹/л) с лимфоцитозом (от 30 до 94%). У 88% больных определялась анемия (43-127 г/л у мужчин, 92-117 г/л у женщин). Также у 61,5% пациентов выявлено увеличение активности ЛДГ в крови (3,9-14,7 мкат/л).

Нао S с коллегами описали результаты СЦИ 5 больных МКЛ с абберациями гена *MYC*/8q24. У всех пациентов выявлялась транслокация t(11;14)(q13;q32) с дополнительными множественными хромосомными абберациями. У 3/5 больных при оценке кариотипа определялись изменения локуса 8q24/*MYC* (1/5 - t(8;14)(q24;q32), 1/5 - t(2;8)(q13;q24), 3/5 - add(8)(q24)). Трем больным с дополнительным хромосомным материалом на q-плече хромосомы 8 выполнено FISH-исследование, которое в 2/3 случаев показало амплификацию *MYC*/8q24 (1 дополнительная копия *MYC*/8q24), у 1/3 пациентов выявило перестройку *MYC*/8q24. У всех больных определялся повышенный уровень ЛДГ в сыворотке крови, абсолютный лимфоцитоз (13,6 – 392,9x10⁹ /л), вовлечение костного мозга (от 40 до 100%), плеоморфный/бластоидный морфологические варианты МКЛ, Ki-67 от 25 до 75% [5].

В представленных случаях ведущую роль в патогенезе МКЛ сыграло сочетание гиперэкспрессии циклина D1 с абберациями *MYC*/8q24. Патологическая активация *MYC*/8q24 у таких пациентов является важнейшим этапом патогенеза, ведущим к прогрессированию и неблагоприятному рефрактерному течению МКЛ. Модели трансгенных мышей показали, что при наличии коэкспрессии циклина D1 и *N-MYC*, либо *L-MYC* наблюдалось более быстрое развитие МКЛ, что свидетельствует об их взаимодействии в лимфомагенезе. Роль *MYC* в бластоидной трансформации МКЛ до конца неизвестна, но, предположительно, аналогична его роли при лимфоме Беркитта. У пациентов с лимфомой Беркитта транслокация t(8;14)(q24;q32) встречается примерно в 85% случаев, а t(2;8)(p12;q24) – у 5–10% больных, результатом которых является абберантная экспрессия *MYC*/8q24, приводящая к нарушению регуляции клеточной пролиферации, дифференцировки и апоптоза. Онкогенный потенциал *MYC*/8q24 при лимфоме Беркитта и МКЛ с t(8;14)(q24;q32) или t(2;8)(p12;q24), скорее всего, связан с его способностью стимулировать пролиферацию клеток и увеличивать клеточный метаболизм. Роль add(8)(q24) в патогенезе МКЛ все еще остается неизвестной [5].

Проведенное СЦИ не выявило значимых различий в частоте выявляемости патологического кариотипа у больных с изменениями и без нарушений *MYC*/8q24 (31,0% по сравнению с 30,7%, $p=0,812$), однако в группе пациентов с абберациями *MYC*/8q24 обнаружена тенденция к более высокой частоте встречаемости КК (27,6% против 14,8%, $p=0,072$). Также у больных с изменениями гена *MYC*/8q24 значимо чаще обнаруживались прогностически неблагоприятные нарушения *TP53*/17p13 (41,4% по сравнению с 17,0%, $p=0,007$).

Таким образом, МКЛ с aberrациями гена *MYC/8q24* - подгруппа с агрессивным клиническим течением и генетической нестабильностью высокой степени, проявляющейся в наличии большого количества дополнительных цито- и молекулярно-генетических aberrаций. У таких пациентов изменения *MYC/8q24* являются вторым важнейшим цитогенетическим событием в лимфогенезе МКЛ, определяющим высокую степень злокачественности клинической симптоматики и низкую продолжительность ОБ и БРВ, поэтому для каждого пациента в генетической диагностике МКЛ необходимо выполнение как СЦИ так и FISH-исследования для выявления КК, высокоспецифической транслокации $t(11;14)(q13;q32)$ и изменений, вовлекающих ген *MYC/8q24*.

Выводы

1. FISH-исследование является наиболее чувствительным методом генетической диагностики МКЛ, позволяющим детектировать широкий спектр aberrаций гена *MYC/8q24* и выявлять прогностически неблагоприятную подгруппу пациентов МКЛ, «double-hit» МКЛ.
2. Нарушения гена *MYC/8q24* у пациентов с МКЛ – дополнительные хромосомные aberrации, являющиеся маркерами неблагоприятного клинического течения МКЛ, ассоциированные со снижением медиан ОБ ($p=0,013$) и БРВ (для реарранжировки *MYC/8q24* $p=0,071$; амплификация *MYC/8q24* с делецией центрального участка - $p=0,093$).
3. Изменения гена *MYC/8q24*, выявляемые в опухолевом клоне у пациентов МКЛ – маркеры геномной нестабильности и более высокой частоты выявления aberrаций гена *TP53/17p13* ($p=0,007$) и КК ($p=0,072$).
4. Кариотипирование и FISH-исследование опухолевого клона при МКЛ - неотъемлемая часть диагностики и дифференциальной диагностики больных МКЛ, применение которых помогает стратифицировать пациентов на группы риска и эффективно осуществлять мониторинг минимальной остаточной болезни.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Delfau-Larue MH, Klapper W, Berger F, et al. High-dose cytarabine does not overcome the adverse prognostic value of CDKN2A and TP53 deletions in mantle cell lymphoma. *Blood*. 2015 Jul 30;126(5):604-11. doi: 10.1182/blood-2015-02-628792. Epub 2015 May 28. PMID: 26022239.
2. Setoodeh R, Schwartz S, Papenhausen P, et al. Double-hit mantle cell lymphoma with MYC gene rearrangement or amplification: a report of four cases and review of the literature. *Int J Clin Exp Pathol*. 2013;6(2):155-67. Epub 2013 Jan 15. PMID: 23330001; PMCID: PMC3544229.

