

© 2025 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 30.01.2025
Принята к печати 20.02.2025



EDN: QQISCI

Контактная информация:

Зеркаленкова Елена Александровна,
канд. биол. наук, старший научный
сотрудник лаборатории цитогенетики
и молекулярной генетики
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: elena.zerkalenkova@dgoi.ru

DOI: 10.24287/1726-1708-2025-24-1-106-115

Лейкозы с морфологией L3: цитогенетическая характеристика и некоторые сложности диагностики

Т.В. Конюхова¹, П.А. Гезик², О.И. Солдаткина¹, В.А. Козеев¹, А.Н. Казакова¹, А.М. Попов¹,
С.А. Плясунова¹, Н.В. Мякова¹, Ю.В. Ольшанская¹, Ю.В. Румянцева¹, Е.А. Зеркаленкова^{1,3}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

²ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

³ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Лимфома/лейкоз Беркитта (ЛБ) – высокоагрессивная В-клеточная неходжкинская лимфома с преимущественно экстранодальной локализацией и частым поражением нескольких систем органов. Как правило, при поражении костного мозга ЛБ характеризуется триадой диагностических признаков: морфологический вариант L3 по франко-американско-британской классификации (French-American-British classification), наличие перестройки гена *MYC* и соответствие зрелому иммунофенотипу с экспрессией поверхностных иммуноглобулинов по данным проточной цитометрии. Однако в ряде случаев ЛБ часть данных признаков отсутствует. В данном исследовании оценивалось соответствие L3-морфологии и наличия перестроек гена *MYC* в костном мозге. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. Среди 127 пациентов с L3-морфологией в 89,8% случаев ($n = 114$) были выявлены перестройки гена *MYC*, тогда как при L1-/L2-морфологии они встречались крайне редко (0,1%; 2 из 2049). Были определены следующие виды перестроек гена *MYC*: $t(8;14)(q24;q32)/IGH::MYC$ (91,2%; $n = 104$), $t(8;22)(q24;q11)/IGK::MYC$ (7,0%; $n = 8$), $t(2;8)(p12;q24)/IGL::MYC$ (1%; $n = 1$), а также $t(8;14)(q24;q32)/IGH::MYC$ в сочетании с $t(14;18)(q32;q21)/IGH::BCL2$ ($n = 1$). У 13 пациентов с L3-морфологией перестройки гена *MYC* отсутствовали. В 69,2% случаев ($n = 9$) обнаружены другие хромосомные aberrации, характерные для В-линейного острого лимфобластного лейкоза, включая перестройки генов *KMT2A*, *ETV6*, локуса *IGH*, а также гипердиплоидию и гиподиплоидию. Кроме того, установлено, что среди *MYC*-позитивных случаев в 23,6% ($n = 25$) первичный анализ цитогенетического материала методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization, FISH) не выявил патологических клеток или показал их минимальное количество. В таких образцах наличие *MYC*-позитивности было достоверно подтверждено методом FISH на морфологических препаратах с доказанным blastom. Анализ уровня бластных клеток в зависимости от точки пункции продемонстрировал значительный разброс в *MYC*-позитивных образцах, что может приводить к ложнонегативным результатам цитогенетического исследования. В отличие от этого для других генетических перестроек, таких как гипердиплоидия, перестройки *KMT2A* или $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$, данный разброс был выражен значительно слабее. Таким образом, при расхождениях между данными морфологического и цитогенетического исследований рекомендуется проводить анализ на морфологических мазках, где ранее был подтвержден blastоз с L3-морфологией.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, лимфома Беркитта, *MYC*, цитогенетика, морфология

Конюхова Т.В. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2025; 24 (1): 106–115. DOI: 10.24287/1726-1708-2025-24-1-106-115

Leukemia with L3 morphology: cytogenetic characterization and diagnostic challenges

T.V. Konyukhova¹, P.A. Gezic², O.I. Soldatkina¹, V.A. Kozeev¹, A.N. Kazakova¹, A.M. Popov¹, S.A. Plyasunova¹,
N.V. Myakova¹, Yu.V. Olshanskaya¹, Yu.V. Rumyantseva¹, E.A. Zerkalenkova^{1,3}

¹The Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

²The I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of Ministry of Healthcare of Russia, Moscow

³The N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of Ministry of Healthcare of Russia, Moscow

Correspondence:

Elena A. Zerkalenkova,
Cand. Bio. Sci., senior researcher
at the Laboratory of Cytogenetics and
Molecular Genetics at the Dmitry Rogachev
National Medical Research Center of Pediatric
Hematology, Oncology and Immunology
of Ministry of Healthcare
of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
117997, Moscow, Russia
E-mail: elena.zerkalenkova@dgoi.ru

Burkitt lymphoma/leukemia (BL) is a highly aggressive B-cell non-Hodgkin lymphoma with a strong predilection for extranodal involvement and frequent multi-organ dissemination. When the bone marrow is affected, BL is typically characterized by three key signs: L3 morphology as defined by the French-American-British classification, a *MYC* gene rearrangement, and a mature immunophenotype with surface immunoglobulin expression as confirmed by flow cytometry. However, in some BL cases, some of these features may be absent. Here, we studied a correlation between L3 morphology and the presence of *MYC* gene rearrangements in the bone marrow. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation. Out of the 127 patients with L3 morphology, 89.8% ($n = 114$) harbored *MYC* rearrangements, while in the patients with L1/L2 morphology such rearrangements were extremely rare (0.1%; 2 out of 2049). We identified the following *MYC* rearrangements: $t(8;14)(q24;q32)/IGH::MYC$ (91.2%; $n = 104$), $t(8;22)(q24;q11)/IGK::MYC$ (7.0%; $n = 8$), $t(2;8)(p12;q24)/IGL::MYC$ (1%; $n = 1$), and $t(8;14)(q24;q32)/IGH::MYC$ combined with $t(14;18)(q32;q21)/IGH::BCL2$ ($n = 1$). At the same time, 13 patients with L3 morphology did not have *MYC* rearrangements. Among these cases, 69.2% ($n = 9$) of patients harbored other chromosomal aberrations commonly associated with B-lineage acute lymphoblastic leukemia, including rearrangements involving the *KMT2A* and *ETV6* genes and *IGH* locus, as well as hyperdiploidy and hypodiploidy. According to

the findings of the initial analysis of cytogenetic samples using the fluorescence *in situ* hybridization (FISH) method, 23.6% ($n = 25$) of the *MYC*-positive cases either did not have abnormal cells or had a minimal amount. In such cases, *MYC* positivity was reliably confirmed by FISH performed on morphological samples with established blastosis. Notably, the percentage of blast cells varied significantly among the *MYC*-positive samples depending on the puncture site, which can potentially lead to false negative cytogenetic results. However, this variation was much lower in other genetic alterations such as hyperdiploidy, *KMT2A* rearrangements, and $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$. Therefore, if there are any discrepancies between the results of morphological and cytogenetic analyses, it is recommended to perform additional testing using morphological smears with previously confirmed blastosis with L3 morphology.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, Burkitt lymphoma, *MYC*, cytogenetics, morphology

Konyukhova T.V., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2025; 24 (1): 106–115.
DOI: 10.24287/1726-1708-2025-24-1-106-115

Классификация опухолей кроветворных и лимфоидных тканей Всемирной организации здравоохранения разделяет В-клеточные злокачественные новообразования на опухоли из В-клеточных предшественников и зрелые В-клеточные опухоли [1–3]. Лимфома/лейкоз Беркитта (ЛБ) – высокоагрессивная В-клеточная зрелая неоплазия, выявляемая примерно в 2,5% случаев всех неходжкинских лимфом у взрослых [4]. У детей ЛБ составляет около 30–50% всех лимфом [5].

