

## ЛИМФОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

### Рearранжировки генов иммуноглобулинов в опухолевых клетках у пациентов с первичной медиастинальной (тимической) В-крупноклеточной лимфомой

*Я.К. Мангасарова, Ю.В. Сидорова, А.У. Магомедова, Б.В. Бидерман, Е.Е. Никулина, А.Б. Судариков, А.М. Ковригина, С.К. Кравченко*

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Новый Зыковский пр-д, д. 4а, Москва, Российская Федерация, 125167

## РЕФЕРАТ

**Актуальность.** Первичная медиастинальная (тимическая) В-крупноклеточная лимфома (ПМВКЛ) — это злокачественная опухоль, субстратом которой являются крупные атипичные лимфоидные клетки, экспрессирующие маркеры постгерминальной дифференцировки. Рearранжировки генов иммуноглобулинов при ПМВКЛ выявляются в 30–65 % случаев. При этом молекулы иммуноглобулинов не экспрессируются ни на поверхности, ни в цитоплазме опухолевых клеток.

**Цель.** Оценить частоту В-клеточной клональности по рearранжировкам генов тяжелой/легких цепей иммуноглобулинов; определить стабильность рearранжировок при развитии рецидивов заболевания; изучить спектр рearранжировок и клональную связь с первичной опухолью при метакронном возникновении медиастинальной лимфомы серой зоны.

**Материалы и методы.** С целью оценки рearранжировки генов тяжелой/легких цепей иммуноглобулинов был выполнен молекулярный анализ 29 первичных биоптатов опухоли и 4 образцов ткани с верифицированными гистологически и иммуногистохимически рецидивами заболевания или метакронным развитием лимфом.

**Результаты.** В 16 (55,2 %) из 29 случаев выявлена перестройка генов тяжелой цепи иммуноглобулинов, в 7 (24,1 %) — перестройка генов легких цепей, в 6 (20,7 %) — рearранжировок генов тяжелой/легких цепей иммуноглобулинов не обнаружено. На основании анализа генов иммуноглобулинов у 2 пациентов при развитии раннего рецидива заболевания определялся опухолевый клон, идентичный выявленному в дебюте заболевания. У 2 больных, достигших полной ремиссии, констатировано метакронное развитие медиастинальной лимфомы серой зоны, а молекулярно-генетическое исследование выявило смену/исчезновение исходных клональных рearранжировок генов иммуноглобулинов.

**Заключение.** Общая частота обнаружения В-клеточной клональности при ПМВКЛ составила 79,3 %. Молеку-

## LYMPHOID TUMORS

### Rearrangements of Immunoglobulin Genes in Tumor Cells of Patients with Primary Mediastinal (Thymic) Large B-Cell Lymphoma

*YaK Mangasarova, YuV Sidorova, AU Magomedova, BV Biderman, EE Nikulina, AB Sudarikov, AM Kovrigina, SK Kravchenko*

National Medical Hematology Research Center, 4a Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167

## ABSTRACT

**Background.** Primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma (PMBCL) is a malignant tumor with large atypical lymphoid cells expressing post-germinal differentiation markers. Rearrangements of immunoglobulin genes in PMBCL are revealed in 30–65 % of cases. Immunoglobulin molecules, however, are expressed neither on the surface, nor in cytoplasm of tumor cells.

**Aim.** To assess cell clonality rate on the basis of rearrangements of immunoglobulin heavy/light chain genes; to determine rearrangement stability at the time of relapse development; to study the range of rearrangements and clonal relationship with primary tumor in metachronous development of mediastinal gray zone lymphoma.

**Materials & Methods.** The assessment of rearrangements of immunoglobulin heavy/light chain genes was based on molecular analysis of 29 primary tumor biopsies and 4 tissue samples with histologically and immunohistochemically verified relapses or metachronous lymphoma development.

**Results.** In 16 (55.2 %) out of 29 cases a rearrangement of immunoglobulin heavy chain genes was reported, in 7 (24.1 %) cases a rearrangement of light chain genes was identified, in 6 (20.7 %) cases no rearrangements of immunoglobulin heavy/light chain genes were found. On the basis of immunoglobulin gene analysis in 2 patients with early relapse a tumor clone was detected that was identical with the one identified at the onset of the disease. In 2 patients with complete remission a metachronous development of mediastinal gray zone lymphoma was reported, whereas molecular genetic analysis revealed a change/disappearance of initial clonal rearrangements of immunoglobulin genes.

лярно-генетические исследования позволяли подтвердить сохранение исходных клональных реаранжировок генов иммуноглобулинов при развитии ранних рецидивов заболевания и опровергнуть клональное родство опухоли при метакронном развитии медиастинальной лимфомы серой зоны.

