

Place de la cytogénétique dans la prise en charge des lymphomes et des syndromes lymphoprolifératifs (SLP) de l'adulte et de l'enfant : actualisation par le Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH)

Cytogenetics in the management of lymphomas and lymphoproliferative disorders in adults and children: an update by the Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH)

Christine Lefebvre¹
Evelyne Callet-Bauchu²
Elise Chapiro³
Nathalie Nadal⁴
Dominique Penther⁵
Hélène Antoine-Poirel⁶

¹ Laboratoire de cytogénétique onco-hématologique, Institut de biologie et de pathologie, CHU Grenoble-Alpes, Grenoble, France
<clefebvre@chu-grenoble.fr>

² Laboratoire de cytogénétique et de biologie moléculaire, Service d'hématologie biologique, CBPAS, GHS, Hospices civils de Lyon, Pierre-Bénite, France

³ Laboratoire de génétique chromosomique et moléculaire, Service d'hématologie biologique, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

⁴ Laboratoire de cytogénétique, Plateau technique de biologie, CHU de Dijon, Dijon, France

⁵ Laboratoire de génétique oncologique, Centre de lutte contre le cancer Henri Becquerel, Rouen, France

⁶ Centre de génétique humaine, Cliniques universitaires St-Luc & de Duve Institute – Université catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

Résumé. Les lymphomes et les syndromes lymphoprolifératifs (SLP) regroupent un nombre élevé d'entités très hétérogènes. La classification OMS 2008 des hémopathies lymphoïdes matures reflète l'importance d'un diagnostic pluridisciplinaire, intégrant les données cytogénétiques tant pour le diagnostic de clonalité que pour le diagnostic différentiel entre ces entités. L'influence pronostique de certaines anomalies ou de la complexité du génome est également démontrée pour plusieurs d'entre elles. De nouvelles entités provisoires ont ainsi été décrites, telles que le « lymphome B inclassable avec aspect intermédiaire entre le lymphome B diffus à grandes cellules et le lymphome de Burkitt », dont les données cytogénétiques permettent de le distinguer d'un lymphome de Burkitt. Tout tissu ou liquide biologique tumoral peut faire l'objet d'un caryotype. En effet, l'adaptation des conditions de culture cellulaire en fonction du sous-type de lymphome suspecté (ou connu) a considérablement amélioré la proportion de caryotypes informatifs. Le caryotype reste donc l'examen de choix et recommandé dans la plupart de ces entités. La FISH (*fluorescent in situ hybridization*) métaphasique et/ou interphasique constitue également une approche robuste et rapide, facilitée par le nombre important de réarrangements récurrents caractéristiques, voire spécifiques, de ces entités. L'apport des techniques de séquençage a permis d'enrichir les données génétiques et a considérablement amélioré la compréhension des mécanismes oncogéniques de chacune de ces entités. D'ores et déjà, certains marqueurs moléculaires font partie intégrante de la démarche diagnostique (exemple : mutation de *MYD88* et maladie de Waldenström), renforçant le principe de l'approche diagnostique pluridisciplinaire de ces hémopathies.

Mots clés : lymphomes, syndromes lymphoprolifératifs, anomalies cytogénétiques, FISH

Abstract. Non-Hodgkin's lymphomas and lymphoproliferative disorders include a high number of heterogeneous entities, described in the 2008 WHO classification. This classification reflects the crucial role of a multidisciplinary approach which integrates cytogenetic results both for the notion of clonality and for differential diagnosis between these entities. The prognostic impact of some cytogenetic abnormalities or genome complexity is also confirmed for many of these entities. Novel provisional entities have been described, such

Article reçu le 24 février 2016,
accepté le 29 février 2016

Tirés à part : C. Lefebvre

as BCLU (*B-cell lymphoma unclassifiable with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma*) for which karyotype is critical to distinguish BCLU from Burkitt's lymphoma. The karyotype can be established from any tumour or liquid infiltrated by lymphoma cells. Recent adaptations of techniques for cellular cultures according to the subtype of known (or suspected) lymphoma have significantly improved the percentage of informative karyotypes. Conventional karyotypes remain the best technical approach recommended for most of these subtypes. Interphase and/or metaphase FISH also represents a solid and rapid approach, because of the significant number of recurrent (sometimes specific) rearrangements of these entities. Next generation sequencing technologies contribute to enrich genomic data and substantially improve the understanding of oncogenic mechanisms underlying these lymphoid malignancies. Some molecular biomarkers are already part of the diagnostic process (for example, somatic mutation of *MYD88* in Waldenström disease) thus reinforcing the essential principle of a multidisciplinary approach for the diagnosis of all the mature lymphoid malignancies.

Key words: lymphoma, lymphoproliferative disorders, cytogenetic abnormalities, FISH

Les lymphomes et les syndromes lymphoprolifératifs regroupent de nombreuses entités très hétérogènes. Le diagnostic de ces entités repose sur une confrontation pluridisciplinaire des données cliniques, morphologiques, immunologiques, génétiques chromosomiques et moléculaires.

De nombreuses classifications des hémopathies ont été décrites, permettant de préciser les critères diagnostiques de ces entités. La classification de la REAL fait référence à la contrepartie physiologique des cellules normales, dont dérive la population lymphomateuse [1]. Cette classification a ainsi proposé l'intégration des résultats d'immunophénotypage, de cytogénétique voire de biologie moléculaire, aux résultats anatomopathologiques.

La classification actuelle des hémopathies malignes, publiées en 2008 sous l'égide de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), s'appuie sur l'analyse fine de nouvelles données cytogénétiques et moléculaires [2]. Cette classification a clairement distingué les hémopathies lymphoïdes matures (lymphomes, SLP, leucémie lymphoïde chronique...) des hémopathies lymphoïdes immatures (leucémies/lymphomes lymphoblastiques). Certaines données ont permis de compléter et d'enrichir cette classification :

- l'intégration (quasi systématique) des données cytogénétiques et moléculaires ;
- la définition de nouveaux critères pour les entités connues ;
- l'identification de nouvelles entités, de formes « frontières » (*grey-zone lymphoma*) mais également d'entités provisoires ;

- la précision de l'impact des résultats : diagnostique, pronostique voire thérapeutique.

L'analyse cytogénétique est fortement recommandée dans la prise en charge des lymphomes voire indispensable dans certaines indications. Pour exemple, les données de cytogénétique (FISH et/ou caryotype) constituent actuellement un atout majeur pour la distinction entre un lymphome de Burkitt et un lymphome B à grandes cellules. Le caryotype conventionnel représente l'examen initial de choix. Le perfectionnement des techniques de culture (en particulier l'introduction de mitogènes efficaces pour la mise en évidence des clones et sous-clones des lymphomes B « de bas grade ») a permis d'accroître significativement la proportion de caryotypes informatifs. Le caryotype permet d'apprécier l'ensemble du génome à l'échelle chromosomique : il a donc l'avantage d'évaluer facilement et rapidement la complexité génomique du lymphome et simultanément de mettre en évidence les translocations récurrentes classiques (ou variantes) ainsi que les réarrangements complexes. Les anomalies de nombre et/ou de structure définissent également des « signatures cytogénétiques » souvent caractéristiques de certaines entités, facilitant l'interprétation globale des données cytogénétiques.

Les recommandations éditées en 2011 par L'Institut national contre le cancer pour le diagnostic des lymphomes préconisent un examen cytogénétique dans la prise en charge diagnostique des lymphomes et des syndromes lymphoprolifératifs. La cryoconservation de matériel est également fortement recommandée pour permettre la réalisation d'analyses moléculaires spécifiques ciblées. Toute autre méthode de conservation de produit dérivé (ADN,

ARN) ou de matériel résiduel (cellulothèque) est également recommandée.

L'impact majeur de la cytogénétique dans la prise en charge biologique des lymphomes et des SLP repose sur l'apport des résultats en matière de :

– Diagnostic :

Clonalité : la mise en évidence d'un clone en cytogénétique conventionnelle peut faciliter l'interprétation du pathologiste, *a fortiori* en présence d'une translocation/anomalie récurrente évoquant une entité précise ;

Type de lymphome/SLP : la récurrence voire la haute spécificité de certaines translocations primaires fait partie intégrante de la démarche diagnostique ;

– Pronostic : parmi les lymphomes B agressifs (cf infra), la présence d'un « Double Hit » en cytogénétique est associée à un pronostic très défavorable ;

– Suivi : dans certains cas, la présence de ces translocations spécifiques permet d'envisager un suivi moléculaire sanguin de la maladie résiduelle (exemple : transcrite de fusion *NPM1/ALK*) ;

– Traitement : même si les traitements ciblés sur les anomalies génétiques ne sont pour le moment utilisés que dans le cadre d'essais thérapeutiques, le choix du type de chimiothérapie peut être modifié en présence de certaines anomalies comme la délétion du locus *TP53/17p13* dans certains SLP.