ЛБ развивается из иммунологически зрелых В-клеток зародышевого центра лимфатического узла [2, 6]. Пролиферация и дифференцировка ранних В-клеточных предшественников регулируются транскрипционным фактором *MYC*, уровень экспрессии которого в норме снижается по мере созревания В-клеток. При ЛБ ключевым драйверным событием является перестройка гена *MYC* с локусами генов иммуноглобулинов, чаще всего $t(8;14)(q24;q32)/IGH::MYC$, реже $t(2;8)(p12;q24)/IGK::MYC$ или $t(8;22)(q24;q11)/IGL::MYC$. Это приводит к избыточной экспрессии *MYC* и, как следствие, к неконтролируемой пролиферации В-клеток [7]. Таким образом, перестройка гена *MYC* в опухолевом материале является основным диагностическим критерием ЛБ [8] и требует немедленного начала терапии по протоколам для неходжкинских лимфом с высокоинтенсивной химиотерапией и анти-CD20-моноклональными антителами.

При ЛБ в злокачественный процесс нередко вовлекается костный мозг (КМ) [8]. В таких случаях важно проводить дифференциальную диагностику с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) из В-клеточных предшественников (ВП-ОЛЛ) [9], что важно для выбора тактики терапии – в отличие от протоколов для ЛБ протоколы для ВП-ОЛЛ характеризуются более длительным режимом лечения, дополненным поддерживающей терапией низкой интенсивности. Дифференциальная диагностика между ЛБ и ВП-ОЛЛ базируется главным образом на определении статуса гена *MYC*, а также на морфологических особенностях бластных клеток (L3-вариант по франко-американо-британской классификации (French-American-British classification, FAB)) [10] и зрелом иммунофенотипе бластов с экспрессией поверхностного иммуноглобулина (иммуновариант

BIV по классификации Европейской группы по иммунологической характеристике лейкозов (European Group for the Immunological Characterization of Leukemias, EGIL)) [11].

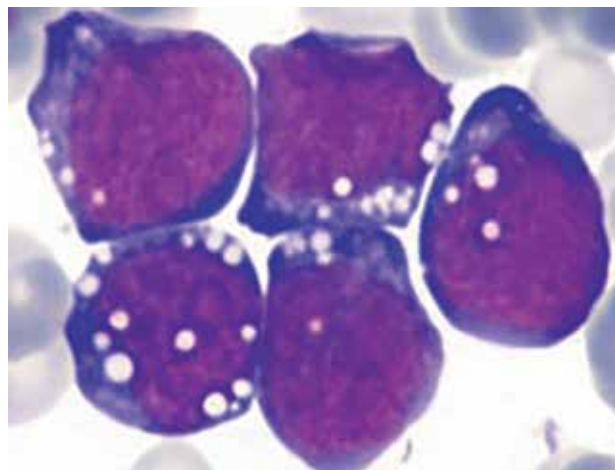
Бласты L3-типа по FAB-классификации характеризуются крупным размером, круглыми или овальными ядрами с грубым хроматином и крупными, хорошо заметными ядрышками. Цитоплазма интенсивно базофильная с выраженной вакуолизацией в большинстве клеток. Также характерен высокий митотический индекс (рисунки 1).

На практике именно морфологическое и иммунологическое исследование выполняются первыми и по их результатам можно заподозрить перестройку *MYC*. Однако в ряде случаев данная триада диагностических признаков не выполняется [12–16]. Зрелый иммунофенотип связан с *MYC*-положительным статусом только в 63% случаев, в остальных же выявляются хромосомные aberrации, характерные для ВП-ОЛЛ [12].

Целью данной работы был сравнительный анализ лейкозов с бластными клетками L3-морфологии и перестройками гена *MYC* методами цитогенетики и цитофлуориметрии. В исследовании оценивалась значимость L3-морфологии как предиктора перестройки гена *MYC*, а также рассмотрены диагностические сложности, с которыми специалисты сталкиваются в рутинной практике.

Рисунок 1
Ядра с морфологией L3 по классификации FAB [10]

Figure 1
Nuclei with L3 morphology according to the FAB classification [10]



МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведен ретроспективный анализ результатов морфологических, цитогенетических и иммунофенотипических исследований образцов КМ 127 пациентов (93 мальчика и 34 девочки) в возрасте от 1 года до 17 лет (медиана – 8 лет) с L3-морфологией бластных клеток. В качестве группы сравнения были использованы 2049 образцов с морфологией L1/L2, направленных на диагностику в лаборатории ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России в период с 2012 по 2024 г. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета Центра им. Дмитрия Рогачева.

Морфологическое исследование проводили методом окрашивания по Романовскому–Гимзе. Миелограмму оценивали путем подсчета 500 ядро-содержащих клеток в КМ. Анализ иммунофенотипа клеток КМ выполняли с использованием многоцветной проточной цитометрии [17]. Цитогенетическое исследование КМ проводили методами стандартного кариотипирования и флуоресцентной гибридизации *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization, FISH) как на суспензии клеток, приготовленной для кариотипирования, так и на морфологических мазках, изготовленных непосредственно в момент пункции. Перестройки гена *MYC* определяли с использованием ДНК-зонда на разрыв хромосомного региона 8q24 с последующим анализом статуса локусов *IGH*, *IGK*, *IGL*, а также ДНК-зонда для выявления *t*(8;14) (*q24;q32*)/*IGH::MYC*. Для *MYC*-негативных образцов дополнительно исследовали ключевые перестройки, характерные для ВП-ОЛЛ [18, 19]. Результаты записывали согласно Международной цитогенетической номенклатуре (ISCN 2020) [20].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цитогенетическая характеристика образцов костного мозга с морфологией L3

Среди 127 пациентов с L3-морфологией бластных клеток частота выявления перестроек гена *MYC* составила 89,8% (114 из 127). При этом 104 (91,2%) имели *t*(8;14)(*q24;q32*)/*IGH::MYC*, 8 (7,0%) – *t*(8;22)(*q24;q11*)/*IGK::MYC*. Также мы наблюдали по одному случаю *t*(2;8)(*p12;q24*)/*IGL::MYC* и *t*(8;14)(*q24;q32*)/*IGH::MYC* в сочетании с *t*(14;18)(*q32;q21*)/*IGH::BCL2*. В группе сравнения частота выявления перестроек гена *MYC* составила 0,1% (2 из 2049, оба имели *IGH::MYC* в сочетании с *IGH::BCL2*). Таким образом, морфологический вариант L3 ассоциирован с *MYC*-положительным статусом ($p < 0,0001$, точный критерий Фишера) (таблица).

Таблица

Выявляемость морфологического варианта L3 и перестроек гена *MYC* в КМ

Table

Identification of the L3 morphological variant and *MYC* gene rearrangements in the bone marrow (BM)

Наличие перестройки гена <i>MYC</i> <i>MYC</i> rearrangement	Морфологический вариант <i>Morphology</i>	
	L1/L2	L3
<i>MYC</i> +	2	114
<i>MYC</i> –	2049	13 (9 с известными абберациями, 4 без известных аббераций) 13 (9 with known aberrations, 9 without known aberrations)

Среди 127 пациентов с L3-морфологией бластных клеток в 13 случаях перестроек гена *MYC* обнаружено не было. Из них в 9 (7,1%) случаях были определены другие генетические абберации: *t*(4;11)(*q21;q23*)/*KMT2A::AFF1* ($n = 1$), перестройка гена *ETV6* ($n = 1$), перестройка локуса *IGH* без перестройки *MYC* ($n = 1$), гипердиплоидия ($n = 4$) и гиподиплоидия ($n = 2$). В 3,1% случаев исследуемой когорты стандартными цитогенетическими методами не было найдено никаких аббераций ($n = 4$) (рисунки 2А).