**Ключевые слова:** первичная медиастинальная (тимическая) В-крупноклеточная лимфома, реаранжировка генов тяжелой/легких цепей иммуноглобулинов, полимеразная цепная реакция, метакронное развитие лимфомы.

**Получено:** 2 ноября 2018 г.

**Принято в печать:** 29 мая 2019 г.

*Для переписки:* Яна Константиновна Мангасарова, канд. мед. наук, Новый Зыковский пр-д, д. 4а, Москва, Российская Федерация, 125167; тел.: +7(926)395-82-52; e-mail: v.k.jana@mail.ru

*Для цитирования:* Мангасарова Я.К., Сидорова Ю.В., Магомедова А.У. Реаранжировки генов иммуноглобулинов в опухолевых клетках у пациентов с первичной медиастинальной (тимической) В-крупноклеточной лимфомой. Клиническая онкогематология. 2019;12(3):271–7.

doi: 10.21320/2500-2139-2019-12-3-271-277

**Conclusion.** Total detection rate of B-cell clonality in PMB-CL was 79.3 %. Molecular genetic analysis confirmed that initial clonal rearrangements of immunoglobulin genes were preserved in early relapses, and invalidated tumor clonal relationship in a metachronous development of mediastinal gray zone lymphoma.

**Keywords:** primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma, rearrangement of immunoglobulin heavy/light chain genes, polymerase chain reaction, metachronous development of lymphoma.

**Received:** November 2, 2018

**Accepted:** May 29, 2019

*For correspondence:* Yana Konstantinovna Mangasarova, MD, PhD, 4a Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167; Tel.: +7(926)395-82-52; e-mail: v.k.jana@mail.ru

*For citation:* Mangasarova YaK, Sidorova YuV, Magomedova AU. Rearrangements of Immunoglobulin Genes in Tumor Cells of Patients with Primary Mediastinal (Thymic) Large B-Cell Lymphoma. Clinical oncohematology. 2019;12(3):271–7 (In Russ).

doi: 10.21320/2500-2139-2019-12-3-271-277

## ВВЕДЕНИЕ

Выявление В-клеточной клональности по реаранжировкам генов тяжелой цепи иммуноглобулинов (IgH), легких цепей κ (Igκ) и λ (Igλ) с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) традиционно используется для подтверждения диагноза В-клеточной лимфомы. Метод обладает высокой чувствительностью и позволяет выявить наличие клона в опухолевой ткани у подавляющего большинства (до 99 %) пациентов с В-клеточными лимфомами [1]. Однако не при всех иммуноморфологических вариантах В-клеточных лимфом определение клональности по реаранжировкам генов иммуноглобулинов близко к 100 %. Одним из таких исключений является первичная медиастинальная (тимическая) В-крупноклеточная лимфома (ПМВКЛ).

ПМВКЛ развивается из В-клеток медулярной зоны тимуса и имеет характерное клиническое течение, обусловленное особенностями распространения заболевания в пределах грудной клетки с вовлечением тимуса, окружающих органов и тканей. Кроме того, в 10,2 % случаев возможно экстрамедиастинальное распространение опухоли за пределами грудной клетки. ПМВКЛ характеризуется уникальным профилем экспрессии генов, который отличается от диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВКЛ) и имеет большое сходство с молекулярным «портретом» клеток Березовского—Рид—Штернберга [2–4].

Опухолевые клетки ПМВКЛ экспрессируют В-клеточные антигены CD19, CD20, CD22, CD79a и PAX5. Антиген CD30 определяется в большинстве случаев (80 %), его экспрессия невыраженная и

гетерогенная. Клетки ПМВКЛ чаще положительны в отношении IRF4 (75 %) и BCL-2 (55–80 %), экспрессия BCL-6 переменна (45–100 %), а антиген CD10 обычно не определяется. Характерной особенностью данного заболевания является отсутствие экспрессии поверхностного иммуноглобулина при наличии Ig-ассоциированного антигена CD79a [5]. При иммуногистохимическом (ИГХ) исследовании опухолевой ткани определяется экспрессия специфических В-клеточных транскрипционных факторов, участвующих в основных процессах созревания и сборки молекул иммуноглобулинов: PAX5, OCT2, BOB.1, MUM1. Утрата данных факторов при лимфоме Ходжкина, а также наличие повреждающих мутаций и стоп-кодонов в генах IgHV объясняет отсутствие экспрессии молекул иммуноглобулина. Однако опухолевые клетки ПМВКЛ, несмотря на наличие В-клеточных транскрипционных факторов, не экспрессируют молекулу иммуноглобулина [6, 7]. Согласно немногочисленным международным данным, клональные реаранжировки генов тяжелых цепей иммуноглобулинов выявляются только в 30–65 % случаев ПМВКЛ, что объясняется большим количеством нуклеотидных замен, делеций и аббераций в гене IgHV, которые клетка приобретает в процессе соматической гипермутации [8–10]. Известно, что для опухолевых клеток ПМВКЛ характерна высокая соматическая мутация генов иммуноглобулинов с 5,6–30,9 % нуклеотидных замен без признаков продолжающихся мутаций [9]. Нуклеотидные замены в области посадки праймеров могут блокировать ПЦР, что приводит к ложноотрицательному результату при исследовании В-клеточной клональности [10, 11]. Не исключено, что нуклеотидные замены, делеции и