Dans ce chapitre de recommandations de prise en charge cytogénétique, seront traités les lymphomes et les syndromes lymphoprolifératifs ou SLP (hors myélome), incluant les maladies de Waldenström, les leucémies prolymphocytaires T/B. Les lymphomes lymphocytiques correspondent à des leucémies lymphoïdes chroniques de présentation surtout ganglionnaire (cf chapitre correspondant). La stratégie de prise en charge cytogénétique des lymphomes lymphoblastiques T/B est identique à celle des leucémies aiguës lymphoblastiques T/B (cf article correspondant).

L'intérêt de l'analyse cytogénétique des leucémies à tricholeucocytes et des leucémies à LGL (*large granular lymphocyte*) n'est pas démontré et n'est de ce fait pas abordé.

Prise en charge technique pour les examens de cytogénétique

Caryotype : matériel disponible

La prise en charge d'un ganglion/tissu ou d'une biopsie dans le cadre d'une suspicion (ou d'une rechute) de lymphome nécessite un circuit particulier mais simple à établir entre le chirurgien, le pathologiste et le cytogénéticien : tout matériel tissulaire (ganglion, rate, tumeur, biopsie tumorale...) prélevé stérilement et non inclus dans

un fixateur peut faire l'objet d'un examen cytogénétique. Le prélèvement est transmis (dans un conditionnement fermé et sec) au pathologiste, qui le sépare stérilement en 2 fragments : la première partie assure le diagnostic anatomopathologique et la conservation de matériel (fixation en paraffine, voire congélation), la seconde partie est déposée dans un conditionnement contenant du milieu liquide simple (RPMI) et acheminée rapidement au laboratoire de cytogénétique, idéalement dans la journée ; ce fragment tissulaire est dilacéré stérilement, mécaniquement, dans une boîte de Pétri contenant 1 à 3 mL de milieu de culture complet : cette suspension cellulaire, riche en cellules lymphomateuses, peut alors être directement mise en culture (*tableau 1*).

L'infiltration tumorale lymphomateuse dans le sang ou la moelle osseuse est généralement faible donc difficile à exploiter en cytogénétique, en dehors de certaines entités (lymphome du manteau, lymphome splénique de la zone marginale, lymphome B agressif). La cytogénétique est recommandée si l'infiltration tumorale est prouvée ou lors de suspicion de transformation d'un lymphome de bas grade connu.

Concernant les SLP, la moelle osseuse ou le sang constituent les prélèvements de référence, selon le degré d'infiltration tumorale et/ou le diagnostic suspecté.

La réalisation d'appositions du fragment tissulaire permet de réduire le délai des analyses FISH (exemple : recherche du réarrangement de *MYC* en cas de suspicion de lymphome de Burkitt).

Caryotype : adaptation des conditions de culture

Pour tout prélèvement tissulaire, en l'absence de diagnostic connu, une culture courte (17-24h) sans mitogènes est à privilégier, en particulier chez l'enfant et l'adulte jeune. Selon les indications, antécédents et type de matériel reçu, les conditions et durées d'ensemencement sont indiquées dans le *tableau 1*.

Une culture longue (72h) avec mitogènes (oligodéoxynucléotides + interleukine 2 : ODN + IL2) est à privilégier en cas de lymphome B « de bas grade » (connu ou fortement suspecté) de type lymphome du manteau, de la zone marginale, lymphocytique (cf LLC), de maladie de Waldenström ou tout autre SLP-B précédemment identifié. Ce type de culture associant ODN + IL2 a fait la preuve de son efficacité dans la mise en évidence des clones et sous-clones des syndromes lymphoprolifératifs B et les lymphomes B « de bas grade » [3, 4].

L'extrême rapidité de la prolifération des lymphomes de Burkitt et la tendance à la mort cellulaire par apoptose constatée *in vitro* nécessitent l'adaptation de la durée de la culture cellulaire : une phase de culture écourtée (4 à

Tableau 1. Conditions et durées d'ensemencement.

Entité(s) suspectée	Ganglion, rate ou toute biopsie tissulaire : durée et condition de culture optimales	Moelle osseuse ou sang ou autre liquide biologique : durée et condition de culture optimales
Lymphome (sans autre indication)	Culture courte (17-24h) sans mitogènes Une seconde culture longue (72h) avec mitogènes (ODN + IL2)* est possible laissée à l'appréciation du laboratoire	
Lymphome de Burkitt	Culture courte indispensable (4 à 17 heures) ou « directe », sans mitogènes	
Suspicion de transformation d'un lymphome B à petites cellules connu, DLBCL	Culture courte (17-24h) sans mitogènes Si possible, seconde culture longue (72h) avec mitogènes (ODN + IL-2)	
Antécédent ou suspicion de lymphome type lymphocytaire (ou LLC***), manteau, marginal, ou Waldenström ou autre SLP connu	Culture longue (72h) avec mitogènes (ODN + IL-2) Une seconde culture de 24h sans mitogènes est possible, laissée à l'appréciation du laboratoire	Culture longue (72h) avec mitogènes (ODN + IL-2)
Lymphome T	Culture courte (17-24h) sans mitogènes et/ou culture longue (72h) avec mitogènes (PHA)**	

* ODN + IL-2 : oligodéoxynucléotides + interleukine 2 ; ** PHA : phytohématagglutinine ; *** LLC : leucémie lymphoïde chronique.

17h, voire « directe ») est recommandée dans les cas de suspicion de lymphome de Burkitt (*tableau 1*).

Les étapes classiques de blocage des mitoses, choc et fixations sont réalisées dès la fin de la culture cellulaire.

FISH

La FISH peut être réalisée idéalement en complément du caryotype, sur culot de cytogénétique (métaphasique et/ou interphasique). La FISH métaphasique permet la détection plus aisée des anomalies fines (insertions), en particulier en cas d'identification des partenaires de translocations, orientée par le caryotype et difficile à objectiver en FISH interphasique.

En cas de difficulté d'accès au matériel frais tissulaire pour la mise en culture, la FISH est réalisable sur coupes issues de tissu congelé ou fixé en paraffine, sur appositions ou sur tout autre frottis cellulaire. La qualification des coupes histologiques (ou appositions) est indispensable (coloration d'une lame). Elle garantit la qualité de l'échantillon (intégrité du matériel tissulaire, localisation du processus tumoral, proportion de cellules anormales) et facilite l'interprétation de la FISH (choix des zones d'intérêt). Les données anatomopathologiques et immunohistochimiques permettent d'orienter le choix de sondes FISH (*tableau 2*). La sélection ciblée de ces sondes permet de mettre en évidence le(s) anomalie(s) récurrente(s) informative(s) pour la pathologie suspectée.

En cas de FISH interphasique sur coupe ou empreinte, les sondes de type « séparation » sont d'interprétation plus facile que celles de type double fusion. Néanmoins, l'analyse complémentaire avec une sonde de type double fusion peut s'avérer utile pour mettre en évidence des remaniements plus fins (insertions, variants...) et présente

l'avantage de confirmer le réarrangement entre deux gènes (exemple : *IGH/MYC*) en cas de positivité. Le choix de la sonde de séparation encadrant le gène doit tenir compte de la taille et de la position des deux segments d'ADN marqués, ainsi que de l'espacement entre ces deux segments : pour exemple, en cas de remaniement 8q24, les points de cassure sont parfois très éloignés du gène *MYC*, en 5' et en 3', aboutissant à des résultats faussement négatifs avec une sonde de séparation trop proche du gène *MYC* ([5, 6]. L'utilisation de ces deux types de sondes (séparation et double fusion) ou de sondes à 3 couleurs constituerait l'approche idéale pour la recherche des remaniements de *MYC* en interphase [7]. Quelle que soit la/les méthode(s) utilisée(s) (caryotype conventionnel et/ou FISH interphasique et/ou métaphasique), l'interprétation des résultats de cytogénétique est réalisée avec confrontation des données morphologiques, immunophénotypiques, voire de biologie moléculaire, le cas échéant.

Biologie moléculaire

L'apport de la biologie moléculaire dans les lymphomes peut s'avérer utile voire nécessaire au diagnostic d'un lymphome, à plusieurs titres :

- preuve de la clonalité (réarrangement des gènes du récepteur T et/ou des gènes d'immunoglobuline), en particulier dans le cas des lymphomes T ;
- hyperexpression d'un gène, résultant de la dérégulation transcriptionnelle par une translocation récurrente (exemple : translocation t(11;14)(q13;q32) *IGH/CCND1*, aboutissant à l'hyperexpression aberrante de la cycline D1) ;
- recherche de réarrangement récurrent de type « gène de fusion » (exemple : translocation t(2;5)(p23;q35) *NPM1/ALK* des lymphomes ALK+) ;

Tableau 2. Anomalies cytogénétiques des lymphomes et syndromes lymphoprolifératifs et conduite à tenir selon le diagnostic.