В большинстве образцов с L3-морфологией бластных клеток был обнаружен иммуновариант BIV (73,2%; 93 из 127), реже встречались BII (14,2%; 18 из 127), BIII (2,4%; 3 из 127) и BI (0,8%; 1 из 127). В 9,4% случаев (13 из 127) иммуновариант не был определен. Стоит отметить, что в группе *MYC*-положительных образцов большинство имело BIV-иммуновариант (80,7%; 92 из 114), а в группе *MYC*-негативных – BII-иммуновариант (53,8%; 7 из 13) (рисунки 2Б).

Сопоставление содержания бластных клеток при морфологическом исследовании с содержанием FISH-положительных ядер при цитогенетическом исследовании костного мозга

При проведении рутинного цитогенетического исследования суспензии КМ, подготовленной для кариотипирования, у пациентов с L3-морфологическим вариантом в ряде случаев перестройки *MYC* не были выявлены, и статус *MYC*-положительности оказался возможно установить только при проведении FISH непосредственно на морфологических препаратах. Для определения диагностической тактики в таких случаях нами был сопоставлен процент бластных клеток с L3-морфологией, выявляемых при морфологическом исследовании, и *MYC*-положительных ядер при исследовании методом FISH ($n = 106$) (рисунки 3А). В качестве групп сравнения были взяты образцы В-линейного ОЛЛ с *t*(12;21)(*p13;q22*)/*ETV6::RUNX1* ($n = 782$), *t*(9;22)(*q34;q11*)/*BCR::ABL1* ($n = 152$), перестройками гена *KMT2A* ($n = 360$), высокой гипердиплоидией ($n = 847$) и *t*(1;19)(*q23;p13*)/*TCF3::PBX1* ($n = 114$) (рисунки 3Б–Е).

В группе с перестройкой *MYC* более 5% позитивных клеток при FISH-исследовании и 5% бластных клеток при морфологическом исследовании выявлялись только в 78,5% образцов (80 из 106). В 17,0% образцов (18 из 106) количество патологических клеток при первичном FISH-исследовании цитогенетических диагностических образцов составило менее 5% при высоком проценте L3-бластов при морфологическом исследовании, более того, в 6,6% образцов (7 из 106) позитивные клетки методом FISH не были выявлены вовсе (рисунки 3А). Для них *MYC*-позитивность была обнаружена впоследствии на морфологических препаратах с доказанным бластозом. При этом в группах сравнения данная особенность отсутствовала – более 99% образцов имели более 5% бластных клеток при морфологическом исследовании и более 5% позитивных ядер при исследовании методом FISH с соответствующими ДНК-зондами (рисунки 3Б–Е).

Сопоставление содержания бластных клеток в различных точках пункции при морфологическом исследовании костного мозга

Одной из возможных причин наблюдаемого в ряде случаев несоответствия содержания FISH-позитивных ядер и бластных клеток, выявляемых при морфологическом исследовании, является сильный разброс содержания опухолевых клеток в разных точках пункции, более выраженный у *MYC*-позитивных, чем у

MYC-негативных образцов. При сопоставлении содержания бластных клеток, выявляемых при морфологическом исследовании в различных точках пункции, для *MYC*-позитивных образцов ($n = 47$) (рисунки 4А) были отмечены существенные различия. Во взятых для сравнения образцах В-линейного ОЛЛ с $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ ($n = 80$), перестройками гена *KMT2A* ($n = 80$) и высокой гипердиплоидией ($n = 118$) (рисунки 4Б–Г) значимого разброса в содержании бластных клеток выявлено не было.

Далее было проведено непосредственное сопоставление содержания *MYC*-позитивных ядер в диагностических образцах, предоставленных для морфологического и цитогенетического исследований, у одних и тех же пациентов ($n = 23$) (рисунки 5). Оказалось, что только в небольшом проценте случаев содержание *MYC*-позитивных ядер в цитогенетическом и морфологическом диагностических образцах было сопоставимо (образцы 1–3). В некоторых случаях (образцы 4–15) цитогенетический материал был значительно беднее позитивными патологическими клетками, чем морфологический материал. Наконец, в трети образцов (образцы 16–23) при исследовании цитогенетического материала методом FISH выявлялись единичные *MYC*-позитивные ядра либо они отсутствовали вовсе. Таким образом, FISH-исследование, выполненное на морфологических препаратах из точки с установленным содер-

Рисунок 2

Цитогенетическая (А) и иммунологическая (Б) характеристика образцов КМ с L3-морфологией бластных клеток в зависимости от статуса гена *MYC* (синий – *MYC*+, красный – *MYC*–)
 $t(8;14) - t(8;14)(q24;q32)/IGH::MYC$; $t(8;22) - t(8;22)(q24;q11)/IGL::MYC$; $t(2;8) - t(2;8)(p12;q24)/IGK::MYC$; $t(8;14) + BCL2 - t(8;14)(q24;q32)/IGH::MYC$ в сочетании с $t(14;18)(q32;q21)/IGH::BCL2$; ДН – двойные негативные образцы (перестроек *MYC* не обнаружено, стандартными цитогенетическими методами не найдено никаких аберраций); н/д – нет данных об иммуно-варианте

Figure 2

Cytogenetic (A) and immunological (B) features of the BM samples with L3 morphology of blast cells in accordance with the *MYC* gene status (blue – *MYC*+, red – *MYC*–)
 $t(8;14) - t(8;14)(q24;q32)/IGH::MYC$; $t(8;22) - t(8;22)(q24;q11)/IGL::MYC$; $t(2;8) - t(2;8)(p12;q24)/IGK::MYC$; $t(8;14) + BCL2 - t(8;14)(q24;q32)/IGH::MYC$ in combination with $t(14;18)(q32;q21)/IGH::BCL2$; DN – double negative samples (no *MYC* rearrangements detected, no aberrations detected by standard cytogenetic methods); n/a – no data on the immunophenotype