вставки в генах иммуноглобулинов приводят к снижению или отсутствию иммуноглобулина в клетках ПМВКЛ.

В 2005 г. впервые была выделена лимфома, имеющая морфологические и иммунофенотипические характеристики, промежуточные между ПМВКЛ и классической лимфомой Ходжкина (ЛХ), — так называемая медиастинальная лимфома серой зоны (МЛСЗ). В 2008 г. и, далее, в 2017 г. была обозначена как самостоятельная нозологическая единица В-клеточная лимфома, неклассифицируемая, с промежуточными чертами между ДВКЛ и классической ЛХ. Этот вариант был включен в классификацию ВОЗ с учетом специфических гистологических и ИГХ-параметров. МЛСЗ чаще встречается у молодых мужчин, обычно в возрасте 20–40 лет и характеризуется более агрессивным течением по сравнению с ПМВКЛ и ЛХ. Выделяют 4 иммуноморфологических варианта МЛСЗ:

- 1) Ходжкино-подобный вариант;
- 2) вариант, напоминающий первичную медиастинальную В-крупноклеточную лимфому (ПМВКЛ-подобный);
- 3) смешанный вариант;
- 4) двухкомпонентный вариант (наличие зон с морфологическими признаками ЛХ и ПМВКЛ в разных участках опухолевого субстрата).

Феномен, который может быть связан с МЛСЗ, — это возникновение классического варианта ЛХ и ПМВКЛ как сложной (двухкомпонентной) лимфомы или последовательное их развитие в различные отрезки времени [12]. Специфических генетических изменений, связанных с трансформацией лимфомы или ее компонентов в ту или иную (классическую ЛХ или ПМВКЛ), не обнаружено. Поскольку морфологические и фенотипические изменения обратимы, более вероятны эпигенетические, чем генетические, повреждения, которые и ответственны за изменение морфологии и иммунофенотипа [13]. Иммуноморфологическая диагностика данного вида лимфомы подчас может представлять трудности, особенно в случаях метахронного возникновения опухолей. В мировой литературе нет данных о том, происходит ли смена и/или исчезновение клональных реаранжировок генов иммуноглобулинов при метахронном развитии МЛСЗ у пациентов с достигнутой ремиссией ПМВКЛ.

**Цель настоящей работы** — изучить частоту обнаружения В-клеточной клональности по реаранжировкам генов тяжелой/легких цепей иммуноглобулинов у пациентов с ПМВКЛ, стабильность реаранжировок при развитии рецидивов заболевания, спектр реаранжировок и клональную связь с первичной опухолью при метахронном возникновении МЛСЗ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С 2007 по 2018 г. в ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ диагноз ПМВКЛ, согласно критериям классификации ВОЗ (2017 г.), был установлен у 165 пациентов. С целью оценки реаранжировки генов тяжелой/легких цепей иммуноглобулинов был выполнен молекулярный анализ 29 первичных биоптатов опухоли передневерхнего средостения и 4 образцов ткани с

верифицированным ИГХ-исследованием рецидивом заболевания или метахронным развитием МЛСЗ. Медиана возраста пациентов составила 27 лет (диапазон 23–70 лет), включено 22 женщины и 7 мужчин.