Lymphome/SLP au diagnostic	Caryotype informatif et concordance diagnostique → pas de FISH	Caryotype non informatif (ou échec) et/ou discordance diagnostique → FISH obligatoire ou recommandée	FISH optionnelle et remarques
Orientation diagnostique	Anomalies cytogénétiques récurrentes	Cibles FISH obligatoire(s) ou recommandée(s)	Cibles FISH optionnelle(s) et remarques
Lymphome folliculaire	t(14;18)(q32;q21) <i>IGH/BCL2</i> , t(2;18)(p11;q21) <i>IGK/BCL2</i> ou t(18;22)(q21;q11) <i>IGL/BCL2</i>	Recommandées : <i>BCL2</i> ou <i>IGH/BCL2</i> <i>BCL6</i> si absence de réarrangement <i>BCL2</i>	<i>IRF4</i> , chez l'enfant/adulte jeune en l'absence de réarrangement <i>BCL2</i> et <i>BCL6</i> <i>MYC</i> en présence d'une forme agressive ou avec cellules circulantes
Lymphomes B agressifs	Lymphome de Burkitt t(8;14)(q24;q32) <i>IGH/MYC</i> ou t(2;8)(p11;q24) <i>IGK/MYC</i> ou t(8;22)(q24;q11) <i>IGL/MYC</i> Caryotype simple (< 3 anomalies) Lymphome B à grandes cellules t(3;14)(q27;q32) <i>IGH/BCL6</i> ou t(3;v)(q27;v) <i>BCL6/v</i> t(14;18)(q32;q21) <i>IGH/BCL2</i> ou variantes t(8;14)(q24;q32) <i>IGH/MYC</i> ou translocations <i>non-IG/MYC</i> Caryotype souvent complexe (≥ 3 anomalies) Lymphome B intermédiaire entre Burkitt et grandes cellules Simple-hit : cf translocations d'un des 3 loci 8q24/ <i>MYC</i> , 18q21/ <i>BCL2</i> , 3q27/ <i>BCL6</i> Double-hit : translocations 8q24/ <i>MYC</i> et 18q21/ <i>BCL2</i> ou 3q27/ <i>BCL6</i> Triple-hit : translocations 8q24/ <i>MYC</i> et 18q21/ <i>BCL2</i> et 3q27/ <i>BCL6</i> Caryotype souvent complexe (≥ 3 anomalies)	Recommandées Lymphome de Burkitt : <i>MYC</i> ou <i>IGH/MYC</i> Autres lymphomes B agressifs : <i>MYC</i> ou <i>IGH/MYC</i> <i>BCL2</i> et <i>BCL6</i> chez l'adulte Si FISH exclusivement en interphase et difficulté diagnostique : Obligatoires : <i>MYC</i> , <i>BCL2</i> et <i>BCL6</i> Recommandées : <i>IGH</i> , <i>IGK</i> et <i>IGL</i>	Le diagnostic de lymphome de Burkitt implique la présence d'un réarrangement <i>IG/MYC</i> , à de rares exceptions près. Localisations extraganglionnaires fréquentes dans les lymphomes B agressifs de l'adulte (moelle osseuse, plèvre, liquide d'ascite...), accessibles à un nouveau prélèvement pour caryotype.
Lymphome du manteau	t(11;14)(q13;q32) <i>IGH/CCND1</i> ou t(11;v)(q13;v) <i>IG/CCND1</i> Translocations variantes : - t(2;12)(p11;p13) <i>IGK/CCND2</i> ou t(12;22)(p13;q11) <i>IGL/CCND2</i> - t(6;14)(p21;q32) <i>IGH/CCND3</i> - t(2;14)(p24;q32) <i>IGH/MYCN</i>	Obligatoire : <i>CCND1</i> ou <i>IGH/CCND1</i> Si translocations variantes, cycline D1 négatives (*) : FISH recommandée selon le caryotype <i>CCND2</i> ou <i>CCND3</i> ou <i>MYCN</i>	Optionnel : <i>MYC</i> dans les formes blastoïdes
Lymphome splénique de la zone marginale	Délétion 7q32 Trisomies/gains 3/3q, 12/12q, 1q, 8q, 18 et délétion 6q	Recommandé : del(7q), trisomie 3/trisomie 18, <i>BCL6</i> pour détecter les trisomies partielles 3q	
Lymphome nodal de la zone marginale	Trisomies/gains 3/3q et 18/18q	Recommandé : trisomie 3/trisomie 18, <i>BCL6</i> pour détecter les trisomies partielles 3q	
Lymphome de MALT	t(11;18)(q22;q21) <i>BIRC3/MALT1</i> t(1;14)(p22;q32), <i>IGH/BCL10</i> t(14;18)(q32;q21) <i>IGH/MALT1</i> t(3;14)(p14;q32) <i>IGH/FOXP1</i> trisomie 3, trisomie 18	Obligatoire : en cas de localisation gastrique : <i>BIRC3/MALT1</i> (*)	Optionnel en cas de localisation non gastrique : <i>MALT1</i> ou <i>BIRC3/MALT1</i> trisomie 3/ trisomie 18

Tableau 2. (Suite)

Lymphome/SLP au diagnostic	Caryotype informatif et concordance diagnostique → pas de FISH	Caryotype non informatif (ou échec) et/ou discordance diagnostique → FISH obligatoire ou recommandée	FISH optionnelle et remarques
Maladie de Waldenström	Délétion 6q Trisomie 4 (+/- trisomie 18) Délétion 17p (<i>TP53</i>), délétion 13q	Recommandé : <i>TP53</i>	Optionnel : del(6q), trisomie 4
Autres syndromes lymphoprolifératifs B (non LLC**)	Trisomie 12 Délétion 13q, délétion 14q, délétion 6q	Obligatoire : <i>CCND1</i> ou <i>IGH/CCND1</i> si SLP-B CD5 positif	
Leucémie prolymphocytaire B	Translocations 8q24/ <i>MYC</i> délétion 17p (<i>TP53</i>) Caryotype complexe (≥ 3 anomalies)	Recommandé : <i>TP53</i> et <i>MYC</i>	
Lymphome anaplasique à grandes cellules ALK+	t(2;5)(p23;q35) <i>ALK/NPM1</i> ou variantes t(2;v)(p23;v) <i>ALK/v</i>	Obligatoire : <i>ALK</i> (*)	
Leucémie prolymphocytaire T	inv(14;14)(q11;q32) ou t(14;14)(q11;q32) <i>TRD/TCL1</i> t(X;14)(q28;q11) <i>TRD/MTCP1</i> délétion 11q (<i>ATM</i>) Caryotype complexe (≥ 3 anomalies)		Optionnel : <i>TRD</i> , <i>ATM</i>
Lymphome T hépatosplénique γδ	Isochromosome 7q Trisomie 8		Optionnel : 7p/7q, <i>CEP8</i>

L'exploration cytogénétique (caryotype et/ou FISH) est recommandée dans les lymphomes et les SLP au diagnostic. * Dans certains cas, la FISH peut être remplacée par d'autres techniques. ** LLC : leucémie lymphoïde chronique.

– recherche de mutation(s) somatique(s) acquise(s) caractéristique(s), bien que non spécifiques (exemple : mutation de *MYD88* dans la maladie de Waldenström ou de *BRAF* dans la leucémie à tricholeucocytes).

Conduite à tenir selon l'orientation diagnostique et les résultats de cytogénétique

Le *tableau 2* résume les principales anomalies cytogénétiques observées dans les différents sous-types de lymphome et précise la nature des cibles FISH selon l'orientation du diagnostic. En pratique, devant un caryotype informatif avec anomalies récurrentes classiques, en accord avec le diagnostic, l'exploration FISH n'est pas indispensable. En cas de caryotype non informatif ne permettant pas d'orienter le diagnostic (caryotype normal ou échec de culture ou anomalies cytogénétiques non spécifiques ou qualité médiocre de la préparation ne permettant pas une analyse précise), la FISH complémentaire ciblée est obligatoire, recommandée ou optionnelle, selon les données morphologiques et immunophénotypiques : la nature des cibles est détaillée selon le sous-type de lymphome suspecté.

La FISH (voire la biologie moléculaire) peut également être utile en cas de translocation variante rare (exemple : lymphomes du manteau cycline D1-négatifs).