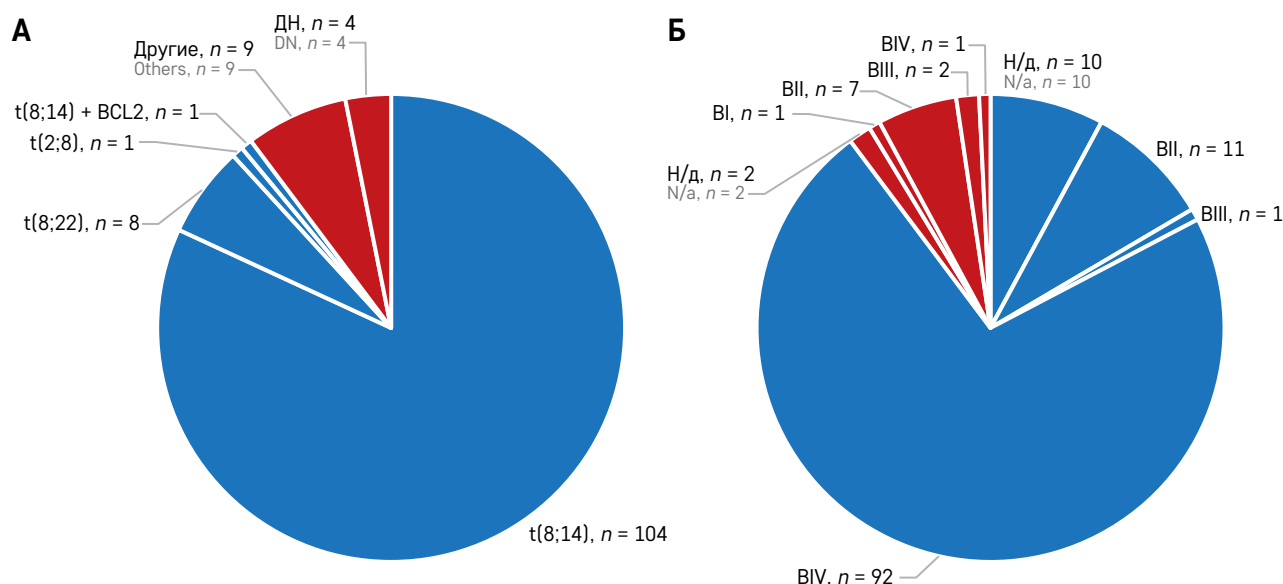


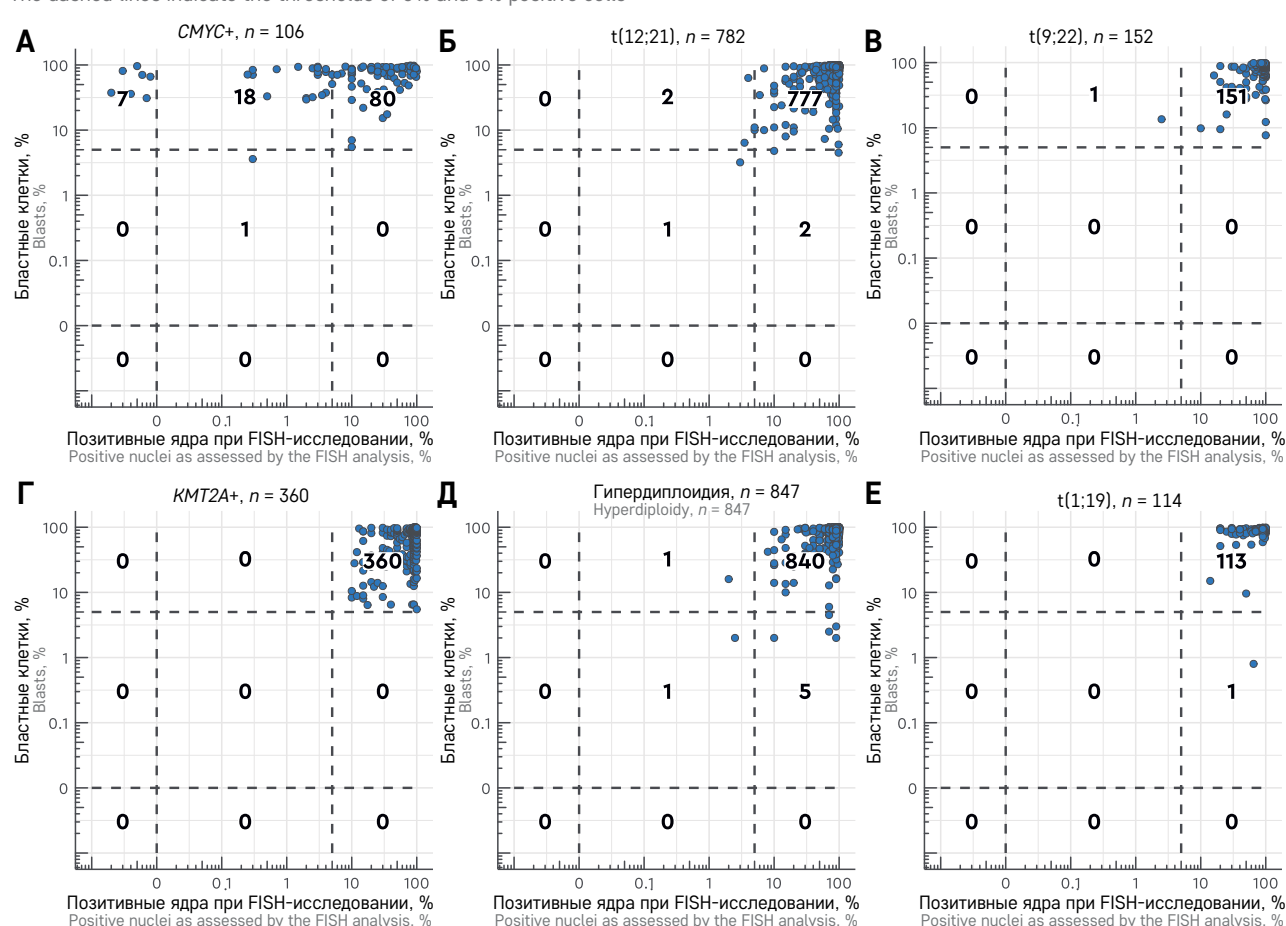
Рисунок 3

Сопоставление результатов определения содержания бластных клеток при морфологическом исследовании и позитивных ядер при исследовании методом FISH у пациентов с перестройкой гена *MYC* (А), $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ (Б), $t(9;22)(q34;q11)/BCR::ABL1$ (В), перестройкой гена *KMT2A* (Г), высокой гипердиплоидией (Д) и $t(1;19)(q23;p13)/TCF3::PBX1$ (Е)

Пунктирными линиями обозначен порог 0% и 5% позитивных клеток

Figure 3

A comparison of the percentage of blast cells determined by morphology analysis with the percentage of positive nuclei detected by FISH in the patients with *MYC* gene rearrangements (А), $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ (Б), $t(9;22)(q34;q11)/BCR::ABL1$ (В), *KMT2A* gene rearrangements (Г), high hyperdiploidy (Д), or $t(1;19)(q23;p13)/TCF3::PBX1$ (Е)



жанием бластных клеток, во всех случаях было информативно, и проценты бластных клеток и *MYC*-позитивных ядер в значительной степени коррелировали.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Патогенез ЛБ определяется эктопической экспрессией гена *MYC*. Данный ген кодирует многофункциональный транскрипционный фактор *MYC*, необходимый для регуляции клеточной пролиферации, дифференцировки и апоптоза. В норме *MYC* активно экспрессируется незрелыми В-клетками, по мере дифференцировки уровень его экспрессии снижается, вызывая остановку пролиферации [21, 22]. Экспрессия *MYC* строго контролируется как на уровне транскрипции, так и на уровне трансляции [23, 24]. Так, белок BCL6 в норме подавляет экспрессию

гена *MYC*, и при выходе из герминативного центра в клетках памяти или незрелых плазмобластов экспрессия белка *MYC* не выявляется [7]. При возникновении хромосомных транслокаций $t(8;14)(q24;q32)/IGH::MYC$, реже $t(2;8)(p12;q24)/IGK::MYC$ либо $t(8;22)(q24;q11)/IGL::MYC$ кодирующая последовательность гена *MYC* попадает под влияние энхансеров локусов иммуноглобулинов, что является причиной быстрой пролиферации В-клеток и высокоагрессивного фенотипа опухоли [25].