В- и Т-клеточную клональность оценивали с помощью фрагментного анализа по протоколу Biomed-2 concerted action BMH4-CT98-3936 по V-D-J-перестройкам генов IgH (FR1, FR2, FR3), Igk (Vk-Jk, Vk/intron-Kde), Igλ (Vλ-Jλ) и генов Т-клеточных рецепторов (TCR; Vγ-Jγ) [14]. Для амплификации генов иммуноглобулинов и TCR использовали праймеры производства «Синтол» (Россия). Реакционная смесь в конечном объеме 20 мкл включала 100–200 нг ДНК, 10 мкл смеси 2X для ПЦР (PCR Master Mix Promega, США), 5 пмоль каждого праймера. Условия ПЦР: предварительная денатурация при температуре 95 °С (5 мин), 35 циклов ПЦР при температуре 92 (35 с), 60 (35 с) и 72 °С (35 с), окончательная элонгация при 72 °С (10 мин). ПЦР проводили на автоматическом термоциклере DNA Engine (BioRad, Hercules, США). Для фрагментного анализа ПЦР-продуктов использовали автоматический анализатор нуклеиновых кислот ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Флюоресценцию амплификатов и их профиль (распределение по длинам) анализировали с помощью компьютерной программы GeneMapper v. 4.0 (Applied Biosystems, США).

Для оценки перестройки генных сегментов тяжелой/легких цепей молекулы иммуноглобулина использовали стандартные критерии: клональный пик при фрагментном анализе должен в 3 раза превышать поликлональный фон, для реаранжировок генов IgH он должен наблюдаться хотя бы в одной из реакций: FR1, FR2 или FR3.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В 23 (79,3 %) из 29 образцов биоптата опухоли средостения выявлена реаранжировка генов иммуноглобулинов: в 16 (55,2 %) — перестройка генов тяжелой цепи иммуноглобулинов, в 7 (24,1 %) — легких цепей. У 6 (20,7 %) из 29 пациентов в биоптате опухоли не выявлена В-клеточная клональность (ни по тяжелой, ни по легким цепям иммуноглобулинов). В данной когорте также не получено данных о наличии клональных перестроек генов TCR. Одним из этапов работы было проведение анализа у пациентов с рецидивом ПМВКЛ в анамнезе или с метахронным развитием МЛСЗ. После завершения специфической терапии на основании ИГХ-исследования в 2 случаях констатирован ранний рецидив заболевания (в течение 1 года). При молекулярном анализе перестройки генов IgH у пациентов (в дебюте и при рецидиве заболевания) определялся один и тот же опухолевый моноклон. В 2 случаях зафиксировано метахронное возникновение МЛСЗ (через 1 и 5 лет соответственно). Заболевание дебютировало как ПМВКЛ, по результатам повторной биопсии при прогрессировании заболевания выявлено изменение морфологии и иммунофенотипа опухоли. В когорте больных с метахронным развитием МЛСЗ молекулярно-генетическое исследование позволило обнаружить смену/исчезновение клональных реаранжировок генов иммуноглобулинов (табл. 1).

**Таблица 1.** Результаты ПЦР при рецидивах ПМВКЛ или метакронном развитии МЛСЗ

Пациент №	Рецидивы ПМВКЛ/ метакронное развитие МЛСЗ	Исходная реаранжировка генов иммуноглобулинов	Реаранжировка генов иммуноглобулинов при рецидивах ПМВКЛ/развитии МЛСЗ
1	Развитие МЛСЗ	IgH	Igk
2	Развитие МЛСЗ	IgH и Igk	Реаранжировок IgH/Igk/Igλ и генов TCR не выявлено
3	Рецидив ПМВКЛ	IgH и Igk	IgH* и Igk*
4	Рецидив ПМВКЛ	IgH	IgH*

TCR — T-клеточный рецептор; МЛСЗ — медиастинальная лимфома серой зоны; ПМВКЛ — первичная медиастинальная (тимическая) В-крупноклеточная лимфома; ПЦР — полимеразная цепная реакция.  
\* Клоны идентичны исходной (выявленной в первичном материале) реаранжировке.

### Клиническое наблюдение

Больная Ч., 37 лет. В марте 2011 г. отмечено увеличение лимфатического узла на шее справа до 1,5 см в диаметре, безболезненное. В течение 1 мес. появилось затруднение дыхания в положении лежа на спине. При обследовании по данным КТ выявлен конгломерат шейно-надключичных лимфатических узлов справа 2,7 × 2,5 × 2,7 см и в передневерхнем средостении 8,0 × 5,6 × 3,0 см. Выполнена биопсия надключичного лимфатического узла и установлен диагноз ПМВКЛ. Гистологическое исследование биоптата опухоли выявило диффузную инфильтрацию крупными клетками с округло-овальными многодольчатыми ядрами преимущественно с морфологией центробластов и наличием полиморфных клеток. Видны фигуры митозов, выражены тонкие фиброзные прослойки, пронизанные капиллярной сосудистой сетью, создающие альвеолоподобный рисунок строения. Данные ИГХ-исследования: интенсивная экспрессия опухолевыми клетками CD20+, CD45+, часть клеток — CD23+, TRAF1 и CD30+.