Profil cytogénétique et moléculaire des lymphomes et des syndromes lymphoprolifératifs

Lymphome folliculaire

Les lymphomes folliculaires (LF) représentent 20 à 30 % des lymphomes non hodgkiniens, l'âge médian au diagnostic étant de 55 ans. L'évolution clinique se révèle très variable de la forme indolente avec multiples rechutes chimiosensibles associées à une survie globale longue jusqu'à la forme rapidement évolutive, plus agressive, associée à une survie écourtée [8].

La translocation t(14;18)(q32;q21), anomalie primaire des LF, est détectée dans 80 à 90 % des lymphomes folliculaires et rarement isolée (4 % des cas). Elle aboutit à un réarrangement *IGH/BCL2*, qui place l'oncogène anti-apoptotique *BCL2* sous le contrôle de l'*enhancer* du gène des chaînes lourdes d'immunoglobulines (*IGH*) induisant la dérégulation de l'expression de *BCL2* [9]. Des translocations variantes sont également décrites telles

que la t(2;18)(p11;q21) *IGK/BCL2* et la t(18;22)(q21;q11) *IGL/BCL2* dans 2 % des cas [10]. La t(14;18) peut être cryptique, la FISH sur métaphase constituant le meilleur outil pour la mettre en évidence. Ce remaniement cryptique peut se présenter sous différentes formes moléculaires : i) insertion de la partie 5' *BCL2* dans le locus *IGH* ; ii) fusion *IGH/BCL2* avec une délétion 5' *IGH* ; iii) insertion du gène *BCL2* dans son intégralité au sein du locus *IGH*. La présentation clinique est identique quel que soit le type de réarrangement *IG/BCL2*, cryptique ou non.

Des anomalies additionnelles sont habituellement observées au diagnostic (seuls 4 % des LF présentent une t(14;18) isolée), à l'origine d'un caryotype souvent complexe avec de fréquents sous-clones. Par ordre de fréquence décroissante, les anomalies additionnelles sont les suivantes : anomalies du chromosome 1 (36 %, principalement de 2 types : délétion 1p, gain 1q), délétion 6q (29 %), trisomie 18 ou gain d'un dérivé der(18)t(14;18) (28%), X surnuméraire (26 %), trisomie 7 (19 %), anomalies 3q27 (12 %), trisomie 12 (12 %, plutôt dans les formes évolutives ou en rechute), délétion 17p (9 %, rare au diagnostic). Höglund *et al.* ont pu établir la séquence des événements chromosomiques additionnels et ainsi définir des sous-groupes cytogénétiques déterminés par la présence ou l'absence de délétion 6q, trisomie 7, ou présence d'un der(18)t(14;18) [11]. De rares formes polyploïdes (nombre modal supérieur à 60 chromosomes) sont également décrites. La signification pronostique de ces anomalies additionnelles n'est pas tranchée, notamment le pronostic de la délétion 1p36 qui reste controversé, de même que la complexité du caryotype, non prédictive de l'évolution ni de la survie [12]. Lors de l'évolution du LF (rechutes, transformation), l'un des sous-clones cytogénétiques peut devenir majoritaire. Tout grade histologique confondu, un réarrangement de *MYC* est décrit dans 13 % des cas, y compris au sein des LF de bas grade (grade 1 ou 2). L'impact pronostique négatif de la présence d'un réarrangement de *MYC* n'est établi que dans les rares cas de transformations de LF [8, 9].

Une proportion non négligeable (10 à 20 %) d'authentiques cas de LF ne comportent pas de t(14;18) *IGH/BCL2* ni en cytogénétique conventionnelle, ni en FISH. Dans ces formes, on observe un réarrangement de *BCL6* dans 22 % des cas, soit plus fréquemment que dans les LF avec t(14;18). Les remaniements de *BCL6* sont encore plus fréquents dans les LF de grade 3B, de l'ordre de 44 % [13]. Pour rappel, seul le pathologiste est en mesure de discriminer un authentique LF de grade 3B d'un lymphome B diffus à grandes cellules, la cytogénétique ne permettant pas de faire cette distinction. Par ailleurs, les réarrangements de *BCL2* et *BCL6* peuvent être associés. Il existe également des cas de LF sans réarrangement de ces 2 loci, avec une fréquence plus élevée de délétion 1p36 [14].

Face à un diagnostic de LF sans t(14;18) en cytogénétique conventionnelle, la FISH *IGH/BCL2* (ou *BCL2*) est recommandée en première intention, la recherche d'un réarrangement de *BCL6* étant secondairement recommandée en l'absence de réarrangement *BCL2*. La recherche d'un remaniement de *MYC* est optionnelle dans les rares cas de LF agressifs (présence de cellules circulantes, présentation clinique agressive). Chez l'enfant ou l'adulte jeune, en l'absence de réarrangement *BCL2* ou *BCL6*, la recherche d'un réarrangement de *IRF4* est optionnelle (tableau 2) [15].

La pathogenèse du LF est un processus multi étapes incluant des modifications épigénétiques, l'acquisition de mutations somatiques et des modifications du microenvironnement. La translocation t(14;18)(q32;q21) constitue l'évènement génétique primaire initial. L'expression constitutive de la protéine *BCL2*, résultat de cette translocation, permet la survie de cellules B issues du centre germinatif (CG). Cependant 50 à 70 % des individus sains présentent des cellules circulantes porteuses de la t(14;18) (détectables par PCR quantitative ultrasensible), la très grande majorité d'entre eux ne développant pas de LF. Ce constat indique que l'hyperexpression de *BCL2* est à elle seule insuffisante pour générer un LF. Néanmoins, ces sujets sains porteurs de cellules circulantes t(14;18)-positifs ont un risque plus élevé de développer un LF que les sujets sans t(14;18) [16]. Le suivi de ces individus t(14;18)-positifs a permis d'établir une relation clonale entre la cellule B circulante t(14;18) positive des individus sains et la cellule de LF, démontrant l'existence d'une cellule B pré-maligne de LF issue du CG [17]. La cellule B circulante t(14;18)-positive des sujets sains correspond à une cellule mémoire B IgM qui va subir des stimulations antigéniques répétées dans le CG. Ces cellules exprimant *BCL2* échappent à l'apoptose, se développent dans le CG, sont relarguées dans la circulation puis trouvent une niche adéquate dans laquelle le microenvironnement folliculaire favorise leur prolifération. Il s'ensuit une instabilité génomique et l'acquisition d'évènements génétiques entraînant la transformation de la cellule B t(14;18)-positive en cellule de LF. Ces données suggèrent l'existence d'anomalies génétiques additionnelles à la t(14;18), à l'origine du processus de transformation. Les nouvelles approches moléculaires (séquençage à haut débit, CGH-array, SNP-array) ainsi que des modèles murins ont permis de préciser la nature de ces anomalies :

- mutations précoces (*driver mutations*) de gènes régulateurs de l'épigénétique tels que *KMT2D* muté dans 80 à 90 % des cas, *CREBBP* muté dans 60 % des cas, *EZH2* et *MEF2B*, mutés dans 15 % et 20 % des cas, respectivement ;
- mutation précoce de *STAT6* (voie JAK-STAT) dans 11 % des cas ;

– mutations de gènes impliqués dans la réponse immune dans 20 à 60 % des cas (*TNFSR14*, incriminé dans la délétion 1p36, *B2M*, *CD58*), renforçant le rôle majeur du microenvironnement dans cette entité ;

– évènements génétiques plus tardifs, non présents au diagnostic impliquant des gènes de régulation du cycle cellulaire (*CDKN2A/p16*), de la voie NF-κB (*CARD11*, *TNFAIP3/A20*, *MYD88*), de l'ontogenèse B (*EBF1*), ces mutations étant parfois restreintes à la phase de transformation [18].

Ces différentes anomalies génétiques sont probablement responsables de la grande diversité génétique au diagnostic et renforcent la notion d'hétérogénéité de l'évolution des LF.

Lymphomes B agressifs

Prise en charge cytogénétique d'un lymphome B agressif

La classification OMS 2008 des lymphomes a bouleversé l'approche cytogénétique des lymphomes B agressifs [2] : outre l'abandon du terme « lymphome de Burkitt atypique », la classification OMS 2008 a identifié une nouvelle entité provisoire déclinée comme « Lymphome B intermédiaire entre Burkitt et diffus à grandes cellules » (BCLU, *B-Cell Lymphoma Unclassifiable with features intermediate between Diffuse Large B-cell Lymphoma and Burkitt lymphoma*) et dont les caractéristiques sont décrites ci-après.