Морфологически ЛБ характеризуется клетками преимущественно средних размеров с ярко выраженными цитоплазматическими вакуолями, резко базофильной цитоплазмой, вакуолизацией, которые отнесены к L3-варианту ОЛЛ по классификации FAB [10, 26, 27]. Гистологически ЛБ демонстрирует вид «звездного неба» (макрофаги с обломками ядер в цитоплазме) и характеризуется диффузным ростом

Рисунок 4

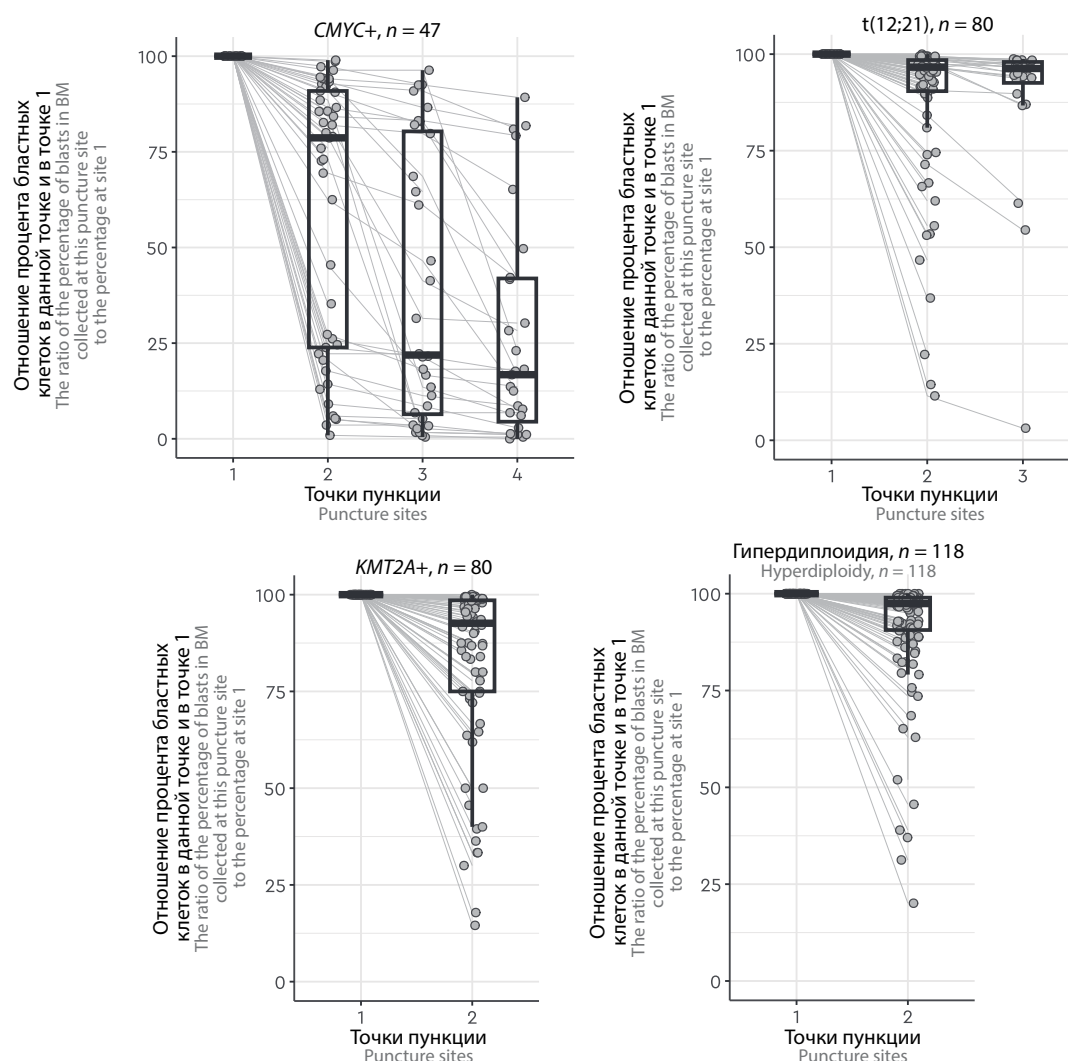
Сопоставление результатов определения процента бластных клеток, выявляемых при морфологическом исследовании в различных точках пункции, у пациентов с перестройкой гена *MYC* (А), *t*(12;21)(p13;q22)/*ETV6::RUNX1* (Б), перестройкой гена *KMT2A* (В), высокой гипердиплоидией (Г)

Точки пункции были ранжированы по содержанию патологических клеток от самого большого (точка 1) к самому маленькому (точка 4), результаты представлены в виде отношения процента бластных клеток в данной точке пункции к точке пункции с наибольшим содержанием бластных клеток (точка 1)

Figure 4

A comparison of the percentage of blast cells determined by morphology analysis at different puncture sites in the patients with *MYC* gene rearrangements (A), *t*(12;21)(p13;q22)/*ETV6::RUNX1* (Б), *KMT2A* gene rearrangements (В), or high hyperdiploidy (Г)

Puncture sites were ranked according to the content of abnormal cells from highest (site 1) to lowest (site 4), with the results presented as the ratio of the percentage of blast cells in BM collected at a given puncture site to the highest content of blast cells (site 1)



мономорфных клеток среднего размера с округлыми ядрами, узким ободком базофильной цитоплазмы. Также наблюдаются высокие показатели как пролиферации, так и апоптотической гибели клеток [28]. При этом ВП-ОЛЛ и ОЛЛ из Т-линейных предшественников обычно имеют морфологию L1 и/или L2.

Имунофенотипически ЛБ отличается зрелый фенотип, характеризующийся экспрессией поверхностного иммуноглобулина класса М и пан-В-клеточных антигенов (BIV-вариант ОЛЛ по EGIL [11]). Существенными дополнительными маркерами являются высокий уровень CD58, Ki-67 и более высокий процент клеток в S-фазе клеточ-

ного цикла, что связано с агрессивным ростом ЛБ [9].

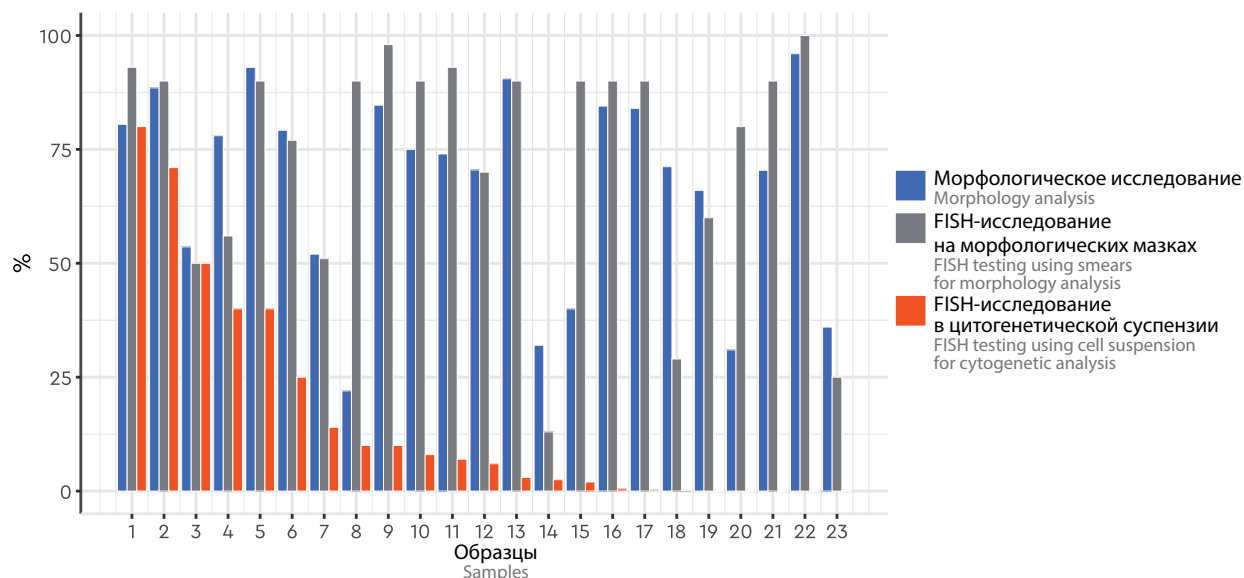
Однако данная триада диагностических признаков (*MYC*-позитивность по FISH, морфология L3 и иммунофенотип BIV) не всегда выполняется для всех случаев ЛБ и, напротив, известны случаи ВП-ОЛЛ, удовлетворяющие ряду диагностических критериев ЛБ. Так, среди случаев с экспрессией поверхностных иммуноглобулинов только 63% имеют перестройки гена *MYC* и 60% – морфологию L3 [12]. Хромосомные транслокации *t*(8;14)(q24;q32)/*IGH::MYC*, *t*(2;8)(p12;q24)/*IGK::MYC* и *t*(8;22)(q24;q11)/*IGL::MYC* были описаны в ряде случаев ВП-ОЛЛ [13, 29–31].