С 28.04.2011 по 15.08.2011 г. проведена высокодозная импульсная полихимиотерапия по схеме mNHL-BFM-90 и достигнута полная ремиссия заболевания, подтвержденная совместной позитронно-эмиссионной и компьютерной томографией (ПЭТ/КТ). Больная регулярно проходила комплексные контрольные обследования с 2011 по 2015 г., сохранялась полная ремиссия.

В августе 2015 г. появился кожный зуд, по данным ПЭТ/КТ органов грудной клетки выявлено образование в передневерхнем средостении размером 10 см. С диагностической целью выполнена торакоскопия и биопсия опухоли средостения. На основании иммуноморфологического анализа установлен диагноз: В-клеточная лимфома, неклассифицируемая, с промежуточными чертами между ДВКЛ и классической ЛХ. Гистологическое исследование биоптата опухоли выявило фрагменты фиброзной ткани с диффузным пролифератом из клеток среднего размера и крупных лимфоидных клеток с округло-овальными многодольчатыми ядрами, с наличием крупных двуядерных форм, очажками некроза. По данным ИГХ-исследования опухолевые клетки экспрессируют

CD45+ (гетерогенная мембранная экспрессия), PAX5+ (интенсивная умеренно выраженная мономорфная ядерная экспрессия), CD23+ (мембранная экспрессия), CD30+ (мембранная, цитоплазматическая экспрессия), CD15+ (в части крупных клеток), TRAF1+ (ядерная реакция). Опухолевые клетки не экспрессируют CD19, CD20, CD79a (положительные мелкие лимфоидные В-клетки), BOB.1 (реакция сомнительна), EBV (LMP1). В умеренном количестве среди опухолевого пролиферата рассеяны мелкие Т-клетки (CD3+). Ki-67 составляет до 70 % опухолевых клеток.

В 2 образцах опухоли 2011 и 2016 гг. были исследованы локусы генов тяжелой и легких цепей иммуноглобулинов. В образце опухоли 2011 г. выявлены моноклональные реаранжировки генов IgH. В образце опухоли 2016 г. обнаружена только моноклональная реаранжировка генов легких цепей Igk. Молекулярно-генетическое исследование позволило исключить клональное родство опухолевых клеток в биоптатах 2011 и 2016 гг. и подтвердить гистологические и ИГХ-данные о метакронном развитии МЛСЗ.

### ОБСУЖДЕНИЕ

ПМВКЛ — редкая лимфома, составляет 2–4 % всех неходжкинских лимфом. Данные о клональных реаранжировках генов иммуноглобулинов недостаточно представлены. Известно, что обнаружение В-клеточной клональности существенно ниже при ПМВКЛ, чем при других В-клеточных лимфомах, включая ДВКЛ, несмотря на зрелоклеточный характер данной опухоли и наличие перестроенных генов как легких, так и тяжелой цепи иммуноглобулинов. Данный факт объясняется большим количеством нуклеотидных замен, делеций и аббераций в гене IgHV, которые клетка приобретает в процессе соматической гипермутации.

По данным ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ, в 6 (21,7 %) из 29 образцов опухолевой ткани пациентов с ПМВКЛ, несмотря на постгерминальный иммунофенотип, моноклональной перестройки генов иммуноглобулинов не выявлено. В 23 (79,3 %) из 29 случаев имелась перестройка генов IgH или легких цепей Igk, и ни в одном случае не выявлена клональная перестройка генов Igλ. Важным фактом было сохранение исходной клональной реаранжировки генов иммуноглобулинов при развитии рецидивов заболевания.

В редких ситуациях опухоль может демонстрировать характеристики, промежуточные между двумя нозологическими формами. В исследуемой когорте пациентов в 2 из 29 случаев был установлен диагноз МЛСЗ. У этих пациентов констатировали метакронное (последовательное) развитие заболевания. Молекулярный анализ данных случаев показал отсутствие общих клональных реаранжировок генов иммуноглобулинов в биоптате опухоли в дебюте заболевания и при последующем развитии МЛСЗ, что, вероятно, обусловлено реализацией иного опухолевого компонента в процессе клональной эволюции заболевания. Данный факт может иметь практическое значение при комплексной диагностике МЛСЗ в сложных клинических случаях и при определении стратегии лечения.



