



La citogenetica come ausilio diagnostico e prognostico nei linfomi Non-Hodgkin a cellule B

Approvato dal Gruppo di Studio sulla Patologia Molecolare

A cura di: Laura Casorzo

Coordinatori: Francia di Celle Paola, Venesio Tiziana

Partecipanti:

Cappia Susanna, Casorzo Laura, Di Benedetto Massimo, Falcone Patrizia Agnese, Giugliano Emilia, Giustetto Doriana, Maffè Antonella, Mariani Sara, Orecchia Sara, Pegoraro Fabiola, Rapa Ida, Saponaro Sara, Scaravaglio Patrizia, Scatolini Maria, Schillaci Francesca, Trisolini Elena, Veggiani Claudia, Verdun Di Cantogno Ludovica

**Rete Oncologica Piemonte – Valle d'Aosta
Gruppo di Studio Patologia Molecolare
3 ottobre 2019**

***La citogenetica come ausilio diagnostico e prognostico nei
linfomi Non-Hodgkin a cellule B***



Dr.ssa Laura Casorzo
**Laboratorio di Citogenetica Oncologica
IRCCS-Candiolo (TO)**



A cura di Laura Casorzo e condivisa dal Gruppo di Patologia Molecolare

Mature B-cell neoplasms

Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma	<i>Large B-cell lymphoma with IRF4 rearrangement</i> [±]
Monoclonal B-cell lymphocytosis	Primary cutaneous follicle center lymphoma
B-cell prolymphocytic leukemia	Mantle cell lymphoma
Splenic marginal zone lymphoma	In situ mantle cell neoplasia
Hairy cell leukemia	Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), NOS
<i>Splenic B-cell lymphoma/leukemia, unclassifiable</i>	Germinal center B-cell type
<i>Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma</i>	Activated B-cell type
<i>Hairy cell leukemia-variant</i>	T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma
Lymphoplasmacytic lymphoma	Primary DLBCL of the central nervous system (CNS)
Waldenström macroglobulinemia	Primary cutaneous DLBCL, leg type
Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS), IgM	EBV⁺ DLBCL, NOS
μ heavy-chain disease	EBV⁺ mucocutaneous ulcer
γ heavy-chain disease	DLBCL associated with chronic inflammation
α heavy-chain disease	Lymphomatoid granulomatosis
Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS), IgG/A	Primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma
Plasma cell myeloma	Intravascular large B-cell lymphoma
Solitary plasmacytoma of bone	ALK ⁺ large B-cell lymphoma
Extrasosseous plasmacytoma	Plasmablastic lymphoma
Monoclonal immunoglobulin deposition diseases	Primary effusion lymphoma
Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)	HHV8⁺ DLBCL, NOS
Nodal marginal zone lymphoma	Burkitt lymphoma
<i>Pediatric nodal marginal zone lymphoma</i>	Burkitt-like lymphoma with 11q aberration [±]
Follicular lymphoma	High-grade B-cell lymphoma, with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements [±]
In situ follicular neoplasia	High-grade B-cell lymphoma, NOS [±]
Duodenal-type follicular lymphoma	B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between DLBCL and classical Hodgkin lymphoma
Pediatric-type follicular lymphoma	

[Swerdlow SH et al. The 2016 revision of the WHO classification of lymphoid neoplasms. Blood. 2016 May 19;127(20):2375-90]

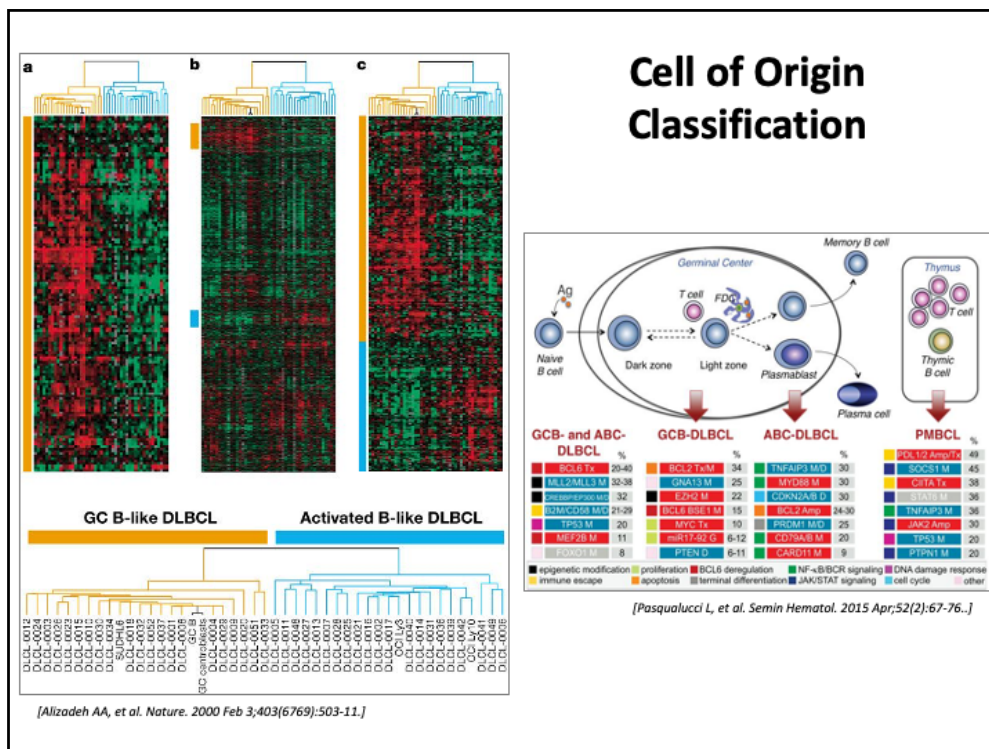
Classificazione delle neoplasie a cellule B mature secondo «The World Health Organization Classification of hematopoietic and lymphoid tumors» (2016).

Sebbene siano presenti pochi cambiamenti rispetto alla classificazione WHO-2008, l'attuale revisione incorpora un ampio spettro di informazioni accumulate nell'arco di 8 anni, con importanti implicazioni a livello diagnostico, prognostico e predittivo.

Sono evidenziate in rosso le entità nosologiche che presentano delle variazioni rispetto alla precedente Classificazione WHO (2008) e l'asterisco indica le patologie ove la Citogenetica e in particolare la FISH rivestono un ruolo essenziale nella pratica clinica.

Highlights of Changes in 2016 WHO Classification of B cell Lymphoma	
Large B-cell lymphoma with <i>IRF4</i> rearrangement	New provisional entity to distinguish from pediatric-type FL and other DLBCL.
Predominantly diffuse FL with 1p36 deletion	Accounts for some cases of diffuse FL, lacks <i>BCL2</i> rearrangement; presents as localized mass, often inguinal.
Mantle cell lymphoma (MCL)	<i>CCND2</i> rearrangements in approximately half of cyclin D1 ⁺ MCL.
Diffuse large B-cell lymphoma, NOS	<ul style="list-style-type: none"> Distinction of GCB vs ABC/non-GC type required with use of immunohistochemical algorithm acceptable, may affect therapy. Coexpression of <i>MYC</i> and <i>BCL2</i> considered new prognostic marker (double-expressor lymphoma).
	<ul style="list-style-type: none"> Mutational landscape better understood but clinical impact remains to be determined.
Burkitt-like lymphoma with 11q aberration	New provisional entity that closely resembles Burkitt lymphoma but lacks <i>MYC</i> rearrangement and has some other distinctive features.
High-grade B-cell lymphoma, with <i>MYC</i> and <i>BCL2</i> and/or <i>BCL6</i> translocations	New category for all "double-/triple-hit" lymphomas other than FL or lymphoblastic lymphomas.
High-grade B-cell lymphoma, NOS	<ul style="list-style-type: none"> Together with the new category for the "double-/triple-hit" lymphomas, replaces the 2008 category of B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between DLBCL and Burkitt lymphoma (BCLU). Includes blastoid-appearing large B-cell lymphomas and cases lacking <i>MYC</i> and <i>BCL2</i> or <i>BCL6</i>.

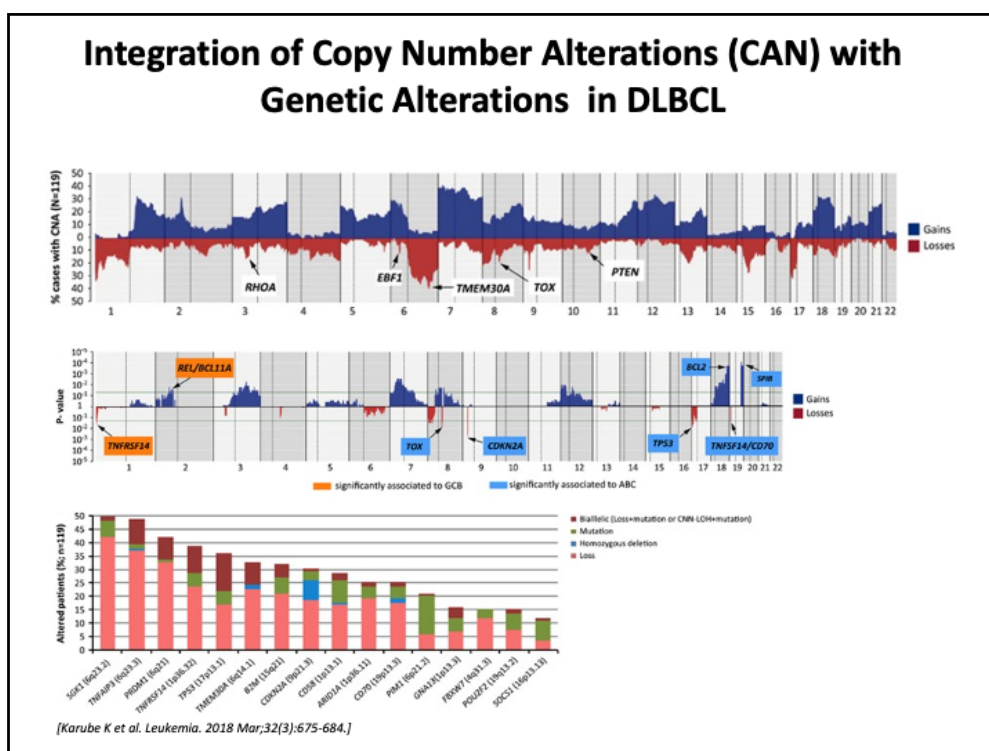
Sono introdotte nuove entità provvisorie, come il Linfoma a grandi cellule B con riarrangiamento del gene *IRF4* e il Linfoma Burkitt-like con aberrazioni 11q. Una nuova categoria di Linfomi a cellule B di alto grado con riarrangiamento dei geni *MYC*, *BCL2* e/o *BCL6* comprende le neoplasie linfoidi precedentemente definite come «double/triple hit». Quest'ultima, insieme alla categoria Linfomi di alto grado a cellule B - NOS, sostituisce la categoria definita «Linfomi non classificabili» del WHO-2008, raggruppando i Linfomi con caratteristiche intermedie tra DLBCL e Linfoma di Burkitt e tutti i Linfomi B a grandi cellule che non presentano riarrangiamento dei geni *MYC*, *BCL2* e/o *BCL6*.