3. Wang L, Tang G, Medeiros LJ, et al. *MYC* rearrangement but not extra *MYC* copies is an independent prognostic factor in patients with mantle cell lymphoma. *Haematologica*. 2021 May 1;106(5):1381-1389. doi: 10.3324/haematol.2019.243071. PMID: 32273477; PMCID: PMC8094099.
4. Felten CL, Stephenson CF, Ortiz RO, et al. Burkitt transformation of mantle cell lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2004 Oct;45(10):2143-7. doi: 10.1080/10428190410001711479. PMID: 15370262.
5. Hao S, Sanger W, Onciu M, et al. Mantle cell lymphoma with 8q24 chromosomal abnormalities: a report of 5 cases with blastoid features. *Mod Pathol*. 2002 Dec;15(12):1266-72. doi: 10.1097/01.MP.0000037310.82136.99. PMID: 12481006.
6. Hu Z, Medeiros LJ, Chen Z, et al. Mantle cell Lymphoma with *MYC* rearrangement: a report of 17 patients. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(2):216-224.
7. Yi S, Zou D, Li C, et al. High incidence of *MYC* and *BCL2* abnormalities in mantle cell lymphoma, although only *MYC* abnormality predicts poor survival. *Oncotarget*. 2015;6(39):42362-42371.
8. Slack GW, Gascoyne RD. *MYC* and aggressive B-cell lymphomas. *Adv Anat Pathol*. 2011 May;18(3):219-28. doi: 10.1097/PAP.0b013e3182169948. PMID: 21490439.
9. Nguyen L, Papenhausen P, Shao H. The Role of c-*MYC* in B-Cell Lymphomas: Diagnostic and Molecular Aspects. *Genes (Basel)*. 2017 Apr 5;8(4):116. doi: 10.3390/genes8040116. PMID: 28379189; PMCID: PMC5406863.
10. Adams JM, Harris AW, Pinkert CA, et al. The c-myc oncogene driven by immunoglobulin enhancers induces lymphoid malignancy in transgenic mice. *Nature*. 1985;318:533–538.
11. Au WY, Horsman DE, Gascoyne RD, Viswanatha DS, Klasa RJ, Connors JM. The spectrum of lymphoma with 8q24 aberrations: a clinical, pathological and cytogenetic study of 87 consecutive cases. *Leuk Lymphoma*. 2004 Mar;45(3):519-28. doi: 10.1080/10428190310001593120. PMID: 15160914.
12. Durot E, Patey M, Luquet I, et al. An aggressive B-cell lymphoma with rearrangements of *MYC* and *CCND1* genes: a rare subtype of double-hit lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2013 Mar;54(3):649-52. doi: 10.3109/10428194.2012.710329. Epub 2012 Sep 10. PMID: 22784333.
13. Lee J, Zhang LL, Wu W, et al. Activation of *MYC*, a bona fide client of HSP90, contributes to intrinsic ibrutinib resistance in mantle cell lymphoma. *Blood Adv*. 2018;2(16):2039-2051.

14. Zhang X, Chen X, Lin J, et al. Myc represses miR-15a/miR-16-1 expression through recruitment of HDAC3 in mantle cell and other non-Hodgkin B-cell lymphomas. *Oncogene*. 2012;31(24):3002-3008.
15. ISCN (2020). An International System for Human Cytogenomic Nomenclature. McGowan-Jordan J., Hastings R.J., Moore S. (eds) / S.Karger, 2020.
16. Aukema SM, Siebert R, Schuurin E, et al. Double-hit B-cell lymphomas. *Blood*. 2011; 117(8):2319-2331.
17. Delas A, Sophie D, Brousset P, Laurent C. Unusual concomitant rearrangements of Cyclin D1 and MYC genes in blastoid variant of mantle cell lymphoma: case report and review of literature. *Pathol Res Pract*. 2013;209(2):115-119.
18. Reddy K, Ansari-Lari M, Dipasquale B. Blastic mantle cell lymphoma with a Burkitt translocation. *Leuk Lymphoma*. 2008;49(4):740-750.
19. Xu J, Li S. Triple-hit blastoid mantle cell lymphoma presenting like acute leukemia. *Blood*. 2017;129(18):2593.
20. Miao Y, Lin P, Wang W, Jeffrey Medeiros L, Lu X. CCND1-IGH Fusion-Amplification and MYC Copy Number Gain in a Case of Pleomorphic Variant Mantle Cell Lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 2016; 146(6):747-752.