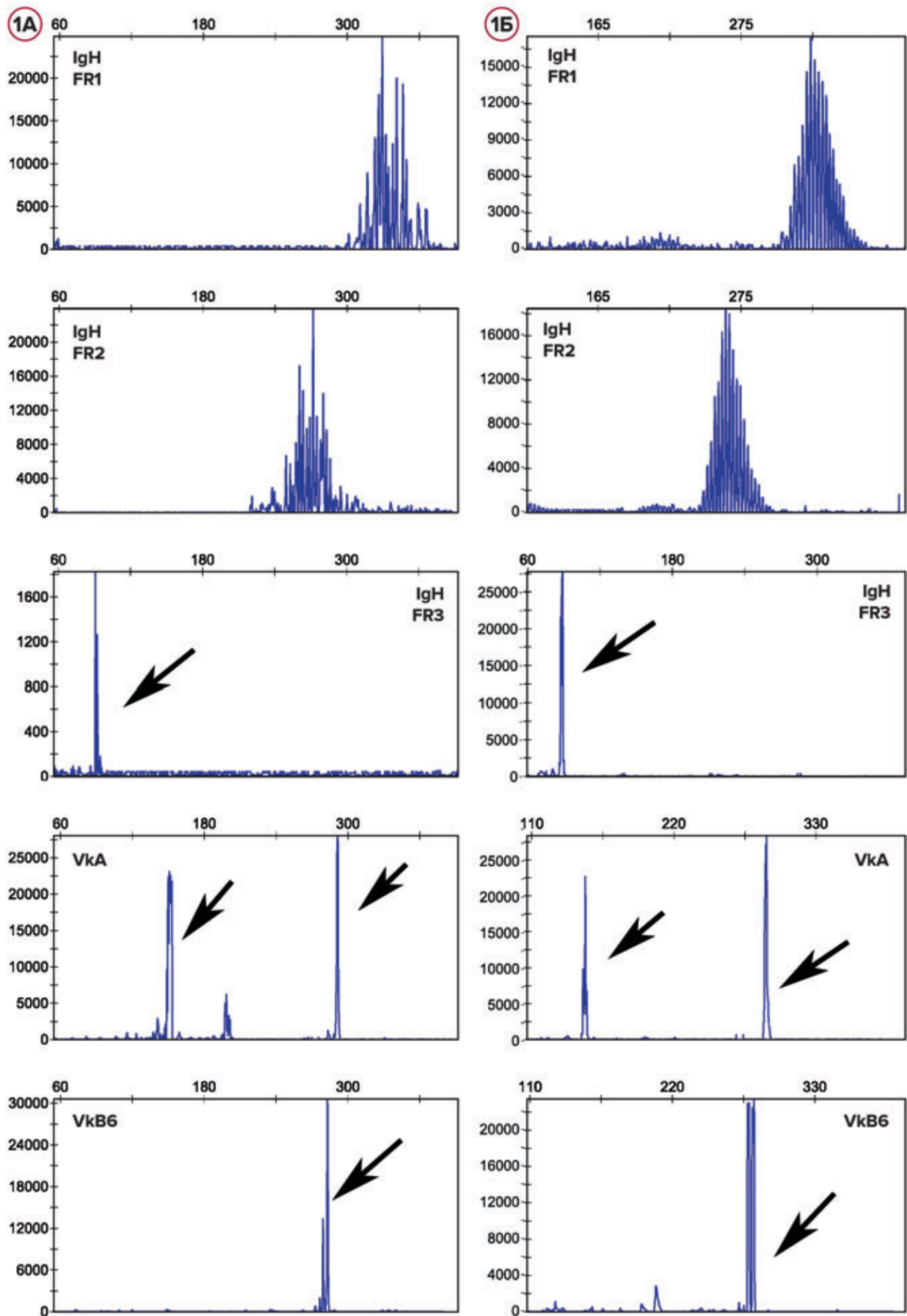
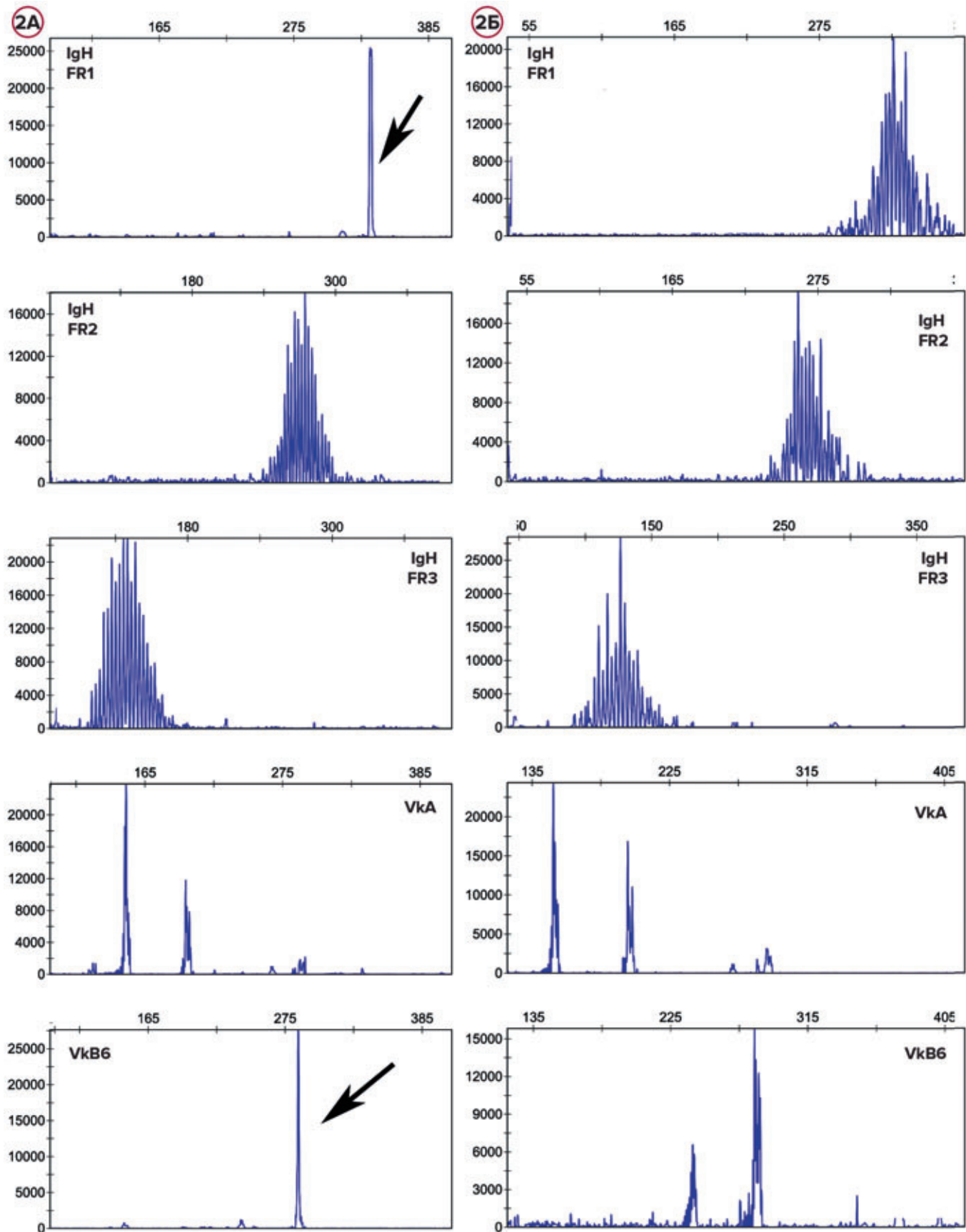