In relazione ai Linfomi a grandi cellule B, caratterizzati da alta eterogeneità morfologica, genetica ed immunofenotipica, particolare attenzione viene posta sulla cellula di origine della neoplasia, se di origine dal centro germinativo (GC B-like DLBCL) o da cellule B attivate (ABC : Activated B-like DLBCL), secondo la storica classificazione riportata da Alizadeh nel 2000.

Slide (sinistra): Profilo di espressione genica in casi di DLBCL con l'identificazione di due sottogruppi di DLBC: GC B-like DLBCL (Giallo) and Activated B-like DLBCL (blue).

Slide (destra): Geni più frequentemente alterati nei GC B-like DLBCL e ABC-like DLBCL, che giocano un ruolo chiave nella patogenesi, nella progressione e nella risposta alla terapia dei due sottogruppi di linfomi.



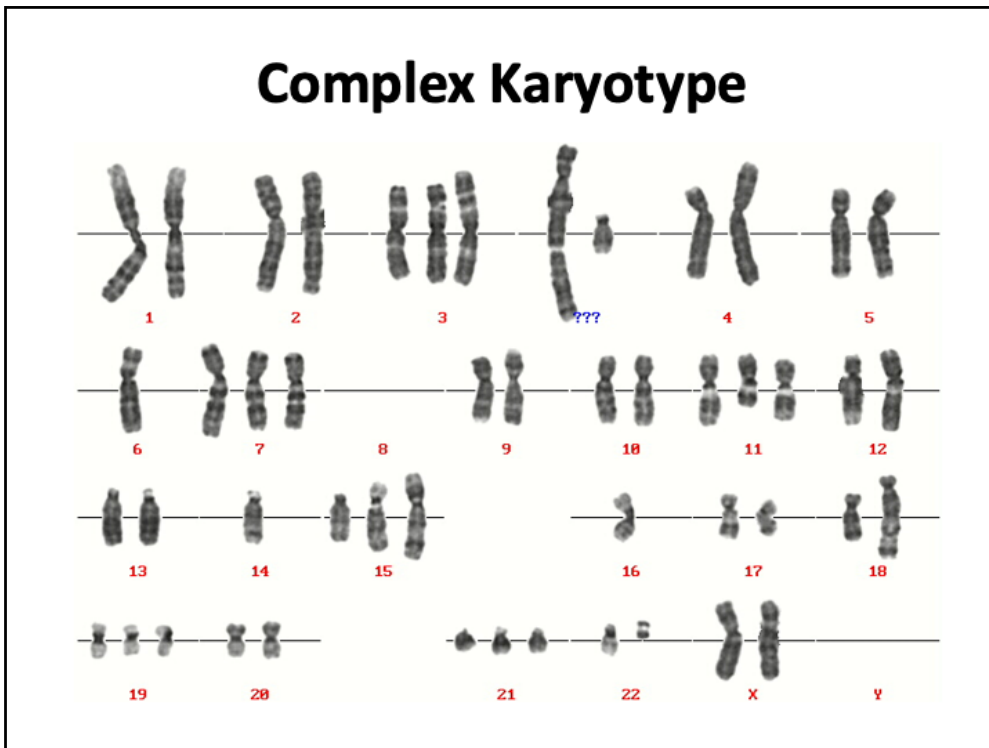
Alterazioni del numero di copie (CNA) in 119 DLBCLs e correlazione con altri tipi di variazioni genetiche.

In alto) Frequenza di CNA dal cromosoma 1 al 22 (bracci p e q). L'incremento del numero di copie è in blu, mentre la perdita in rosso. Sono indicati i geni coinvolti conseguentemente alle variazioni del numero di copie.

In mezzo) *Pattern* di CNA diversificati tra i due sottotipi di DLBCL : ABC (riquadri azzurri) and GCB (riquadri arancione).

In basso) Il grafico rappresenta la frequenza di mutazioni e di CNA per ciascun gene determinate con tecnica NGS. Le alterazioni geniche sono suddivise in quattro gruppi: Mutazioni, Delezioni in omozigosi, Perdita di un allele e Inattivazione biallelica (perdita + mutazione).

Complex Karyotype



L'estrema eterogeneità genetica dei DLBCL è strettamente correlata a profonde alterazioni dell'assetto cromosomico, che comprendono sia anomalie di numero sia strutturali. Tra queste ultime sono altamente rappresentate le traslocazioni cromosomiche.

Esempio di cariotipo complesso in un caso di DLBCL. Cariotipo iperdiploide.

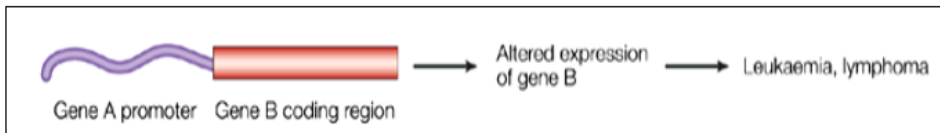
Chromosomal Translocations and Genes in DLBCL

Translocation	Genes	Frequency
t(3;v)(q27;v)	<i>BCL6</i> and other partners; <i>IGH</i> most common	30–40%
t(14;18)(q32;q21)	<i>IGH</i> and <i>BCL2</i>	20–30%
t(8;v)(q24;v)	<i>MYC</i> ; <i>IGH</i> most common partner; <i>IGK</i> or <i>IGL</i> ~10%; also non- <i>IG</i> partners	~10%
inv(3q)	<i>TBL1XR1-TP63</i>	~5%
t(6;v)(p25.3;v)	<i>IRF4</i> with <i>IG</i> ; usually <i>IGH</i> but rarely <i>IGK</i> or <i>IGL</i>	4–5%
t(14;16)(q32;q24.1)	<i>IGH</i> and <i>IRF8</i>	2–3%
t(5;14)(q33;q32)	<i>EBF1</i> and <i>IGH</i>	1–2%
t(14;17)(q32;p13.1)	<i>IGH</i> and <i>TNFRSF13</i>	1–2%
t(9;14)(p13;q32)	<i>PAX5</i> and <i>IGH</i>	1%

Tra le traslocazioni cromosomiche più frequenti nei DLBCL sono quelle coinvolgenti i geni *IGH* (meno frequentemente *IGK*, *IGL*), *BCL2*, *BCL6*, *MYC*, *IRF4*.

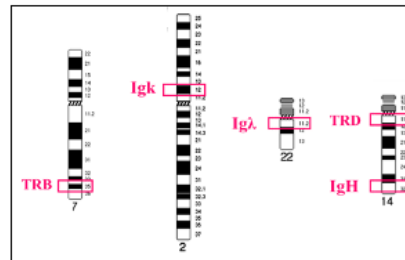
In tabella sono riportati il tipo di traslocazione, i geni coinvolti e la frequenza.

Chromosome Translocations in Lymphoma



An intact oncogene is juxtaposed with the promoter/enhancer of an antigen receptor gene.

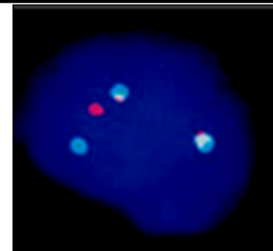
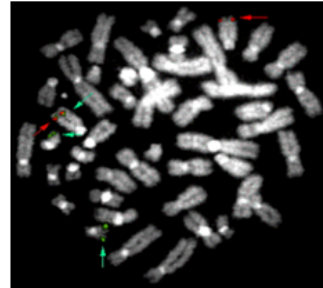
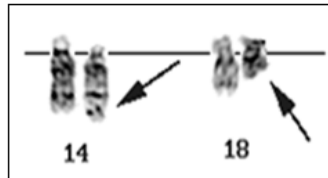
The oncogene becomes transcriptionally deregulated.



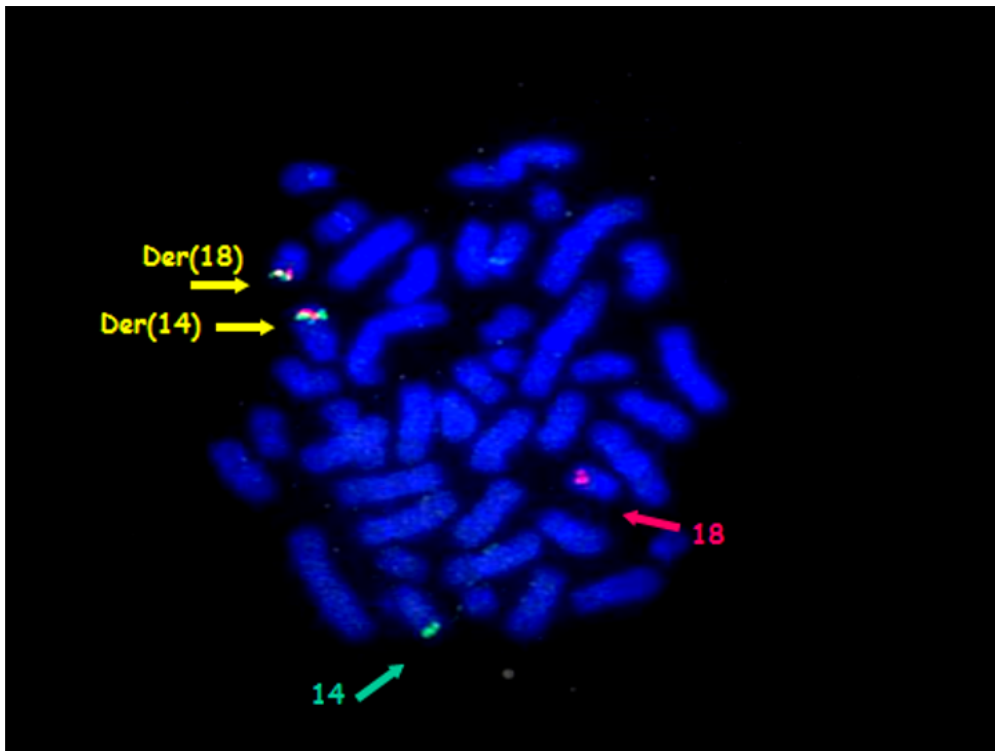
La tipologia di traslocazione più rappresentativa nei linfomi è quella che determina una rilocalizzazione di un oncogene nelle vicinanze dell' enhancer del gene delle Immunoglobuline o dei recettori delle cellule T (*IGH, IGL, IGK, TCR*), tale per cui la trascrizione dell'oncogene risulta completamente deregolata.