L'une des difficultés rencontrées par le pathologiste dans le cadre d'un lymphome B agressif repose donc sur la distinction entre le lymphome de Burkitt, le lymphome B à grandes cellules (DLBCL, *Diffuse Large B-Cell Lymphoma*) et la forme intermédiaire entre Burkitt et grandes cellules (BCLU). Dans ce cadre, l'approche diagnostique cytogénétique des lymphomes B agressifs s'appuie sur les éléments suivants : complexité du caryotype, présence (ou non) de réarrangements des gènes *MYC* et/ou *BCL2* et/ou

BCL6, voire de la caractérisation des gènes partenaires en cas de réarrangement du locus *MYC* (famille des immunoglobulines *IGH*, *IGK*, *IGL*, ou non).

Le réarrangement *IG/MYC* représente l'anomalie cytogénétique primaire des lymphomes de Burkitt, mais il n'est pas spécifique à cette entité. Le gène *MYC* est ainsi réarrangé dans d'autres hémopathies matures B : les DLBCL (jusqu'à 30 % chez l'enfant), la majorité des BCLU, les lymphomes plasmablastiques, les lymphomes du manteau (notamment la forme blastoïde), les lymphomes folliculaires (transformés en DLBCL ou non), les myélomes/leucémies à plasmocytes (notamment évolutifs), les leucémies prolymphocytaires B voire des LLC. Concernant ces entités et à l'opposé du lymphome de Burkitt, ces réarrangements de *MYC* constituent toujours une anomalie secondaire, parfois décrite en phase de rechute ou de transformation [19]. La seule présence d'un réarrangement de *MYC* par FISH interfase ne suffit donc pas pour retenir le diagnostic de lymphome de Burkitt.

Le lymphome « double-hit » (DH) est défini par l'existence d'un double réarrangement d'oncogènes, dont l'un d'entre eux implique *MYC* : le plus souvent il s'agit de DH *MYC/BCL2*, plus rarement de DH *MYC/BCL6*, de « triple-hit » TH *MYC/BCL2/BCL6*, voire de « quadruple-hit » QH *MYC/BCL2/BCL6/CCND1* [20]. La plupart de ces DH, TH ou QH présentent un réarrangement *MYC/non-IG*, au sein d'un caryotype souvent très complexe [21]. Actuellement, ces lymphomes agressifs DH/TH/QH ne constituent pas *stricto sensu* une entité à part entière de la classification OMS 2008, bien que la majorité d'entre eux représente des BCLU (tableau 3). Quel que soit le diagnostic histopathologique final retenu, ces lymphomes DH/TH/QH confèrent au patient une évolution très agressive et un pronostic très sombre, avec une survie globale inférieure à 12 mois [22, 23]. De récentes données suggèrent un pronostic encore plus défavorable en cas de réarrangement *IG/MYC* vs *non-IG/MYC* qu'il soit isolé ou DH/TH [24, 25].

Tableau 3. Fréquence et nature des principales caractéristiques cytogénétiques des lymphomes B agressifs.

Caractéristiques cytogénétiques	Burkitt	DLBCL	BCLU
Caryotype *	Souvent 'simple'	Souvent complexe	Souvent complexe
Réarrangement <i>MYC</i>	> 95 % des cas toujours SH** et de type <i>IG/MYC</i>	5 à 10 %	35 à 90 % souvent de type DH/TH*** et rarement <i>IGH/MYC</i>
Réarrangement de type Non- <i>IG/MYC</i>	Non	Rare	Parfois
Réarrangement <i>BCL2</i>	Non	15 %	25 à 50 %
Réarrangement <i>BCL6</i>	Non	30 %	10 %
Double hit ou triple hit	Non	3 %	35 à 75 %

* Caryotype simple si < 3 anomalies, caryotype complexe si ≥ 3 anomalies ; ** SH : simple hit ; *** DH/TH : double hit/triple hit.

Dans ce contexte, la cytogénétique conventionnelle et moléculaire apparaît indispensable pour le diagnostic différentiel entre ces différentes entités ainsi que pour l'identification des lymphomes B DH/TH/QH. De plus, chez l'adulte, cette distinction est cruciale en raison de l'approche thérapeutique radicalement différente pour chacun de ces lymphomes et du pronostic très défavorable des lymphomes B DH/TH/QH [25]. Actuellement, il n'existe aucun marqueur biologique capable à lui seul de distinguer formellement un BCLU d'un DLBCL ou d'un BL. La discrimination entre ces trois entités repose donc sur un faisceau d'arguments, dont l'approche cytogénétique fait partie intégrante.

À ce jour, aucune alternative technique n'est validée pour se substituer à l'analyse cytogénétique (caryotype et/ou FISH) de ces tumeurs [26]. Le caryotype conventionnel présente l'avantage d'établir le degré de complexité cytogénétique, de mettre en évidence les remaniements des loci 3q27/*BCL6*, 8q24/*MYC*, 18q21/*BCL2*, les remaniements complexes et de discriminer les remaniements *IG/MYC* des remaniements *non-IG/MYC*. La FISH métagasique et/ou interphasique sur culot de cytogénétique sera ciblée selon les données du caryotype et en fonction des données cliniques, histologiques et immunophénotypiques de la tumeur (Ki-67, *BCL6*, *BCL2*. . .).

En cas de difficulté d'accès au matériel tissulaire frais, il apparaît légitime de réaliser un caryotype conventionnel devant une localisation extra-ganglionnaire facilement accessible (moelle osseuse, sang, liquide pleural ou d'ascite. . .). En l'absence de caryotype, la FISH sera proposée en fonction des données cliniques, histologiques et immunophénotypiques de la tumeur (Ki-67, *BCL6*, *BCL2*. . .) ; le nombre et la nature des cibles FISH peuvent être déterminés en fonction de ces éléments :

- la FISH ciblant *MYC* est obligatoire devant tout diagnostic de DLBCL de type GCB chez l'enfant, l'adulte jeune ou de présentation agressive (clinique et/ou histologique) ;
- chez l'adulte, devant toute suspicion de BCLU, de difficulté diagnostique, la FISH est indispensable pour les cibles *MYC*, *BCL2* et *BCL6* et recommandée pour les cibles *IGH*, *IGK* et *IGL* en cas de réarrangement du locus *MYC*.

À défaut du caryotype, la complexité du génome d'un lymphome peut également être appréciée par le caryotype moléculaire (CGH-array ou SNP-array) [27, 28].

Lymphome de Burkitt (BL)

Le lymphome de Burkitt représente 3 % des diagnostics de lymphomes. Il est caractérisé par un réarrangement du gène *MYC* avec l'un des gènes d'immunoglobulines (*IGH* ou *IGK* ou *IGL*). Il s'agit d'une translocation t(8;14)(q24;q32) *IGH/MYC* dans 80 % des cas, d'une t(2;8)(p11;q24) *IGK/MYC* ou d'une t(8;22)(q24;q11) *IGL/MYC*, dans 15 %

et 5 % des cas, respectivement. Cette translocation aboutit à la dérégulation de l'expression de *MYC* par juxtaposition du gène *MYC* aux éléments régulateurs des loci des immunoglobulines. Ce réarrangement *IG/MYC* constitue l'anomalie cytogénétique primaire du lymphome de Burkitt.

Les anomalies cytogénétiques secondaires associées sont fréquentes, la translocation *IG/MYC* ne se présentant isolément que dans 30 % des cas. Le gain 1q par duplication, translocation déséquilibrée ou isochromosome 1q constitue l'anomalie secondaire la plus fréquente (40 à 50 % des cas). Les remaniements du chromosome 13 (addition, délétion ou remaniement complexe intrachromosomique) sont détectés dans 30 % des cas. Sont également constatés un gain partiel ou total du chromosome 7 (+7q/+7) dans 10 % des cas, une trisomie 12 (5 %), les délétions 6q (5 %) ou plus rarement 17p (3 %), les anomalies 11q, voire la perte d'un chromosome sexuel [29].

La combinaison variable de ces anomalies aboutit dans une grande majorité des cas à un caryotype 'simple' associant un réarrangement *IG/MYC* et au maximum 2 à 3 anomalies cytogénétiques parmi les anomalies secondaires précédemment décrites. Cette « signature cytogénétique » constitue un apport majeur pour le diagnostic du lymphome de Burkitt. De fait, en présence d'un remaniement *MYC/non-IG*, d'un DH (voire TH ou QH) et d'un caryotype très complexe, le diagnostic de lymphome de Burkitt devrait être écarté (tableau 3) [29-31].