Рис. 1. Сохранение клональных реаранжировок генов тяжелой и легких цепей иммуноглобулинов при ПМВКЛ в случае 1А (дебют)/1Б (ранний рецидив)

Fig. 1. Clonal rearrangements of immunoglobulin heavy/light chain genes preserved in PMBCL in case 1A (onset)/1B (early relapse)



**Рис. 1.** Исчезновение клональных реаранжировок в случае метachrонного развития МЛСЗ 2А (дебют)/2В (рецидив через 1,5 года). Клональные пики указаны стрелками

**Fig. 1.** Disappearance of clonal rearrangements in case of metachronus MGZL development 2A (onset)/2B (relapse 1.5 years after). Clonal peaks are indicated by arrows

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, общая частота обнаружения В-клеточной клональности при ПМВКЛ составила 79,3 % (55,2 % по генам IgH и 24,1 % по генам Igk). Выполнение молекулярно-генетического исследования позволило выявить сохранение исходных клональных реаранжировок тяжелой и легких цепей иммуноглобулинов при развитии раннего рецидива заболевания, а также опровергнуть клональное родство опухоли при метакронном развитии МЛСЗ (рис. 1).

## КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов. А.М. Ковригина, член редакционной коллегии журнала «Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика», не участвовала в рецензировании рукописи.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

## ВКЛАД АВТОРОВ

**Концепция и дизайн:** Я.К. Мангасарова, Ю.В. Сидорова, А.У. Магомедова.

**Предоставления материалов исследования:** все авторы.

**Анализ и интерпретация данных:** Я.К. Мангасарова, Ю.В. Сидорова, А.У. Магомедова.

**Подготовка рукописи:** Я.К. Мангасарова, Ю.В. Сидорова, А.У. Магомедова, А.Б. Судариков.

**Окончательное одобрение рукописи:** все авторы.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Evans PA, Pott Ch, Groenen PJ, et al. Significantly improved PCR-based clonality testing in B-cell malignancies by use of multiple immunoglobulin gene

targets. Report of the BIOMED-2 Concerted Action BHM4-CT98-3936. *Leukemia*. 2007;21(2):207–14. doi: 10.1038/sj.leu.2404479.