t(14;18)(q32.3;q21)

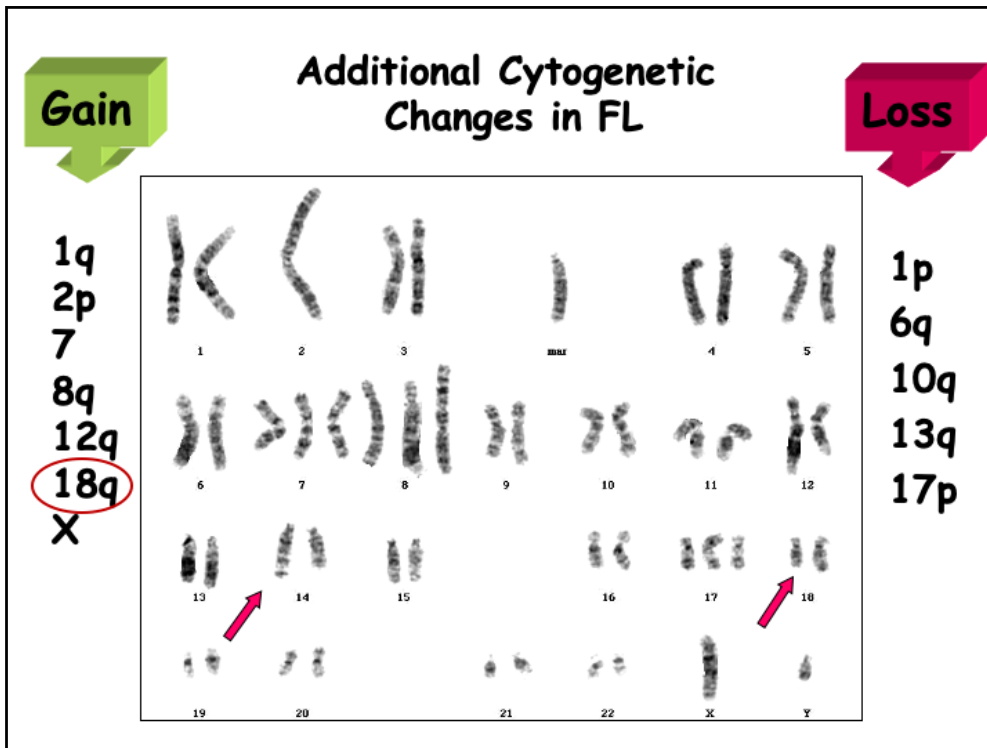
- 80-90% FL (G. 1, 2, 3A)
- 20-30% DLCL (usually GBC)
- Additional Anomalies:
+7 +8, +12, del(6q),
del(17p), t(8;14)



La traslocazione t(14;18)(q32.3;q21) è presente nella maggior parte dei linfomi follicolari e in un terzo circa dei casi di DLBCL. La traslocazione da sola non è in grado di generare la neoplasia, per la cui iniziazione e progressione sono necessarie altre anomalie genetiche addizionali. Dal punto di vista cromosomico, le più frequenti sono la trisomia dei cromosomi 7, 8, 12, e la delezione 6q. Negli stadi più avanzati della patologia possono essere presenti la traslocazione t(8;14) e la delezione 17p13.1 con perdita del gene *TP53*.

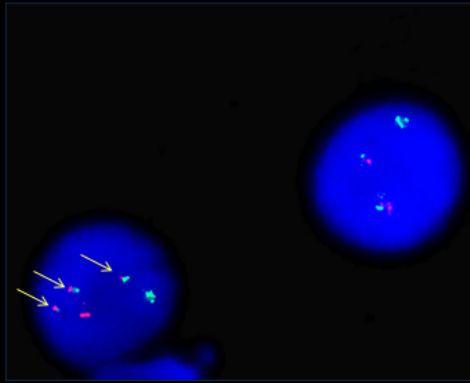


FISH su metafase con sonde Dual Color Dual Fusion specifiche per il gene *IGH* (14q32.3) e il gene *BCL2* (18q21). Sono presenti due segnali di fusione sui cromosomi 14 e 18 derivativi e due segnali normali sul cromosoma 14 e sul cromosoma 18 non coinvolti nella traslocazione.

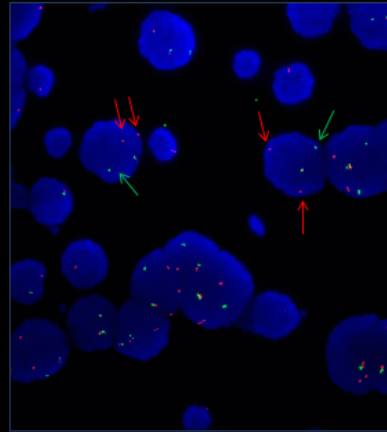
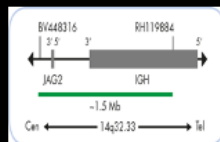
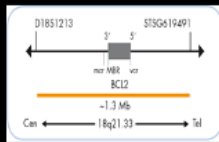


Cariotipo complesso in paziente con Linfoma follicolare in stadio 3A. A fianco del cariotipo sono indicate le aberrazioni cromosomiche più frequenti che accompagnano la progressione verso gli stadi più avanzati della patologia.

+der(18) t(14;18)



Dual Fusion Dual Color Probe



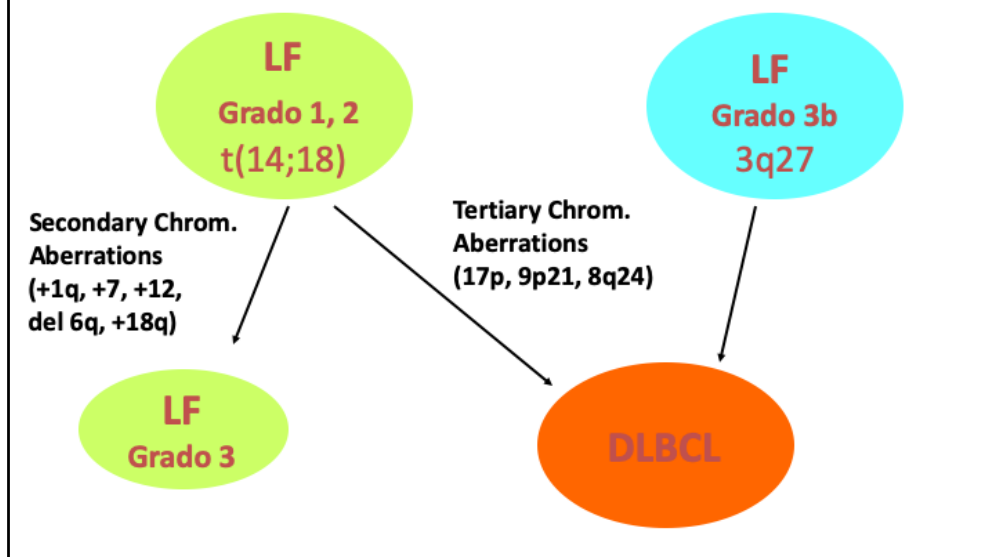
Break Apart Probe



FISH su nuclei in interfase con sonde specifiche per *IGH* e *BCL2* (a sinistra) e con sonde specifiche per *IGH* e *BCL2* (a destra) .

Pattern di segnali alternativo per la presenza di un doppio cromosoma 18 derivativo della traslocazione t(14;18)(q32.3;q21).

Clonal Evolution in t(14;18) Positive FL

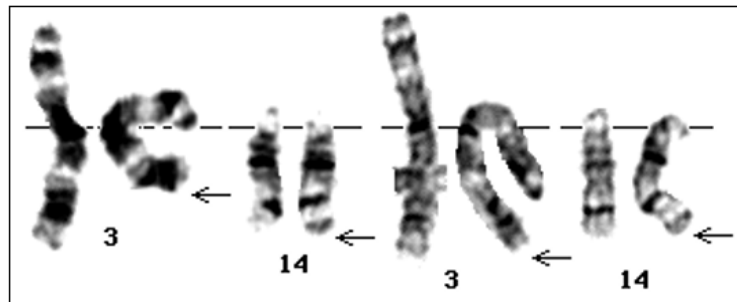
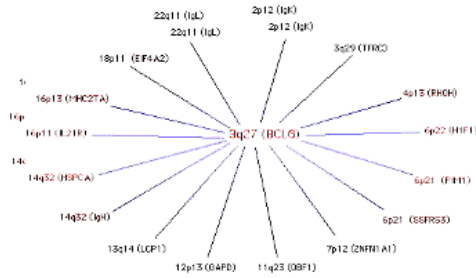


Possibili vie di evoluzione del cariotipo da linfoma follicolare con traslocazione t(14;18)(q32.3;q21) di grado 1, 2 a linfoma di grado 3A/3B, con acquisizione di aberrazioni secondarie e terziarie.

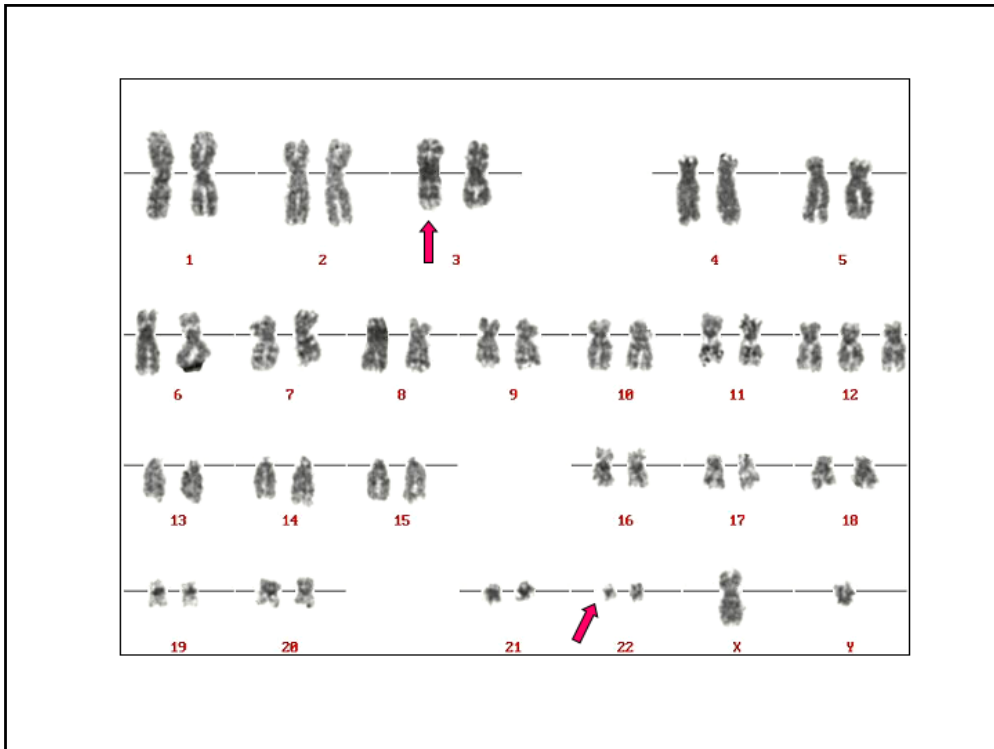
Meno frequentemente, in casi di linfoma follicolare di grado 3 non è presente la traslocazione t(14;18)(q32.3;q21), ma una traslocazione/riarrangiamento del gene *BCL6* (3q27).