Рисунок 5

Сопоставление результатов определения процента бластных клеток, выявляемых при морфологическом исследовании (синие столбцы), с процентом *MYC*-позитивных клеток, определяемых методом FISH на морфологических мазках (серые столбцы) и в цитогенетической суспензии (красные столбцы)

Figure 5

A comparison of the percentage of blast cells determined by morphology analysis (the blue columns) with the percentage of *MYC*-positive cells detected by FISH using smears for morphology analysis (the grey columns) and cell suspension for cytogenetic analysis (the red columns)



Результаты настоящей работы подтверждают опубликованные ранее данные – среди случаев с морфологией L3 только 89,8% имели перестройки гена *MYC* и 73,2% – зрелый иммунофенотип с экспрессией поверхностных иммуноглобулинов (BIV по EGIL). При отрицательном статусе *MYC* и наличии других соматических клональных aberrаций пациенту должен быть установлен диагноз ВП-ОЛЛ (7,1% образцов с бластами L3). Несмотря на выявление морфологии L3, эти случаи не связаны с ЛБ, так как перестройки гена *MYC* являются диагностическими для данной патологии, следовательно, таким пациентам не показана терапия по протоколам, разработанным для зрелоклеточных лимфом.

Пациенты с отрицательным статусом *MYC* и отсутствием соматических клональных aberrаций (в нашем исследовании 3,1% образцов с бластами L3) оказываются в серой зоне генетической диагностики. В таких случаях диагноз ЛБ не может быть ни подтвержден, ни опровергнут с использованием рутинных методов анализа КМ. Ряд исследователей связывают это с высокой гетерогенностью локализации точек разрыва в гене *MYC* и кажущейся невозможностью обнаружения всех вариантов его перестроек методом FISH [32–34]. Действительно, большинство описанных точек разрыва хромосомного региона 8q24.21 лежит внутри гена *MYC* или в непосредственной близости от него, а в редких случаях они выявляются в downstream-области, в том числе удаленной, например, в гене *CCDC26* (рисунок 6).

Но несмотря на такую гетерогенность, современные ДНК-зонды для FISH способны уловить даже самые удаленные от *MYC* варианты точек разрыва региона 8q24.21 (рисунок 6). Таким образом, на наш взгляд, при расходящихся данных морфологического и цитогенетического исследований следует скорее иметь в виду различную представленность опухолевых клеток в диагностическом материале, чем редкие варианты локализации точек разрыва *MYC*.

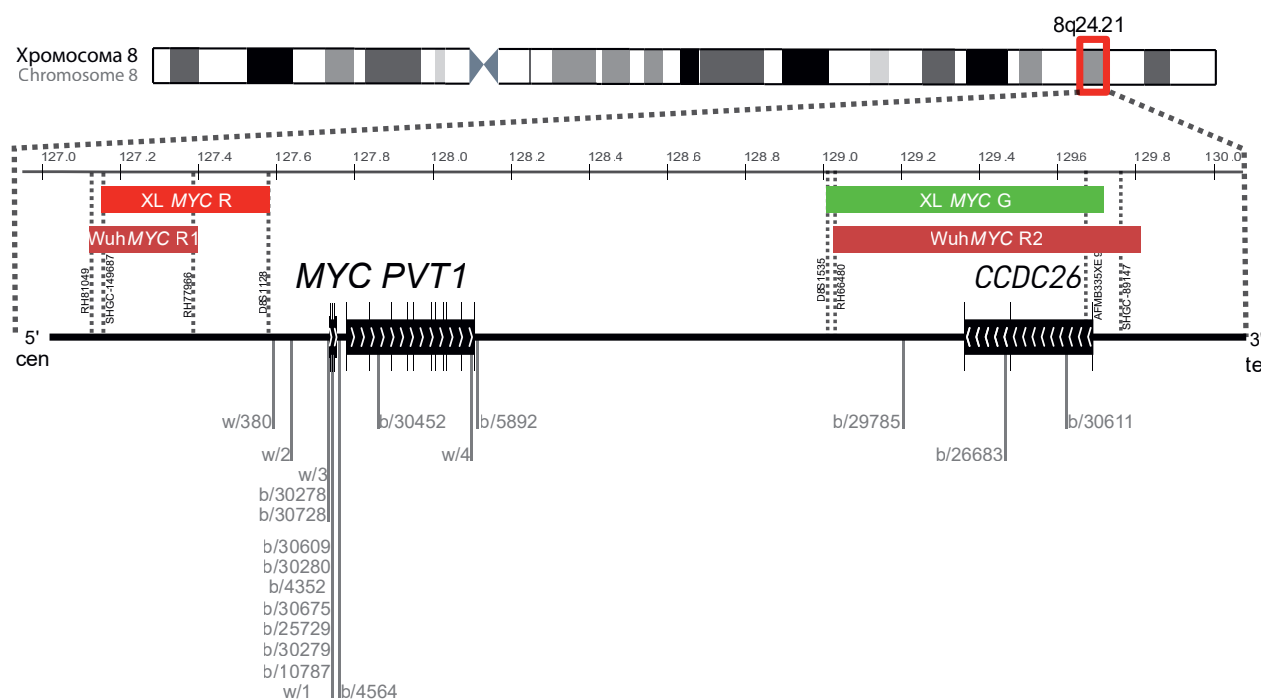
В настоящей работе мы показали, что одной из возможных причин расхождения между результатами морфологического и цитогенетического диагностических исследований является высокий разброс содержания бластных клеток в разных точках пункции у *MYC*-позитивных образцов (рисунок 4А). Как следствие, возможны сильное расхождение в результатах оценки количества патологических клеток при морфологическом исследовании и исследовании методом FISH (рисунок 3А) и ложнонегативный результат генетического определения перестройки *MYC*, связанный с малым содержанием патологических клеток в цитогенетическом диагностическом образце (рисунок 5). Это может быть связано с очаговым поражением КМ, что характерно для метастатической ЛБ, а также с тем, что вопреки многократно прописанным правилам на цитогенетическое исследование берется последняя, сильно разведенная периферической кровью порция КМ. Напротив, для В-линейных ОЛЛ (с характерной морфологией L1/L2) наблюдаются незначительные