2. Мангасарова Я.К., Магомедова А.У., Ковригина А.М. и др. Первичная медиастинальная (тимическая) В-крупноклеточная лимфома: диагностика отдаленных экстрамедиастинальных поражений и возможности лечения. *Клиническая онкогематология*. 2018;11(3):220–6. doi: 10.21320/2500-2139-2018-11-3-220-226.

[Mangasarova YaK, Magomedova AU, Kovrigina AM, et al. Primary Mediastinal (Thymic) Large B-Cell Lymphoma: Diagnostics of Extramediastinal Lesions and Treatment Opportunities. *Clinical oncohematology*. 2018;11(3):220–6. doi: 10.21320/2500-2139-2018-11-3-220-226. (In Russ)]

3. Harris NL; The International Lymphoma Study Group. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Curr Diagn Pathol*. 1995;2(1):58–9. doi: 10.1016/S0968-6053(00)80051-4.

4. Rosenwald A, Wright G, Leroy K, et al. Molecular diagnosis of primary mediastinal B cell lymphoma identifies a clinically favorable subgroup of diffuse large B cell lymphoma related to Hodgkin lymphoma. *J Exp Med*. 2003;198(6):851–62. doi: 10.1084/jem.20031074.

5. Pileri SA, Zinzani PL, Gaidano G, et al. Pathobiology of primary mediastinal B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2003;44(Suppl 3):S21–6. doi: 10.1080/10428190310001623810.

6. Lodenkemper C, Anagnostopoulos I, Hummel M, et al. Differential Emu enhancer activity and expression of BOB.1/OBF.1, Oct2, PU.1, and immunoglobulin in reactive B-cell populations, B-cell non-Hodgkin lymphomas, and Hodgkin lymphomas. *J Pathol*. 2004;202(1):60–9. doi: 10.1002/path.1485.

7. De Leval L, Ferry JA, Falini B, et al. Expression of bcl-6 and CD10 in primary Mediastinal large B-cell lymphoma: evidence for derivation from germinal center B cells? *Am J Surg Pathol*. 2001;25(10):1277–82. doi: 10.1097/0000478-200110000-00008.

8. Rosenquist R, Lindstrom A, Holmberg D, et al. V(H) gene family utilization in different B-cell lymphoma subgroups. *Eur J Haematol*. 1999;62(2):123–8. doi: 10.1111/j.1600-0609.1999.tb01732.x.

9. Zhong DR, Ling Q, Shi XH, et al. Comparative study between primary mediastinal B-cell lymphoma and non-mediastinal diffuse large B-cell lymphoma by immunoglobulin gene rearrangement and Epstein-Barr virus infection detection. *J Hematop*. 2009;2(1):45–9. doi: 10.1007/s12308-009-0022-3.

10. Leithauser F, Bauerle M, Quang Huynh M, et al. Isotype-switched immunoglobulin genes with a high load of somatic hypermutation and lack of ongoing mutational activity are prevalent in mediastinal B-cell lymphoma. *Blood*. 2001;98(9):2762–70; doi: 10.1182/blood.v98.9.2762.

11. Burack WR, Laughlin TS, Friedberg JW, et al. PCR assays detect B-lymphocyte clonality in formalin-fixed, paraffin-embedded specimens of classical Hodgkin lymphoma without microdissection. *Am J Clin Pathol*. 2010;134(1):104–11. doi: 10.1309/AJCPK6SBE0XOODHB.

12. Evens AM, Kanakry JA, Sehn LH, et al. Gray zone lymphoma with features intermediate between classical Hodgkin lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma: characteristics, outcomes, and prognostication among a large multicenter cohort. *Am J Hematol*. 2015;90(9):778–83. doi: 10.1002/ajh.24082.

13. Eberle FC, Salaverria I, Steidl C, et al. Gray zone lymphoma: chromosomal aberrations with immunophenotypic and clinical correlations. *Mod Pathol*. 2011;24(12):1586–97. doi: 10.1038/modpathol.2011.116.

14. Dongen JJ, Langerak AW, Bruggemann M, et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia*. 2003;17(12):2257–317. doi: 10.1038/sj.leu.2403202.