Alterations deregulating *BCL6* (3q27)

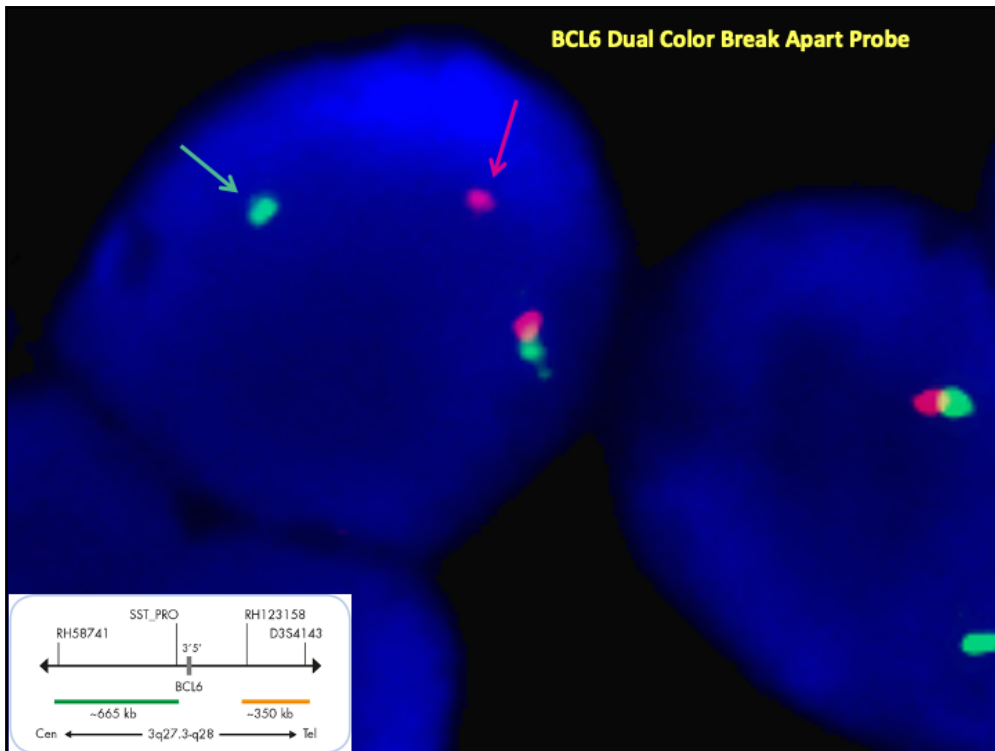
- Chromosomal rearrangements in 35% of DLBCL (ABC subtype)
- *BCL6* 5' Mutations in 70% of DLBCL (GCB subtype)



BCL6 è un gene promiscuo, avendo molteplici geni *partner*. Risulta coinvolto in traslocazioni nel 35% dei casi di DLBCL del sottotipo ABC, mentre è mutato nel 70% dei casi di DLBCL del sottotipo GCB.



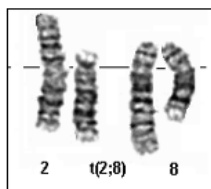
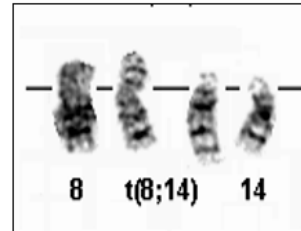
Cariotipo in un caso di DLBCL con traslocazione $t(3;22)$ e riarrangiamento *IGL/BCL6*.



FISH su nuclei in interfase con sonda Break Apart specifica per il gene *BCL6*.

t(8;14)(q24;q32)

- **Burkitt lymphoma (85%)**
- **Burkitt-like lymphoma (25%)**
- **5-15% DLBCL**
- **Secondary event in FL**
- **Variant Translocations**



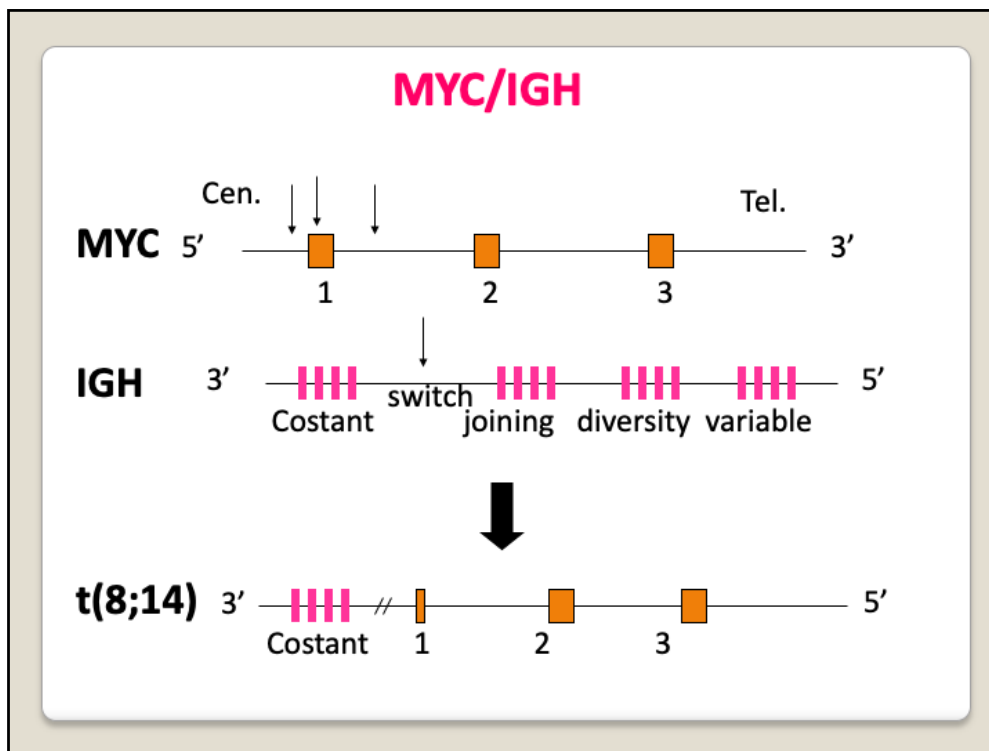
**t(2;8)(p12;q24)
(10%)**



**t(8;22)(q24;q11)
(5%)**

La traslocazione t(8;14)(q24;q32) con riarrangiamento *IGH/MYC* è stata la prima traslocazione associata ad uno specifico tipo di linfoma, il linfoma di Burkitt.

Esistono traslocazioni alternative che coinvolgono i geni delle catene leggere *IGK* e *IGL*.



Rappresentazione schematica della traslocazione t(8;14)(q24;q32) con relativi punti di rottura.

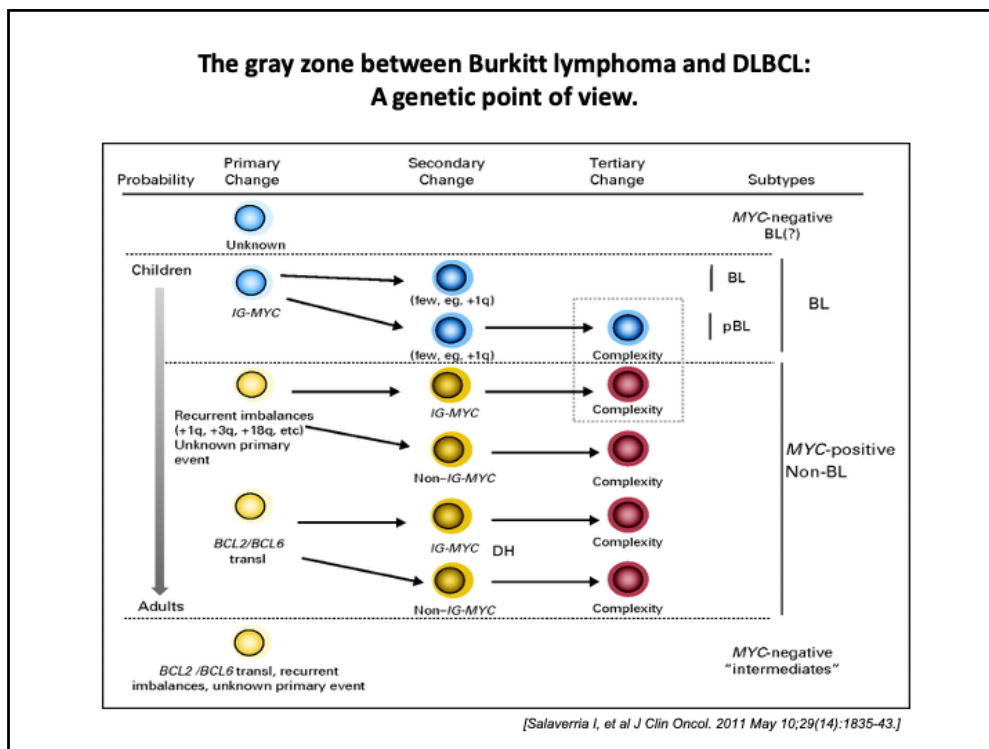
Pathogenic Heterogeneity of MYC-associated lymphoid tumors

	DLBCL	BL	BCL-U
Main mechanism of MYC dysregulation	Translocation + amplification	Translocation	Translocation
MYC translocation	5% to 14%	90% to 100%	35% to 50%
MYC gain/amplification	21% to 38%	Very rare	No data
Translocation partners of MYC	Often non-IG(35-53%)	IG (100%)	Often non-IG(38%)
Concurrent <i>BCL2</i> rearrangement	Frequent (58% to 83%)	0%	47%
Karyotype	Complex	Simple	Complex
MYC expression	29% to 47%	100%	35%

[Karube K, Campo E. *Semin Hematol.* 2015 Apr;52(2):97-106.]

Esiste una eterogeneità per quanto riguarda la patogenesi dei linfomi associati ad alterazioni del gene *MYC*. Oltre ad essere presente nella quasi totalità dei linfomi di Burkitt, il riarrangiamento di *MYC* è stato riscontrato anche in percentuali variabili di linfomi diffusi a grandi cellule B e in un gruppo di linfomi con caratteristiche morfologiche intermedie tra DLBCL e Linfoma di Burkitt (BCL-U).