Рисунок 6

Схема расположения точек разрыва хромосомного региона 8q24.21 у пациентов с *MYC*-позитивным ВП-ОЛЛ, описанных R. Wagener и соавт. [31] (w), S. Bomken и соавт. [13] (b). Приведены гены *MYC* (NG_007161.2), *PVT1* (NC_000008.11 127794524..128101256), *CCDC26* (NC_000008.11 129351694..129680239). Геномные координаты представлены согласно геномной сборке GRCh38. Также приведены FISH-пробы XL *MYC* Break Apart Probe (Metasystems GmbH, ФРГ), Wuhan HealthCare Biotechnology *MYC/IGH* t(8;14) Gene Fusion Probe (Wuhan HealthCare Biotechnology, KHP) с указанием фланкирующих STS-маркеров

Figure 6

A schematic representation of the locations of breakpoints in the 8q24.21 chromosomal region in the patients with *MYC*-positive B cell precursor ALL described by R. Wagener et al. [31] (w), S. Bomken et al. [13] (b). The diagram shows the *MYC* (NG_007161.2), *PVT1* (NC_000008.11 127794524..128101256), *CCDC26* (NC_000008.11 129351694..129680239) genes. Genomic coordinates are given according to the GRCh38 genome assembly. The XL *MYC* Break Apart FISH Probe (Metasystems GmbH, Germany) and the Wuhan HealthCare Biotechnology *MYC/IGH* t(8;14) Gene Fusion Probe (Wuhan HealthCare Biotechnology, China) with indicated flanking STS markers are also displayed in the diagram



отличия по проценту бластов в зависимости от точки пункции КМ (рисунки 4Б–Г) и совпадение количественной оценки содержания патологических клеток при морфологическом исследовании и исследовании методом FISH (рисунки 3Б–Е). Истинное содержание бластных клеток в образцах, предоставляемых на цитогенетическое исследование, как правило, неизвестно, что не влияет на рутинную генетическую диагностику ВП-ОЛЛ, однако может иметь существенное значение в *MYC*-позитивных случаях.

Таким образом, при расходящихся результатах морфологического и цитогенетического исследований мы рекомендуем проводить исследование на морфологических мазках с доказанным бластозом с морфологией L3, а также обязательно учитывать клиническую картину заболевания (наличие нодальных и экстранодальных очагов поражения, возраст, уровень лактатдегидрогеназы).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ключевым фактором, определяющим диагноз и терапевтическую тактику ВП-ОЛЛ и ЛБ, явля-

ется статус гена *MYC*. L3-морфология бластных клеток ассоциирована с перестройками гена *MYC* в 89,8% случаев, данная ассоциация не абсолютна. В 7,1% случаев с L3-морфологией перестройки *MYC* не выявляются, а определяются другие хромосомные aberrации, характерные для ВП-ОЛЛ. Преобладающим иммуновариантом среди *MYC*-негативных образцов с морфологией L3 является BII, для *MYC*-позитивных – BIV. Также в 0,1% случаев были выявлены случаи *MYC*-позитивности при L1-/L2-морфологии (2 пациента, оба имели *IGH::MYC* в сочетании с *IGH::BCL2*). Поскольку разброс содержания патологических клеток в разных точках пункции более выражен у *MYC*-позитивных образцов, чем у *MYC*-негативных, возможны ложнонегативные результаты цитогенетического исследования. Таким образом, при наличии морфологии L3 и/или иммуноварианта BIV и отрицательном статусе *MYC* необходимо повторить цитогенетическое исследование диагностического материала с известным количеством бластных клеток, определенным морфологически или иммунологически.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено при поддержке фонда «Наука – детям».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Konyukhova T.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6271-7435>
Gezik P.A. ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-4002-9678>
Soldatkina O.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7755-0228>
Kozeev V.A. ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-5464-3818>
Kazakova A.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1085-4646>
Popov A.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0889-6986>
Plyasunova S.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4503-0735>
Myakova N.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4779-1896>
Olshanskaya Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2352-7716>
Rumyantseva Yu.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9670-3728>
Zerkalnikova E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9634-5828>

Литература / References

- Arber D.A., Orazi A., Hasserjian R., Thiele J., Borowitz M.J., Le Beau M.M., et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; 127 (20): 2391–405.
- de Leval L., Jaffe E.S. Lymphoma Classification. *Cancer J* 2020; 26 (3): 176–85.
- Swerdlow S.H., Campo E., Pileri S.A., Harris N.L., Stein H., Siebert R., et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016; 127 (20): 2375–90.
- Kelemen K., Brazier R.M., Gatter K., Bakke T.C., Olson S., Fan G. Immunophenotypic variations of Burkitt lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2010; 134 (1): 127–38.
- Blum K.A., Lozanski G., Byrd J.C. Adult Burkitt leukemia and lymphoma. *Blood* 2004; 104 (10): 3009–20.
- Мякова Н.В., Масчан А.А., Румянцев А.Г. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфомы Ходжкина (лимфогранулематоз). *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2016; 2 (4): 79–90. [Myakova N.V., Maschan A.A., Rumyantsev A.G. Federal guidelines for the diagnosis and treatment of Hodgkin's lymphoma (Lymphogranulomatosis). *Russian Journal of Children Hematology and Oncology* 2016; 2 (4): 79–90. (In Russ.)].
- Nguyen L., Papenhausen P., Shao H. The Role of *c-MYC* in B-Cell Lymphomas: Diagnostic and Molecular Aspects. *Genes (Basel)* 2017; 8 (4): 116.
- Валиев Т.Т., Барях Е.А., Зейналова П.А., Ковригина А.М., Кравченко С.К., Обухова Т.Н. и др. Оптимизация диагностики и лечения лимфомы Беркитта у детей, подростков и молодых взрослых. *Клиническая онкогематология* 2014; 7 (2): 175–83. [Valiyev T.T., Baryakh Ye.A., Zeynalova P.A., Kovrigina A.M., Kravchenko S.K., Obukhova T.N., et al. Optimization of diagnosis and treatment of Burkitt's lymphoma in children, adolescents, and young adults. *Russian Journal of Children Hematology and Oncology* 2014; 7 (2): 175–83. (In Russ.)].
- Demina I., Voropayev A., Semchenkova A., Zerkalnikova E., Olshanskaya Y., Samochatova E., et al. Additional flow cytometric studies for differential diagnosis between Burkitt lymphoma/leukemia and B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res* 2021; 100: 106491.
- Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T., Flandrin G., Galton D.A., Gralnick H.R., et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 1976; 33 (4): 451–8.
- Bene M.C., Castoldi G., Knapp W., Ludwig W.D., Matutes E., Orfao A., et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995; 9 (10): 1783–6.
- Дёмина И.А., Вержбицкая Т.Ю., Кашпор С.А., Байдун Л.В., Конюхова Т.В., Плясунова С.А. и др. Гетерогенность В-клеточного острого лимфобластного лейкоза (BIV-иммуновариант) у детей. *Онкогематология* 2018; 12 (4): 34–40. [Demina I.A., Verzhbitskaya T.Y., Kashpor S.A., Baidun L.V., Koniuhova T.V., Plyasunova S.A., et al. Heterogeneity of Childhood B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia (EgIL Subtype Biv). *Oncohematology* 2018; 12 (4): 34–40. (In Russ.)].
- Bomken S., Enshaeh A., Schwalbe E.C., Mikulasova A., Dai Y., Zaka M., et al. Molecular characterization and clinical outcome of B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with IG-MYC rearrangement. *Haematologica* 2023; 108 (3): 717–31.
- Demina I., Zerkalnikova E., Zhogov V., Lagoyko S., Semchenkova A., Dubrovina M., et al. The use of additional immunophenotypic criteria for the differential diagnosis of Burkitt lymphoma/leukemia: An exemplary case report. *Leuk Res* 2021; 110: 106662.
- Дёмина И.А., Илларионова О.И., Вержбицкая Т.Ю., Цаур Г.А., Русанова Е.Б., Горчакова М.В. и др. Редкие случаи расхождения лабораторных признаков при диагностике лимфомы Беркитта у детей. *Онкогематология* 2018; 13 (3): 76–82. [Demina I.A., Illarionova O.I., Verzhbitskaya T.Y., Tsaur G.A., Rusanova E.B., Gorchakova M.V., et al. Rare cases of laboratory tests discrepancies in diagnostics of pediatric Burkitt lymphoma/leukemia. *Oncohematology* 2018; 13 (3): 76–82. (In Russ.)].
- Дёмина И.А., Вержбицкая Т.Ю., Кашпор С.А., Плясунова С.А., Дубровина М.Э. и др. Иммунофенотипическая характеристика опухолевых клеток в костном мозге при лимфоме/лейкозе Беркитта: возможности дифференциальной диагностики с острым лимфобластным лейкозом. *Онкогематология* 2017; 12 (1): 55–61. [Demina I.A., Verzhbitskaya T.Y., Kashpor S.A., Plyasunova S.A., Dubrovina M.E., et al. Immunophenotypic characteristics of tumor cells in the bone marrow in Burkitt lymphoma/leukemia: possibilities of differential diagnosis with acute lymphoblastic leukemia. *Oncohematology* 2017; 12 (1): 55–61. (In Russ.)].