D'exceptionnels cas de lymphome de Burkitt sans réarrangement *IG/MYC* ont été rapportés, certaines données suggérant l'implication de micro-ARN (miR-34b), à l'origine de la dérégulation de l'expression de *MYC* [32, 33]. Une récente étude décrit d'autres cas de lymphomes B dont les aspects cliniques, morphologiques et moléculaires sont ceux d'un lymphome de Burkitt sans réarrangement *IG/MYC*. Ces lymphomes présentent une anomalie commune du bras long du chromosome 11 (associant un gain interstitiel 11q23.2-q23.3 et une délétion 11q24.1-qter). Cette anomalie est identifiable en cytogénétique conventionnelle et pourrait constituer une entité à part entière, biologiquement très proche des lymphomes de Burkitt [33].

MYC constitue le gène le plus fréquemment muté (70 %) dans les BL : ces mutations acquises sont le plus souvent localisées au niveau du domaine de transactivation du gène et sont à l'origine d'un renforcement des capacités prolifératives de la tumeur [34]. Le séquençage à haut-débit a permis d'améliorer la compréhension des mécanismes oncogéniques de ces tumeurs : des mutations activatrices des gènes *CCND3* (38 % des cas) et/ou *TCF3* (11 % des cas) et inactivatrices des gènes *ID3* (58 % des cas, mono- ou bi-alléliques) et *CDKN2A* (18 % des cas) sont décrites, à l'origine d'un maintien actif de la signalisation via le BCR (*B Cell Receptor*), aboutissant à une prolifération cellulaire

intense. Des mutations inactivatrices de *TP53* et *PTEN* sont également observées dans 35 % et 7 % des cas, respectivement [34].

Lymphomes B diffus à grandes cellules (DLBCL)

Le caryotype des DLBCL est le plus souvent complexe, hyperdiploïde dans 2/3 des cas, avec une fréquence accrue des gains des chromosomes X, 3, 5, 7, 11, 12 et 18 (10 à 15 % des cas) alors que les pertes et délétions les plus courantes concernent les chromosomes Y, 4, 6 et 15 (5 à 10 % des cas). Les réarrangements 14q32/*IGH* constituent l'anomalie de structure la plus fréquente (40 à 50 % des cas). Le gène *BCL6* (3q27) est réarrangé dans 30 à 40 % des cas, le plus souvent sous la forme d'une translocation t(3;14)(q27;q32) *IGH/BCL6*, bien que plus de 20 partenaires de *BCL6* aient été identifiés dans les DLBCL (*IKZF1*, *MYC*, *CIITA*, *PIM1*, *RHOH*, ...). Le réarrangement de *BCL2* est observé dans 15 à 20 % des cas, fréquemment par translocation t(14;18)(q32;q21) *IGH/BCL2*. Le réarrangement de *MYC* dans les DLBCL est observé dans 5 à 17 % des cas ; il s'agit de réarrangements *MYC/IG* ou *MYC/non-IG*, impliquant des partenaires de *MYC* variés (*BCL6*, *PAX5*, *BCL11A*, *IKZF1* pour les plus fréquents) [35]. Les DLBCL avec réarrangement de *MYC* (sans double hit) sont décrits comme d'évolution agressive et associés à un pronostic défavorable [24, 36-38].

À ce jour, 3 % d'authentiques DLBCL sont rapportés comme DH, le plus souvent de type *MYC/BCL2*. Le pronostic défavorable de ces DLBCL DH est confirmé par de nombreuses équipes [23, 26].

Les données transcriptomiques ont permis de déterminer l'existence de plusieurs sous-types moléculaires de lymphomes B, selon leur recouvrement avec une contrepartie cellulaire physiologique : GCB (*Germinal Center B-cell like*), ABC (*Activated B-Cell like*) et PMBL (*Primary Mediatinal B-cell Lymphoma*). Différents algorithmes immunohistochimiques construits selon ces données transcriptomiques et largement utilisés en routine, s'appuient sur l'expression d'une sélection de marqueurs cellulaires, notamment, CD10, *BCL6* et *MUM1* pour l'algorithme de Hans, le plus fréquemment utilisé ; celui-ci permet de discriminer le sous-type GCB (*Germinal Center B-cell like*) du sous-type non-GCB (*non Germinal Center B-cell like*) du DLBCL [39]. L'intérêt clinique de la distinction GCB vs non-GCB repose sur le pronostic moins favorable des DLBCL non-GCB [40]. Sont associés au sous-type GCB, la translocation t(14;18) *IGH/BCL2* (quasi-exclusivement associée à ce sous-type), les gains 2p, 12q, 7q et 1q, alors que les anomalies observées dans le sous-type ABC sont les gains 3/3q, 18/18q (gain ou amplification de *BCL2*), 19q, les délétions 6q et 9p [41]. Les translocations impliquant *BCL6* se distribuent dans les deux sous-types GCB et ABC, bien que la t(3;14) *IGH/BCL6* soit plus fréquemment asso-

ciée au sous-type ABC. Ces profils cytogénétiques distincts suggèrent l'existence de deux voies oncogéniques distinctes dans les DLBCL. Les réarrangements de *MYC* sont également présents dans les 2 sous-types GCB et ABC, avec une fréquence importante des double-hit *MYC/BCL2* dans le sous-type GCB [42].

Les mutations somatiques répertoriées dans les DLBCL concernent les gènes impliqués dans le remodelage épigénétique (*CREBBP/p300*, muté dans 35 % des cas ; *MLL2*, muté dans 30 % des cas, *EZH2*, muté dans 22 % des DLBCL de sous-type GCB) ou impliqués dans les mécanismes d'échappement au système immunitaire (*B2M*, muté ou délété dans 30 % des cas ; *CD58* muté ou délété dans 20 % des cas). Certaines mutations sont spécifiquement associées à un sous-type de DLBCL, renforçant la notion de la mise en jeu de voies oncogéniques distinctes : les mutations de *BCL2*, *BCL6*, *MEF2B*, *EZH2* sont associées au sous-type GCB alors que les mutations de *CD79a/CD79b*, *MYD88*, *TNFAIP3 (A20)*, *BLIMP1* et *CARD11* sont associées au sous-type non-GCB et à l'origine d'une activation constitutive de la voie NFκB [43-45]. À noter également la présence de mutations de *MYC* dans les DLBCL avec réarrangement *MYC* ou DH et de *CCND3* ou *ID3*, de fréquence non négligeable dans les DLBCL avec réarrangement de *MYC* (25 et 30 %, respectivement) [46].

Lymphome B inclassable, intermédiaire entre Burkitt et diffus à grandes cellules (BCLU)

Cette nouvelle entité provisoire décrite dans la classification OMS 2008 se définit comme une catégorie hétérogène de lymphomes B agressifs dont les critères morphologiques et/ou immunophénotypiques sont par définition intermédiaires entre Burkitt et DLBCL et ne permettent pas de retenir le diagnostic de l'une de ces deux entités [2, 47]. Le profil d'expression génique des BCLU témoigne également de leur caractère intermédiaire entre lymphome de Burkitt et DLBCL.

Il s'agit d'un diagnostic rare (3 % des cas de lymphome B), souvent décrit chez le sujet âgé et de présentation clinique hétérogène mais agressive, avec une fréquence importante de localisations extra-ganglionnaires [47]. Le pronostic de ces BCLU est très défavorable [47, 48]. Aucun critère morphologique ou immunohistochimique ne permet de déterminer formellement le diagnostic, bien que la plupart de ces tumeurs présentent un index de prolifération très élevé (Ki-67 > 90 %) et sont plus fréquemment répertoriées dans le sous-type GCB de la classification de Hans [26]. Sur le plan cytogénétique, le caryotype est souvent complexe, avec une fréquence élevée de réarrangements de *MYC* (35 à 90 % selon les études) dont une proportion importante de DH *MYC/BCL2* ou *MYC/BCL6*, voire de TH *MYC/BCL2/BCL6* (35 à 75 % des cas, selon les études). En immunohistochimie, les DH sont souvent de

sous-type GCB, les DH *MYC/BCL2* exprimant le plus souvent le CD10 et *BCL2* mais rarement *MUM1*, alors que les DH *MYC/BCL6* expriment rarement le CD10 ou *BCL2* et plus souvent *MUM1* [42].

De récents arguments moléculaires basés sur des données transcriptomiques renforcent ce statut de lymphome B agressif « de la zone grise », avec 66 % de mutations du gène *ID3* (moindre proportion de mutation bi-allélique que dans le BL), 50 % de mutations de *MYC* et 29 % de mutations de *CCND3* [46]. Ces mutations (*CCND3*, *ID3*, *MYC*) sont également présentes dans les formes DH et les formes avec réarrangement de *MYC* non DH. Ces résultats demandent à être confirmés.