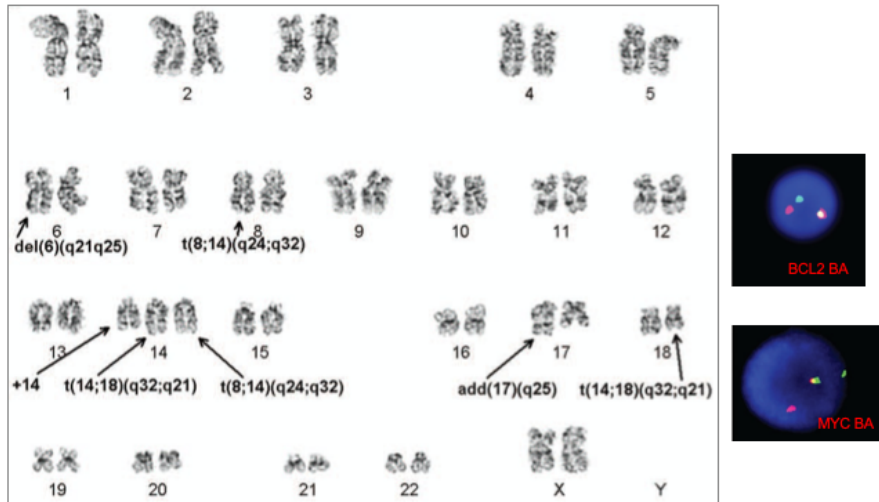
In tabella sono riportati le tipologie di riarrangiamento, le caratteristiche del cariotipo, la concomitanza di riarrangiamento di *BCL2* e loro frequenza nelle diverse tipologie di linfoma con riarrangiamento del gene *MYC*.



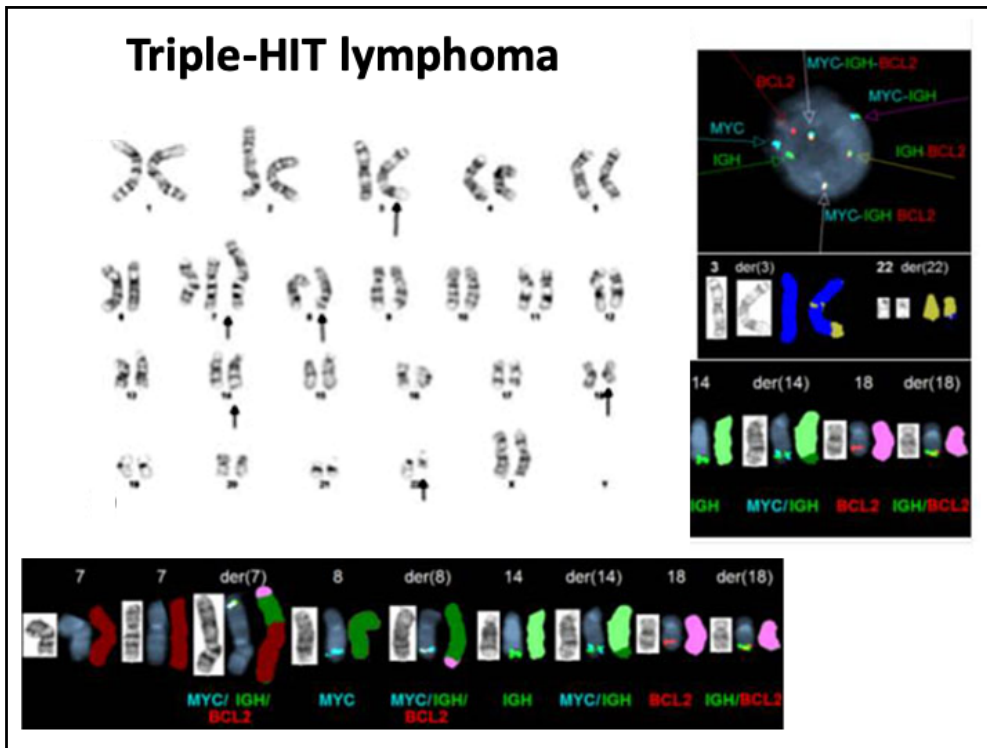
Modello genetico di patogenesi di un gruppo di linfomi di alto grado di difficile diagnosi, che costituiscono una sorta di «zona grigia» di neoplasie linfoidi tra linfoma di Burkitt e DLBCL, spesso di difficile interpretazione.

Il riarrangiamento *IGH-MYC* è infatti l'evento primario nel linfoma di Burkitt, ma può essere anche un evento secondario nella fase più avanzata di linfomi con riarrangiamento dei geni *BCL2* e *BCL6* (cosiddetti double/triple hit) o in linfomi con alterazioni genetiche iniziali non note. D'altro canto, riarrangiamenti dei geni *BCL2* e *BCL6* possono comparire durante la progressione di malattia in casi di linfoma di Burkitt con riarrangiamento *IGH/MYC*, rendendo questi casi geneticamente indistinguibili da un linfoma non-Burkitt, ma con riarrangiamento del gene *MYC* acquisito durante la progressione di malattia.

Double-HIT lymphoma



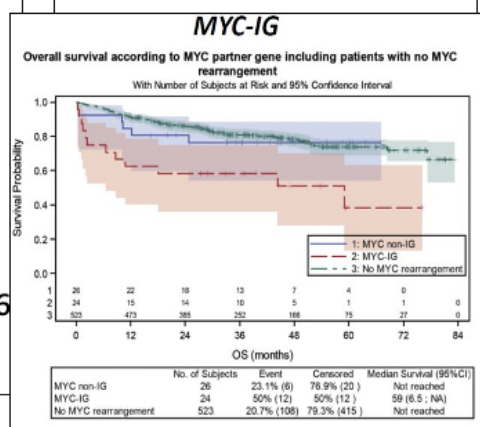
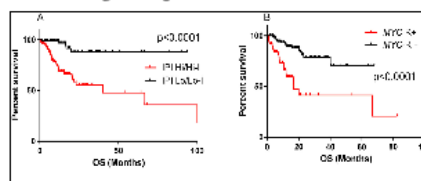
L'analisi citogenetica classica in un caso di linfoma di alto grado con cariotipo complesso e riarrangiamento *MYC/IGH* and *BCL2/IGH*. La traslocazione dei geni *BCL2* e *MYC* è confermata in FISH con sonda Break Apart specifica per il gene *BCL2* e *MYC*.



L'analisi citogenetica classica e l'analisi in Multicolor-FISH in un caso di DLBCL mostrano un' aberrazione cromosomica complessa, che coinvolge i cromosomi 7, 8, 14 e 18, con conseguente riarrangiamento dei geni *MYC* e *BCL2*. E' inoltre presente una traslocazione t(3;22) con riarrangiamento del gene *BCL6*.

Double and Triple Hit Lymphoma

- DHL *MYC/BCL2* : 65%
- DHL *MYC/BCL6* : 15%
- THL *MYC/BCL2/BCL6*: 20%
- Aggressive clinical course
- Complex Karyotype
- *TP53* commonly mutated
- *MYC* partner
- GBC cell of origin (*MYC/BCL6* may have non-GBC origin).



[Pedersen MØ, et al. Eur J Haematol. 2014 Jan;92(1):42-8.]

I linfomi di alto grado con riarrangiamento di *MYC*, *BCL2* e/o *BCL6* sono caratterizzati da andamento clinico estremamente aggressivo. Presentano per lo più un cariotipo molto complesso, frequentemente associato a perdita e/o mutazioni di *TP53*. Il gene *partner* di *MYC* influenza la prognosi, essendo il riarrangiamento *IG/MYC* associato ad una sopravvivenza globale inferiore rispetto ai riarrangiamenti non-*IG/MYC*.

Increased *MYC* copy number in DLBCL

- Patients with *MYC* EC had worse prognosis than patients *MYC* normal DLBCL.

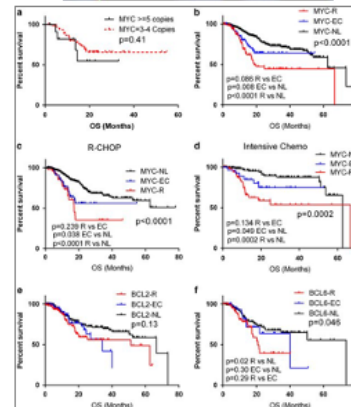
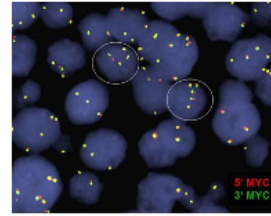
- Patients with *MYC* EC may have trend toward a better OS than patients with DHL/THL.

- Patients with *MYC* EC appear to benefit to from intensive chemotherapy.

- MYC* or *MYC/BCL2* expression was lower in patients with *MYC* EC than in patients with *MYC* rearrangement.

- MYC* EC DLBCL less often had a GBC origin (similar to *MYC* normal).

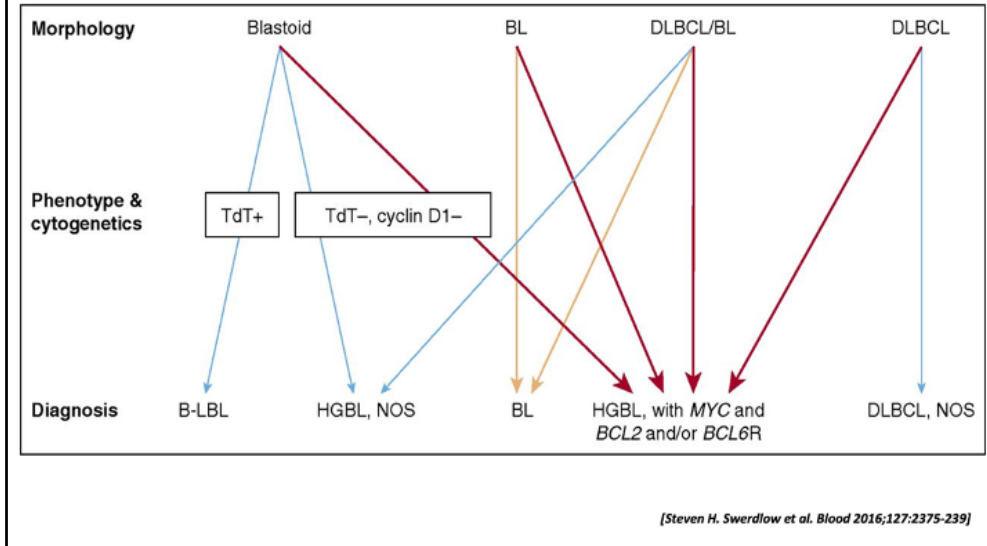
- *BCL2* or *BCL6* EC were not associated with OS.