- Fechina L.G., et al., Immunophenotypic features of bone marrow tumor cell in Burkitt lymphoma/leukemia: B-lineage acute lymphoblastic leukemia diagnostics opportunities. *Oncohematology* 2017; 12 (1): 55–61. [In Russ.]].
17. Попов А.М., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Л.В., Дёмина И.А., Михайлова Е.В., Семченкова А.А. и др. Диагностическое иммунофенотипирование острых лейкозов. Рекомендации российско-белорусской кооперативной группы по диагностике острых лейкозов у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2023; 22 (1): 165–77. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-165-177 [Popov A.M., Verzhbitskaya T.Y., Movchan L.V., Demina I.A., Mikhailova E.V., Semchenkova A.A., et al. Flow cytometry in acute leukemia diagnostics. Guidelines of Russian-Belarusian multicenter group for pediatric leukemia studies. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2023; 22 (1): 165–77. [In Russ.]].
 18. Alaggio R., Amador C., Anagnostopoulos I., Attygalle A.D., Araujo I.B.O., Berti E., et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia* 2022; 36 (7): 1720–48.
 19. Цаур Г.А., Ольшанская Ю.В., Обухова Т.Н., Судариков А.Б., Лазарева О.В., Гиндина Т.Л. Цитогенетическая и молекулярно-генетическая диагностика онкогематологических заболеваний: позиция Организации молекулярных генетиков в онкологии и онкогематологии. *Гематология и трансфузиология* 2023; 68 (1): 129–43. DOI: 10.35754/0234-5730-2023-68-1-129-143 [Tsaur G.A., Olshanskaya Y.V., Obukhova T.N., Sudarikov A.B., Lazareva O.V., Gindina T.L. Cytogenetic and molecular genetic diagnostics in oncohematological disorders: a position paper of the Organization of Molecular Geneticists in Oncology and Oncohematology. *Russian journal of hematology and transfusiology* 2023; 68 (1): 129–43. [In Russ.]].
 20. ISCN 2020: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2020). *Cytogenetic and Genome Research* 2020; 160 (7–8): 341–503.
 21. Lin C.Y., Loven J., Rahl P.B., Paranal R.M., Burge C.B., Bradner J.E., et al. Transcriptional amplification in tumor cells with elevated c-Myc. *Cell* 2012; 151 (1): 56–67.
 22. Nie Z., Hu G., Wei G., Cui K., Yamane A., Resch W., et al. c-Myc is a universal amplifier of expressed genes in lymphocytes and embryonic stem cells. *Cell* 2012; 151 (1): 68–79.
 23. Knoepfler P.S. Myc goes global: New tricks for an old oncogene. *Cancer Res* 2007; 67: 5061–3.
 24. Seegmiller A.C., Garcia R., Huang R., Maleki A., Karandikar N.J., Chen W. Simple karyotype and bcl-6 expression predict a diagnosis of Burkitt lymphoma and better survival in IG-MYC rearranged high-grade B-cell lymphomas. *Mod Pathol* 2010; 23 (7): 909–20.
 25. Schmitz R., Ceribelli M., Pittaluga S., Wright G., Staudt L.M. Oncogenic mechanisms in Burkitt lymphoma. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2014; 4 (2): a014282.
 26. Kulis J., Sedek L., Slota L., Perkowski B., Szczepanski T. Commonly Assessed Markers in Childhood BCP-ALL Diagnostic Panels and Their Association with Genetic Aberrations and Outcome Prediction. *Genes (Basel)* 2022; 13 (8): 1374.
 27. Li S., Lew G. Is B-Lineage Acute Lymphoblastic Leukemia With a Mature Phenotype and L1 Morphology a Precursor B-Lymphoblastic Leukemia/Lymphoma or Burkitt Leukemia/Lymphoma? *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127: 1340–4.
 28. Hassan R., Felisbino F., Stefanoff C.G., Pires V., Klumb C.E., Dobbin J., et al. Burkitt lymphoma/leukaemia transformed from a precursor B cell: clinical and molecular aspects. *Eur J Haematol* 2008; 80 (3): 265–70.
 29. Borkhardt A., Henze G. B-cell precursor leukemias with MYC-rearrangement come into the limelight. *Haematologica* 2023; 108 (3): 659–60.
 30. Li Y., Gupta G., Molofsky A., Xie Y., Shihabi N., McCormick J., et al. B Lymphoblastic Leukemia/Lymphoma with Burkitt-like Morphology and IGH/MYC Rearrangement: Report of 3 Cases in Adult Patients. *Am J Surg Pathol* 2018; 42 (2): 269–76.
 31. Wagener R., Lopez C., Kleinheinz K., Bausinger J., Aukema S.M., Nagel I., et al. IG-MYC (+) neoplasms with precursor B-cell phenotype are molecularly distinct from Burkitt lymphomas. *Blood* 2018; 132 (21): 2280–5.
 32. King R.L., McPhail E.D., Meyer R.G., Vasmatzis G., Pearce K., Smadbeck J.B., et al. False-negative rates for MYC fluorescence *in situ* hybridization probes in B-cell neoplasms. *Haematologica* 2019; 104 (6): e248–51.
 33. Peterson J.F., Pitel B.A., Smoley S.A., Vasmatzis G., Smadbeck J.B., Greipp P.T., et al. Elucidating a false-negative MYC break-apart fluorescence *in situ* hybridization probe study by next-generation sequencing in a patient with high-grade B-cell lymphoma with IGH/MYC and IGH/BCL2 rearrangements. *Cold Spring Harb Mol Case Stud* 2019; 5 (3): a004077.
 34. Sharma P., Singal S., Costello P., Krishnan K. Burkitt lymphoma: interpreting FISH testing for MYC gene rearrangements. *BMJ Case Rep* 2022; 15 (2): e246687.