Le recouvrement des mutations décrites dans les BL, DLBCL et BCLU reflète la difficulté diagnostique de cette entité sur le plan moléculaire. Ces nouvelles données renforcent la nécessité d'une étroite concertation pluridisciplinaire, indispensable dans le cadre du diagnostic d'un lymphome B agressif.

Lymphome à cellules du manteau

Le lymphome à cellules du manteau (MCL) est caractérisé par la translocation t(11;14)(q13;q32). Cette translocation aboutit à la juxtaposition de séquences régulatrices du gène *IGH* avec le gène de la cycline D1 (*CCND1*), à l'origine de l'hyperexpression nucléaire de la cycline D1.

Le caryotype réalisé après culture avec mitogènes (ODN + IL2) est informatif dans plus de 2/3 des cas.

La translocation t(11;14)(q13;q32) *IGH/CCND1* classique est détectée dans près de 90 % des cas ; les translocations variantes sont décrites dans 10 % des cas, les translocations t(2;11)(p11;q13) *IGK/CCND1* ou t(11;22)(q13;q11) *IGL/CCND1* restant exceptionnelles [49, 50].

L'analyse pluridisciplinaire fine et détaillée de plusieurs cas compatibles avec un MCL sans translocation t(11;14)(q13;q32) a permis de définir un nouveau sous-groupe : les MCL *CCND1*-négatifs. Ces MCL *CCND1*-négatifs sont le plus souvent porteurs d'un réarrangement de la cycline D2 (55 % des cas), dont le plus fréquent se présente sous forme d'une translocation t(2;12)(p11;p13) *IGK/CCND2* [50]. D'autres translocations sont décrites dans ce sous-groupe avec par ordre de fréquence décroissante : la t(12;22)(p13;q11) *IGL/CCND2*, la t(6;14)(p21;q32) *IGH/CCND3* et plus rarement la t(2;14)(p24;q32) *IGH/MYC* [51]. En l'absence d'analyse cytogénétique, la positivité de *SOX11* (détectée par immunohistochimie ou biologie moléculaire) peut conforter le diagnostic d'un lymphome du manteau *CCND1*-négatif [50].

Les anomalies secondaires associées à la t(11;14) (ou aux translocations primaires n'impliquant pas un réarrangement *IG/CCND1*) sont principalement représentées par des

pertes/délétions, plus fréquentes que les gains chromosomiques : délétion 13q (25 %), 1p, 6q, 9p, 9q, 17p (20 % respectivement), 8p, 10p, 11q (10 % respectivement) et gain 3q/+3 (10 %). La présence d'un réarrangement 8q24/*MYC* est associée à une évolution plus agressive et aux formes blastoïdes de MCL. La complexité du caryotype (présence d'au moins 3 anomalies secondaires en plus de la t(11;14)) a récemment été décrite comme associée à un pronostic défavorable [52].

L'impact pronostique de la délétion 17p13 impliquant *TP53* est encore discuté. Certains lymphomes du manteau se présentent avec une évolution clinique très lente (MCL indolents). Bien que les critères cliniques et biologiques de cette sous-entité ne soient pas clairement établis, certaines données suggèrent qu'un caryotype simple ou une t(11;14) isolée, chez un patient avec forme leucémique pure, évoque un MCL indolent [52, 53]. L'absence d'expression de *SOX11* constituerait l'une des caractéristiques des MCL indolents [54].

Le profil mutationnel des MCL retrouve des mutations somatiques acquises variées, non spécifiques, de gènes impliqués dans le cycle cellulaire (*ATM*, *TP53*, *CCND1*), le contrôle épigénétique (*WHCS1*, *KMT2D*, *MEF2B*), la voie *NOTCH* (*NOTCH1*, *NOTCH2*) [55].

Lymphomes de la zone marginale

Dans la classification OMS 2008, les lymphomes de la zone marginale (LZM) se déclinent en trois entités distinctes comprenant les LZM spléniques (LZMS), les LZM ganglionnaires (LZMN) et les LZM extra-ganglionnaires développés à partir des tissus lymphoïdes présents au niveau des muqueuses ou lymphome du MALT (*Mucosa-Associated Lymphoid Tissue*) [2].

Même si ces trois entités comportent des anomalies chromosomiques communes, elles sont néanmoins caractérisées par des profils cytogénétiques différents permettant de grouper les LZMS et les LZMN en LZM non-MALT et de les distinguer des MALT. De façon très schématique, les profils cytogénétiques associent préférentiellement des anomalies chromosomiques de nombre pour les LZM non MALT et des anomalies chromosomiques de structure pour les MALT.

Les anomalies communes aux trois entités sont les trisomies complètes ou partielles pour les chromosomes 3 et/ou 18. Lorsque ces trisomies sont partielles, elles intéressent essentiellement les bras longs des chromosomes (+3q et/ou +18q). L'incidence de ces anomalies est variable selon les séries publiées et les techniques utilisées pour les identifier (caryotype, FISH ciblée, CGH, etc.). Ainsi, les trisomies 3/3q sont retrouvées dans 20 % à 80 % des LZM non-MALT et dans 10 % à 75 % des MALT (variation selon la localisation du lymphome), tandis que les trisomies 18/18q sont

identifiées dans 5 % à 40 % des LZM non-MALT et dans 4 % à 25 % des MALT. Un point commun aux 3 entités est l'association de ces 2 anomalies dans près de 20 % des cas, ce qui permet de distinguer les LZM des autres syndromes lymphoprolifératifs chroniques B. À ce jour, aucun gène candidat présent sur ces chromosomes n'a pu être identifié comme ayant un rôle prédominant dans la physiopathologie et le développement de la maladie. Parmi les anomalies additionnelles que l'on peut observer, on retrouve des trisomies 1q, 8q et 12q ainsi que les délétions 6q.

À côté de ces anomalies chromosomiques communes, certaines aberrations chromosomiques plus « spécifiques » permettent de distinguer les LZM non-MALT des MALT.

LZM non-MALT de type LZMS

– Délétion (7q) : selon la technique utilisée pour sa détection, 26 % à 45 % des LZMS présentent une del(7q) [56, 57]. Ces délétions peuvent être interstitielles ou terminales et aucun point de cassure récurrent n'a été décrit. La taille de la région minimale de délétion est de 2,8 Mb et implique la bande 7q32 [58]. Si de nombreux gènes de cette région chromosomique tels que *POT-1*, *MIR29A*, *MIR29B*, *IRF5*, sont de possibles gènes candidats, aucun d'entre eux n'a pour l'instant été reconnu comme gène cible.

– t(9;14)(p13;q32) *PAX5/IGH* et t(14;19)(q32;q13) *IGH/BCL3*: ces translocations, bien que rares et non spécifiques, ont cependant été décrites dans les LZMS.

– Gènes cibles : les données récentes de séquençage à haut débit ont montré que près de la moitié des LZMS présentent des mutations du gène *NOTCH2*, faisant de ce dernier un marqueur moléculaire diagnostique de ces lymphomes [59].

Lymphomes du MALT

Ces lymphomes sont caractérisés par 4 translocations distinctes dont l'incidence est variable selon le site anatomique des lésions :

– t(11;18)(q22;q21) *BIRC3/MALT1*. Cette anomalie a été la première à être décrite dans les années 1990. Elle se rencontre plus fréquemment dans les MALT touchant le poumon (30 % - 50 %), l'intestin (10 % - 60 %) et l'estomac (5 % - 25 %). Dans les localisations gastriques, son incidence est beaucoup plus élevée dans les formes négatives pour *Helicobacter pylori* (60 % vs 15 %). Par ailleurs, elle présente une valeur prédictive sur la réponse tumorale à l'éradication de l'infection par antibiothérapie spécifique. En effet, sa présence est associée à une absence de réponse tumorale durable dans près de 100 % des cas. L'identification de cette anomalie est donc indispensable dans les localisations gastriques compte tenu de l'impact sur la prise en charge thérapeutique des patients ;

– t(1;14)(p22;q32) *BCL10/IGH*. Décrite en 1999, cette anomalie est extrêmement rare, se rencontrant plutôt dans les MALT pulmonaires (9 % des cas) ou intestinaux (4 %).

Elle conduit à la dérégulation de l'oncogène *BCL10*, du fait de sa juxtaposition aberrante avec les séquences régulatrices du gène codant pour les chaînes lourdes des immunoglobulines ;

– t(14;18)(q32;q21) *IGH/MALT1*. Cette anomalie, qui ne doit pas être confondue avec la t(14;18) du lymphome folliculaire (impliquant le gène *BCL2* et également localisé en 18q21), se retrouve essentiellement dans les MALT oculaires (~25 % des cas) et dans les MALT des glandes salivaires (16 %). Elle conduit à la dérégulation du gène *MALT1* ;

– t(3;14)(p14;q32) *FOXP1/IGH*. Dernière décrite (2005), cette anomalie se rencontre principalement dans les MALT de la thyroïde (50 % des cas) ainsi que dans les MALT de l'orbite et de la peau, mais avec des pourcentages inférieurs allant de 10 % à 20 %.