[Quessada AE, et al. Mod Pathol. 2017 Dec;30(12):1688-1697.]

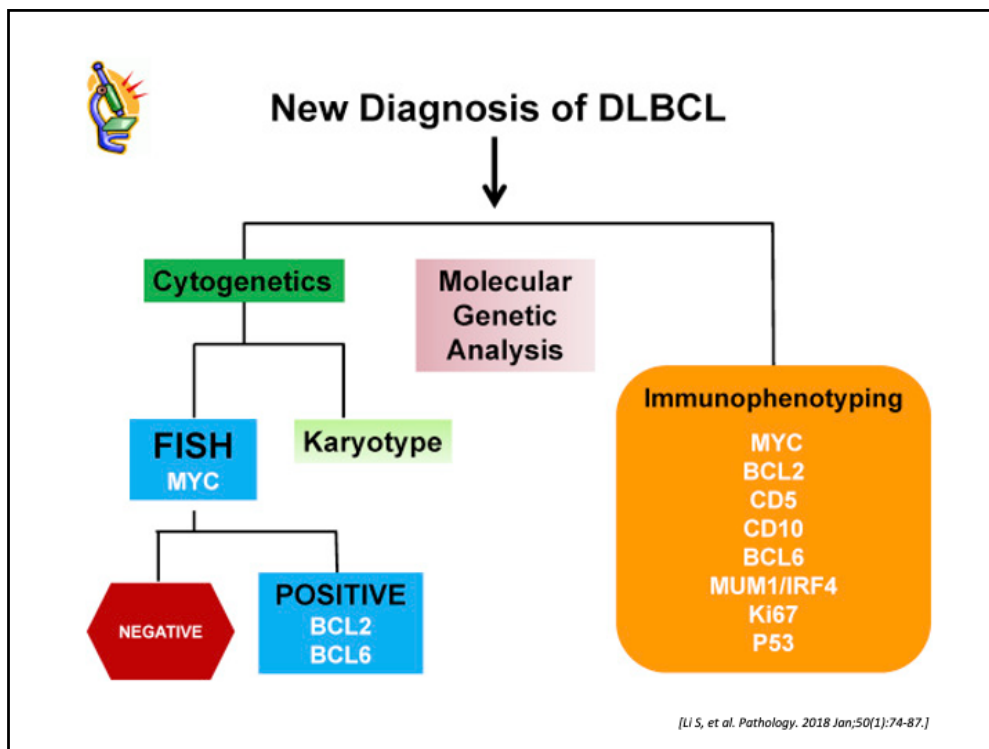
Nei DLBCL un incremento del numero di copie del gene *MYC* (non riarrangiato) sembra essere associato ad una prognosi peggiore rispetto ai linfomi con un normale numero di copie del gene, ma comunque migliore rispetto ai linfomi con riarrangiamento di *MYC* (double/triple hit).

Diagnostic approach to High Grade B-Cell Lymphoma.

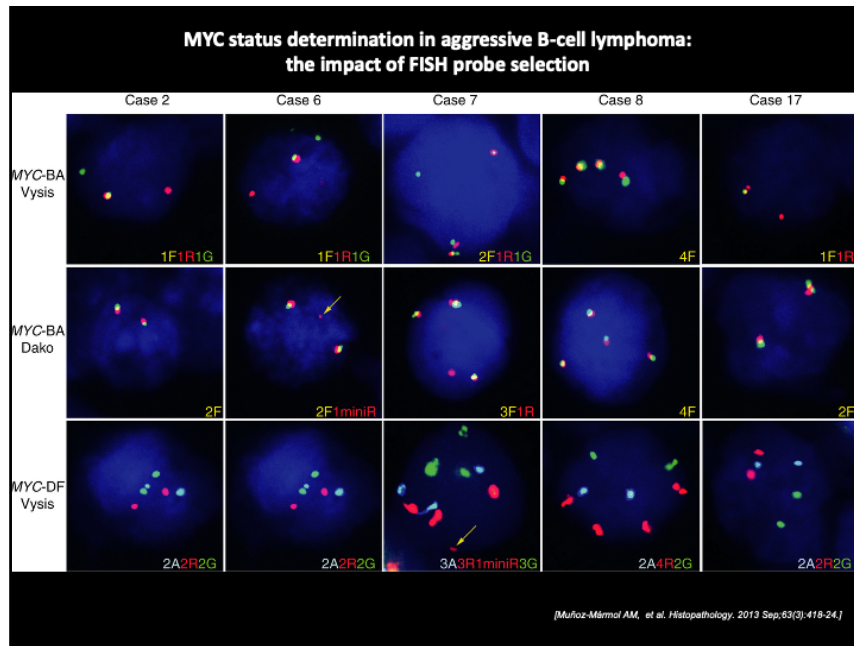


Approccio diagnostico ai linfomi B di alto grado. I linfomi a cellule B di alto grado possono avere caratteristiche morfologiche sovrapponibili con una leucemia/linfoma linfoblastico a cellule B (B-LBL), con un linfoma di Burkitt (BL), con un DLBCL, così come con un linfoma con caratteristiche intermedie tra DLBCL e BL (DLBCL/BL).

Le frecce arancione indicano i casi con fenotipo Burkitt-like, riarrangiamento di *MYC*, senza riarrangiamento di *BCL2* e/o *BCL6*. Le frecce rosse indicano casi con riarrangiamento di *MYC*, *BCL2* e/o *BCL6* ("double/triple hit") e le frecce azzurre i casi senza riarrangiamenti di *MYC*, *BCL2* e *BCL6*.

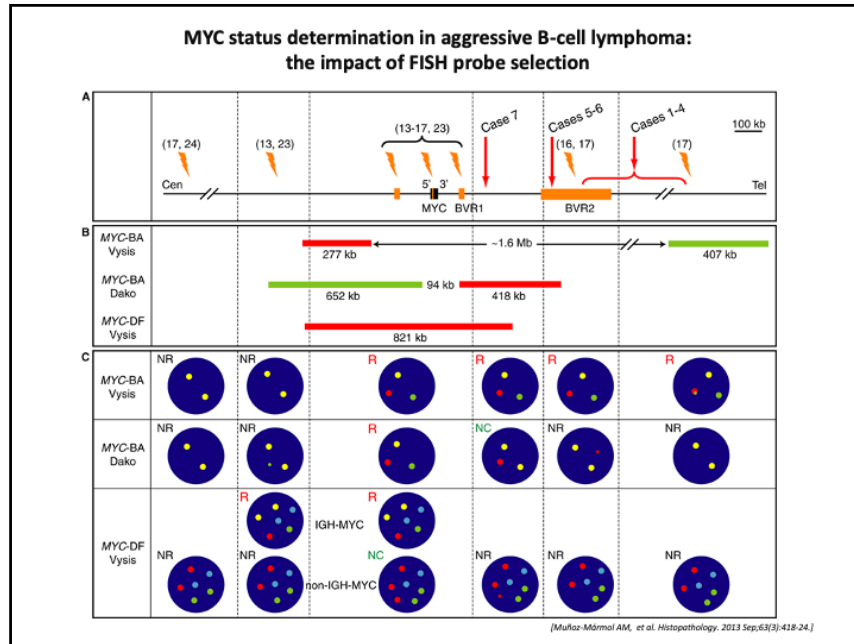


Algoritmo diagnostico nei casi di DLBCL. La citogenetica, insieme all'analisi morfologica, molecolare ed immunofenotipica, riveste un ruolo importante nell'inquadramento diagnostico nei casi di DLBCL e prevede in prima istanza l'analisi del cariotipo, se possibile, e l'analisi FISH per la ricerca del riarrangiamento del gene *MYC* e, in caso di positività, dei geni *BCL2* e *BCL6*.



La scelta della sonda per l'analisi FISH del gene *MYC* è di fondamentale importanza, perchè sonde commerciali diverse possono dare risultati controversi a seconda di come sono costruite.

Nella slide, una carrellata di immagini relative a 3 sonde *MYC* di ditte diverse applicate a 5 diversi pazienti. Il *pattern* di segnali risultante è strettamente correlato alla grandezza della sonda e ai punti di rottura della traslocazione, con la conseguente possibilità di risultati falsi negativi o con *pattern* alternativo.



Sommario di *pattern* di segnali possibili a seconda dei punti rottura interessati dal riarrangiamento e dell'estensione della sonda.

Ad esempio:

Caso n° 7: appare un segnale rosso isolato poichè il *breakpoint* cade nell' area riconosciuta dalla sonda in *red* (Caso 7, MYC-BA Dako probe).

Casi N° 17: il riarrangiamento è visibile solo con la sonda più grande (MYC-BA Vysis).

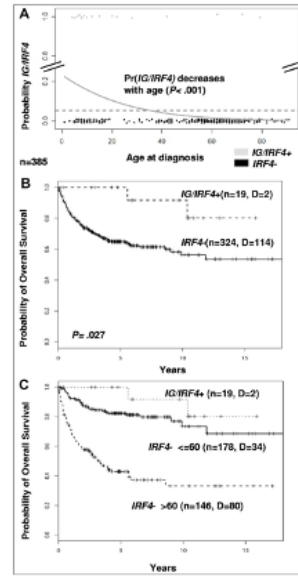
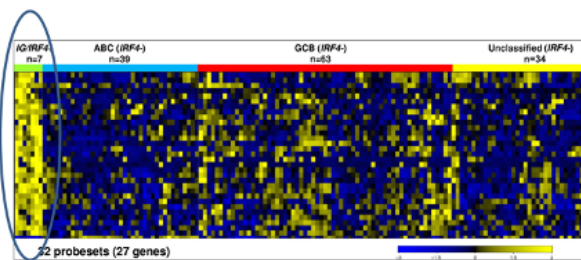
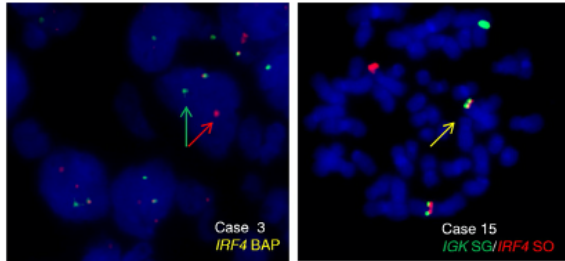
Large B-Cell Lymphoma with *IRF4* Rearrangement

- Large B-cell lymphoma with *IRF4* rearrangement is a subgroup of GC B-cell lymphomas that may be FL grade 3 or DLBCL.
- It is characterized by strong expression of *IRF4/MUM1*, a specific gene expression profile, and a disease onset predominantly in childhood or young adulthood.
- *IG/IRF4* rearrangement is due to $t(6;14)(p25;q32)$ that is cytogenetically cryptic. The translocations activate the transcription factor *IRF4*.
- *IG/IRF4*-positive B-cell lymphomas strongly express the GC master regulator *BCL6* and lack expression of *PRDM1/BLIMP1*, which is necessary to drive plasma cell differentiation.
- Most cases have *BCL6* rearrangement but lack *MYC* and *BCL2* rearrangement.

Il linfoma a grandi cellule con riarrangiamento del gene *MYC* è un'entità provvisoria introdotta dalla revisione WHO-2016.

In tabella sono sintetizzate le caratteristiche clinico-biologiche della neoplasia linfoide.

Large B-Cell Lymphoma with *IRF4* Rearrangement



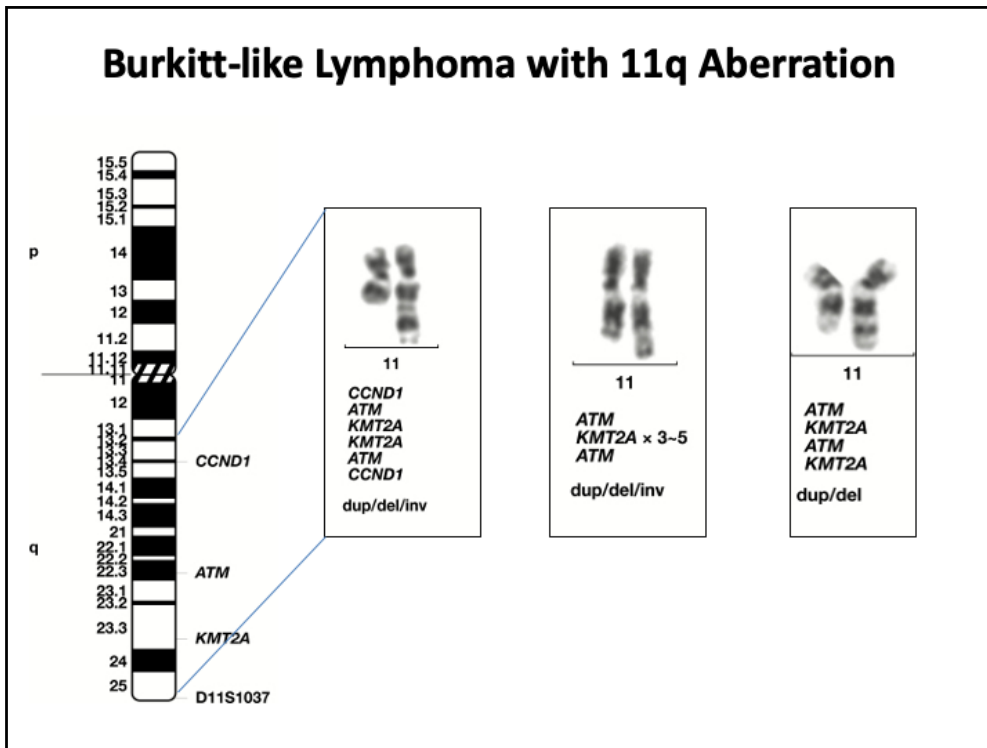
[Salaverria et al. Blood 2011;118:139-147]

In alto a sinistra: Analisi FISH con sonda IRF4 Break Apart e con sonda Dual Color Dual Fusion IGK/IRF4.

In basso a sinistra: Profilo di espressione peculiare dei linfomi a grandi cellule B con riarrangiamento di IRF4.

A destra: Curve di Kaplan-Meier che mostrano A) Correlazione tra riarrangiamento IG/IRF4 con l'età. La frequenza diminuisce progressivamente con l'aumentare dell'età. B) Il riarrangiamento di IG/IRF4 è associate a migliore prognosi. C) Stratificazione prognostica dei pazienti IG/IRF4 positivi e IG/IRF4 negativi in base all'età.

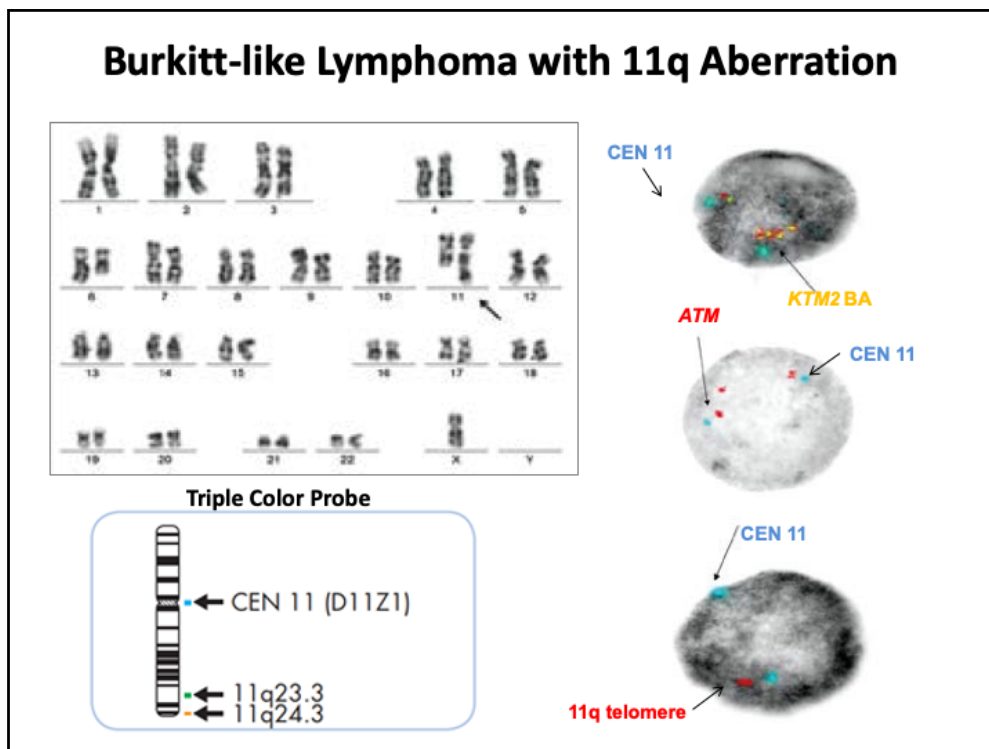
Burkitt-like Lymphoma with 11q Aberration



Linfoma Burkitt-like con aberrazioni 11q. E' un nuova entità nosologica provvisoria sec. WHO-2016, che comprende linfomi con caratteristiche morfologiche sovrapponibili al linfoma di Burkitt, ma in assenza di riarrangiamento del gene *MYC*.

Sono qui riportati tipi differenti di aberrazioni 11q che alternano segmenti duplicati, deleti o invertiti lungo il braccio q del cromosoma 11.

Burkitt-like Lymphoma with 11q Aberration



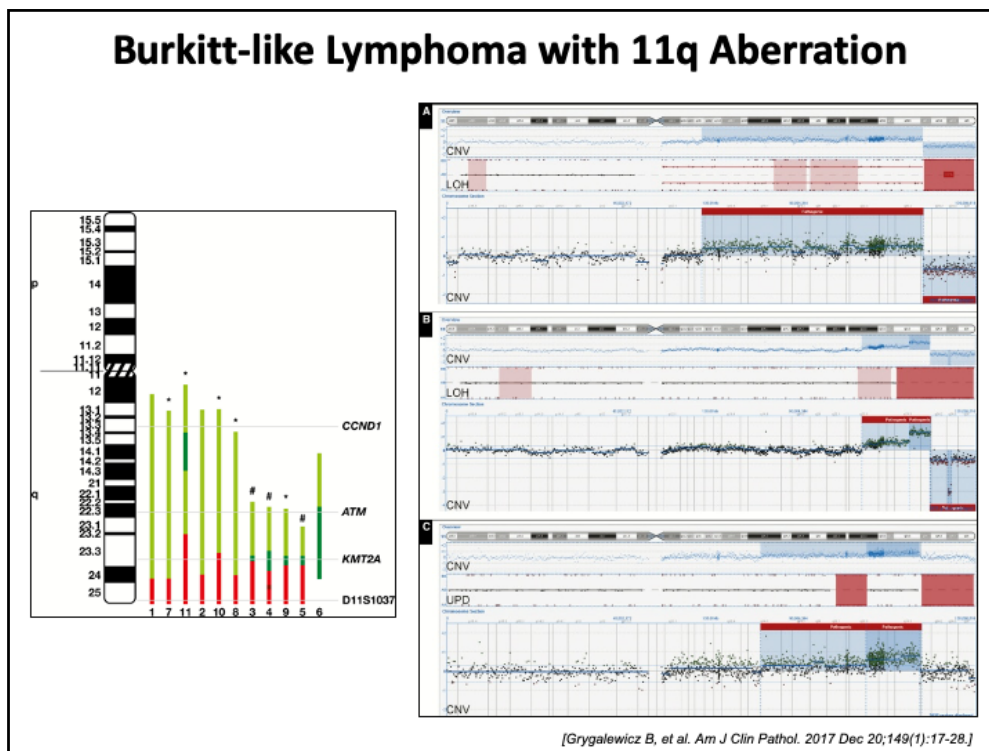
Analisi citogenetica classica di un caso di linfoma Burkitt-like con aberrazioni 11q. Cariotipo: 45,X,-Y,del(6)(q21),dup(11)(q23q21).

Analisi FISH con centromero del cromosoma 11 (Aqua) e sonda per *KMT2A* (break apart). Si notino i multipli segnali relativi a *KMT2A* dovuta alla duplicazione 11q.

Analisi FISH con centromero 11 (Aqua) e sonda per *ATM* (locus specifica, red). I due segnali in red indicano una duplicazione in 11q.

Analisi FISH con centromero 11 (Aqua) e sonda telomerica 11q (red). Un solo segnale in red indica una delezione terminale 11q.

Burkitt-like Lymphoma with 11q Aberration



[Grygalewicz B, et al. Am J Clin Pathol. 2017 Dec 20;149(1):17-28.]

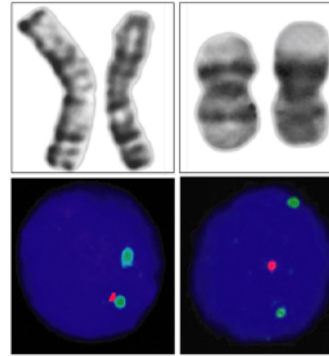
Analisi array-CGH delle aberrazioni 11q.

A sinistra Le regioni duplicate sono colorate in verde chiaro. Le regioni terminali delete sono colorate in rosso.

A destra Analisi SNP/aCGH in 3 pazienti. **A)** Esempio di estesa duplicazione 11q e di delezione terminale. **B)** Duplicazione 11q con gain *addizionale* e delezione terminale con piccola delezione in omizigosi. **C)** Duplicazione 11q senza delezione terminale, ma presenza di UPD in un frammento di duplicazione e nella porzione terminale 11q, che corrisponde alla regione di delezione negli altri casi.

Follicular Lymphoma with Deletion 1p36

- FL with a predominantly diffuse infiltration pattern.
- Confined to the inguinal region with a propensity to form large localized tumors.
- Particularly indolent clinical course.
- Most *BCL2*/t(14;18) negative.
- Deletions in chromosomal band 1p36 are a recurring genetic aberration.
- *TNFRSF14* gene.



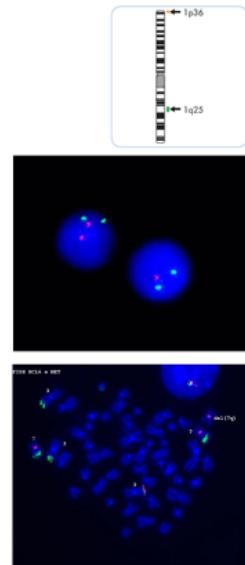
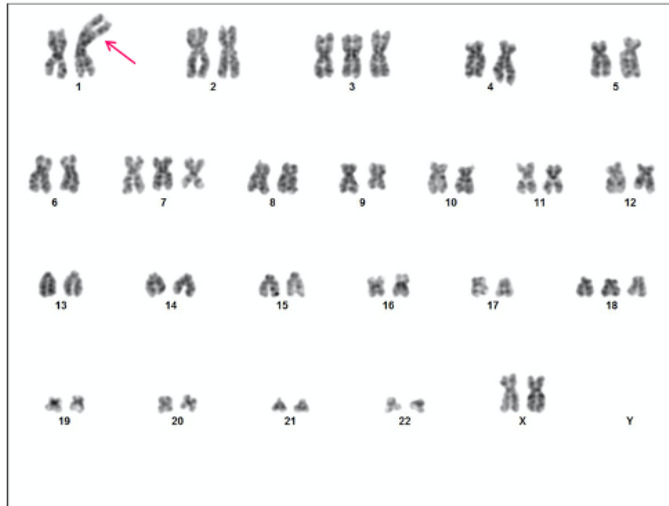
[Tiemo Katzenberger et al. Blood 2009;113:1053-1061]

Sebbene non sia considerata un'entità definita, il WHO 2016 sottolinea l'esistenza di un sottogruppo di linfomi follicolari, con *pattern* di crescita prevalentemente diffuso, caratterizzati da delezione della porzione terminale del braccio corto del cromosoma 1 (1p36).

In alto a destra coppie del cromosoma 1 colorati con tecnica di bandeggio. La delezione 1p36 è di difficile rilevazione in citogenetica classica.

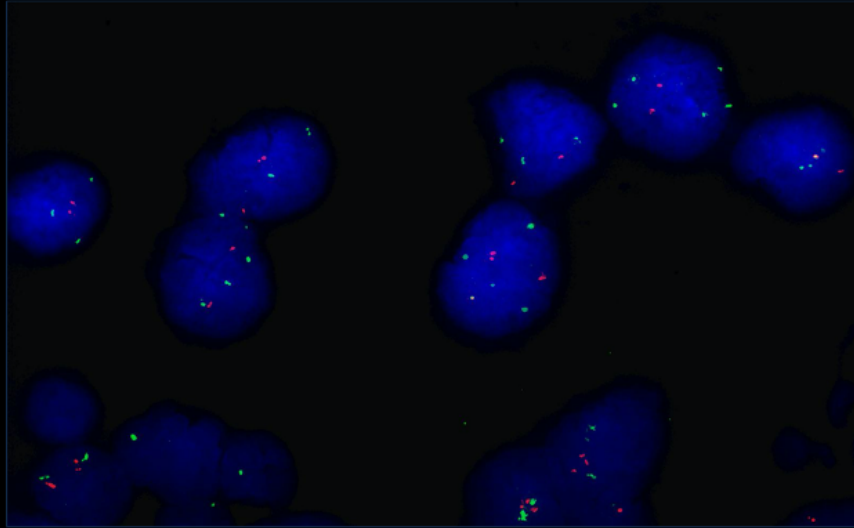
Analisi FISH che evidenzia la perdita di un segnale rosso riferibile a delezione 1p36.

Follicular Lymphoma with Deletion 1p36



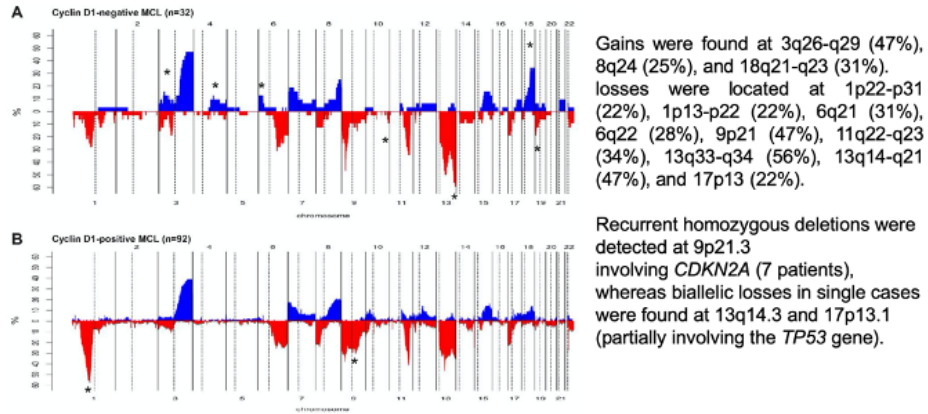
Cariotipo con riarrangiamento complesso di un cromosoma 1 con associata delezione 1p36.

Follicular Lymphoma with Deletion 1p36



Analisi FISH con sonda 1p36/1q25 che evidenzia un numero di segnali relativi alla regione 1p36 inferiore al numero di segnali relativi alla regione 1q25.

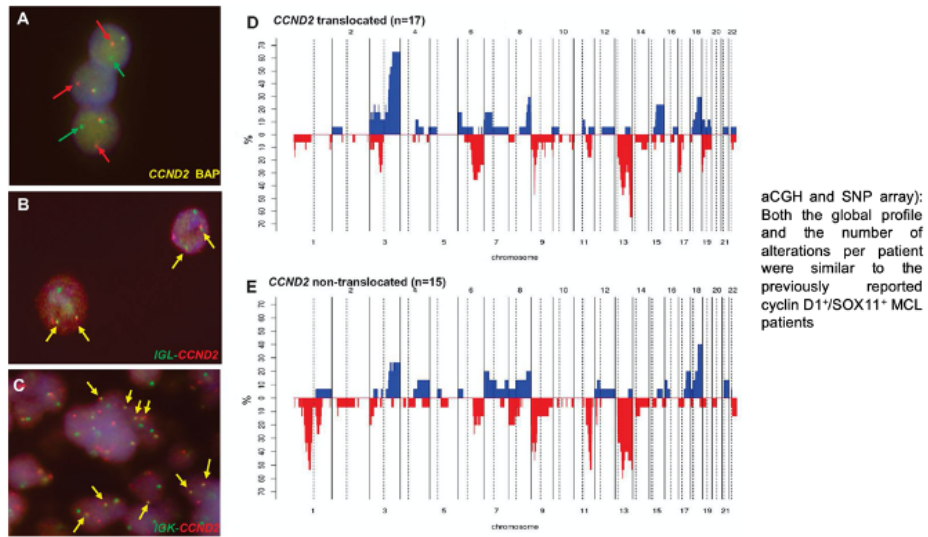
Comparison of chromosomal imbalances detected by high-resolution CN array in cyclin D1- and cyclin D1+ MCL patients.



[Salaverria I, et al. *Blood* 2013;121:1394-1402]

Il WHO-2016 evidenzia che nel 50% dei casi di linfoma mantellare *CCND1* negativo è presente un riarrangiamento del gene *CCND2*.
 Confronto tra variazione del numero di copie mediante *array*-CGH in casi di linfoma mantellare *CCND1* + e *CCND1* -, da cui emerge un profilo simile di CNA.

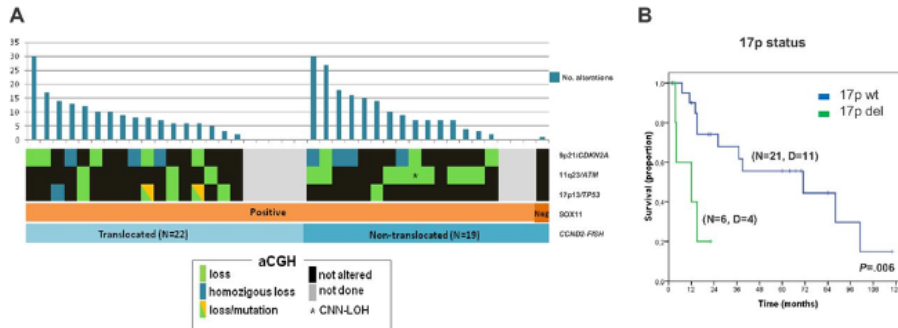
Cyclin D1-Negative Mantle Cell Lymphoma



[Salaverria I, et al. *Blood* 2013;121:1394-1402]

A sinistra: A) Analisi FISH con riarrangiamento di *CCND2*. (B) Analisi FISH con riarrangiamento *IGL-CCND2*. (C) Analisi FISH con riarrangiamento *IGK-CCND2*.
A destra: Profilo di CNV (Array CGH e SNP array) in pazienti con Linfoma Mantellare *CCND2*⁺ e *CCND2*⁻. Il profilo globale è simile tra i due gruppi e anche a quello presente nei linfomi mantellari *CCND1*⁺.

Characterization of cyclin D1- MCL patients according to their genetic and molecular features.



CCND2-translocated MCL patients had more frequent 17p deletions than non translocated patients (35% vs 7%, $P = .05$). Non translocated MCL had more frequent losses of 11q (60% vs 18%, $P = .01$) and 1p (67% vs. 12%, $P = .011$). The frequency of 9p deletions was extremely high and equal in the subgroups

Patients carrying 17p deletions had a significant worse prognosis than those without this aberration (median survival: 12 vs 71 months, Representing an independent prognostic parameter

[Salaverria I, et al. Blood 2013;121:1394-1402]

A sinistra: Il grafico mostra che i pazienti con linfoma mantellare *CCND2*+ hanno più frequentemente delezioni 17p. I pazienti *CCND2*- presentano più frequentemente delezioni 11q e

1p.

L'alta frequenza di delezioni 9p è condivisa da entrambi i gruppi.

A destra: Curva di Kaplan-Meier dove si evidenzia che i pazienti con delezione 17p hanno una prognosi significativamente inferiore rispetto ai pazienti senza delezione 17p.