Maladie de Waldenström

La difficulté à obtenir des métaphases en cytogénétique classique dans la maladie de Waldenström (MW) explique que peu d'anomalies chromosomiques récurrentes soient décrites dans cette hémopathie. Lorsque des métaphases sont obtenues (~80 % des cas), la moitié des caryotypes présentent des anomalies chromosomiques clonales et pour 1/3, les caryotypes sont complexes [60]. Par ordre de fréquence, les anomalies chromosomiques sont représentées par les délétions 6q (30 %), les trisomies 18 (15 %), les délétions 13q (13 %), les monosomies 17p conduisant à la délétion du gène *TP53* (8 %), les trisomies 4 (8 %), les délétions 11q responsables de la délétion du gène *ATM* et enfin les trisomies 12 (4 %).

Si les del(11q), del(13q), del(17p) et trisomie 12 et trisomie 18 sont également rencontrées dans d'autres syndromes lymphoprolifératifs chroniques B, l'identification de trisomie 4 et/ou de délétion 6q présente une valeur diagnostique dans la MW et permet de définir un profil cytogénétique assez spécifique.

Les techniques globales d'a-CGH ont permis d'identifier près de 83 % d'anomalies chromosomiques clonales. Parmi ces anomalies on retrouve les anomalies décrites en cytogénétique classique, à savoir 38 % à 50 % de délétions 6q, 20 % de trisomies 4, 10 % de délétions 13q et 17p [61]. En revanche, deux nouvelles anomalies ont également été rapportées grâce à cette technologie. Il s'agit du gain 6p (17 %) et de la trisomie 3 (10 %).

Les technologies sophistiquées de séquençage à haut débit ont permis de démontrer que la mutation L265P du gène *MYD88* (3p22) se rencontre chez plus de 90 % des patients atteints d'une maladie de Waldenström. Bien que non spécifique, la fréquence de cette mutation dans la MW fait de son identification un marqueur diagnostique des plus robustes [62].

Peu de données sont disponibles quant à la signification pronostique de ces anomalies dans cette hémopathie. Il semblerait cependant que les trisomies 12 ainsi que les délétions 17p présentent une valeur pronostique péjorative, les patients porteurs de ces anomalies ayant une survie sans progression mais également une survie globale plus courtes.

Leucémies polymphocytaires

Leucémies polymphocytaires B

La leucémie polymphocytaire B (LPL-B) est une hémopathie très rare du sujet âgé, caractérisée par une évolution clinique agressive et une résistance aux chimiothérapies. Elle a initialement été décrite comme une forme variante de leucémie lymphoïde chronique, mais est maintenant reconnue comme une entité à part entière dans la classification OMS 2008, définie par un taux de polymphocytes circulants supérieur à 55 %. Elle doit être distinguée des LLC "mixtes" avec augmentation du taux de polymphocytes (restant inférieurs à 55 % des lymphocytes circulants) [2]. La cellule d'origine et les événements oncogéniques responsables de la LPL-B sont inconnus. Son diagnostic est principalement basé sur les données cliniques, morphologiques et phénotypiques. Cependant, en raison des similarités avec d'autres hémopathies B matures (en particulier les lymphomes du manteau et les lymphomes de la zone marginale spléniques), le diagnostic peut parfois poser des difficultés. L'intégration des analyses cytogénétiques s'avère alors utile pour différencier la LPL-B des autres syndromes lymphoprolifératifs B.

En raison de la rareté de la maladie, les études cytogénétiques des LPL-B ne sont pas nombreuses, le plus souvent sous forme de petites séries ou de cas rapportés. L'évaluation de la fréquence des anomalies chromosomiques est de ce fait peu précise. Les caryotypes sont le plus souvent complexes. Aucune anomalie spécifique n'a été mise en évidence mais plusieurs anomalies récurrentes ont été décrites. Des délétions du gène *TP53* sont détectées dans plus de 50 % des cas, associées à des mutations du gène *TP53* [63]. Les anomalies conduisant à la dérégulation de l'oncogène *MYC* (8q24) sont également fréquentes. Il peut s'agir de translocations impliquant le gène *MYC* et un locus des gènes des chaînes des immunoglobulines (*IGH*, *IGK* ou *IGL*), ou de gains d'une ou plusieurs copies de ce gène [64-66].

Les autres anomalies récurrentes sont les délétions 13q14, incluant le gène *RBI*, et les délétions 11q22 (gène *ATM*) [67]. Les descriptions initiales rapportaient la présence d'une translocation t(11;14)(q13;q32) avec hyperexpression de la cycline D1 dans plus de 20 % des LPL-B. Cependant, ces cas sont maintenant considérés dans la classification OMS 2008 comme des variants leucémiques de lymphome à cellules du manteau [68].

La présence de mutations du gène *TP53* dans cette pathologie est connue depuis longtemps, et serait associée à un pronostic plus défavorable. Cependant, aucune étude du profil mutationnel à large échelle n'est actuellement disponible.

Leucémies polymphocytaires T

Comme les LPL-B, les leucémies polymphocytaires T (LPL-T) sont des pathologies rares, agressives, avec un haut degré de complexité génomique.

Deux types d'altérations génétiques jouent un rôle majeur dans la pathogenèse des LPL-T : l'hyperexpression des gènes *TCLI/MTCP1* et l'inactivation du gène *ATM*. Les translocations ou inversions impliquant, d'une part, les locus des gènes des *TCR* et, d'autre part, les gènes de la famille *TCLI/MTCP1* sont constantes et spécifiquement associées aux LPL-T. Elles entraînent l'activation transcriptionnelle de l'oncogène *TCLI* localisé en 14q32 ou de son homologue *MTCP1* situé en Xq28. L'anomalie la plus fréquente, observée dans environ 75 % des cas, est l'inversion du chromosome 14, inv(14)(q11q32). La translocation t(14;14)(q11;q32) est plus rare. Ces deux anomalies entraînent la juxtaposition des locus des gènes *TRA/TRD* et *TCLI* [69]. De rares translocations t(7;14)(q34;q32) *TRB/TCLI* ont été rapportées. La translocation t(X;14)(q28;q11), impliquant les locus des gènes *TCRAD* et *MTCP1* est détectée dans environ 20 % des cas [70]. L'inactivation du gène *ATM* en 11q22 par mutation et/ou délétion, est présente dans presque 95 % des cas.

L'hyperexpression des gènes *TCLI/MTCP1* et l'inactivation du gène *ATM* sont des événements précoces mais ne suffisent pas à elles seules à induire un phénotype leucémique, suggérant la nécessité d'anomalies additionnelles. L'anomalie secondaire la plus fréquente est le gain du bras long du chromosome 8 (incluant le gène *MYC*) présent dans 2/3 des cas, sous forme d'isochromosome i(8)(q10), de trisomie 8, de t(8;8)(p12;q11) ou d'autres translocations déséquilibrées [71]. Les techniques de CGH-array et de SNP-array ont permis de mettre en évidence d'autres anomalies récurrentes telles que les délétions 12p (induisant une haploinsuffisance du gène *CDKN1B*), 17p, 22q, 13q, 6q, 9p et les gains 22q et 6p [72, 73].

Plus récemment, les techniques de séquençage à haut débit ont révélé la présence de mutations somatiques dans un grand nombre de gènes, permettant de mieux comprendre les événements oncogéniques contribuant au développement des LPL-T. Les plus fréquentes sont des mutations gain de fonction affectant la voie de signalisation JAK-STAT (gènes *IL2RG* (2 %), *JAK1* (8 %), *JAK3* (30 %), et *STAT5B* (36 %)), et des mutations inactivatrices touchant la réparation de l'ADN (*CHEK2*), la régulation épigénétique (*EZH2*), et la voie de dégradation protéosomique (*FBW10*) [74].

Autres lymphomes B

PMBL : lymphome primitif du médiastin et maladie de Hodgkin

L'accès au matériel est généralement difficile pour la cytogénétique de ces lymphomes. Pour les lymphomes de Hodgkin, la cytogénétique peut être informative malgré le faible nombre de cellules tumorales. Les caryotypes les plus fréquents sont des clones triploïdes voire tétraploïdes avec peu d'anomalies de structure. Le gain 9p, le plus souvent sous la forme d'un isochromosome 9p, est l'une des principales anomalies récurrentes ; il correspond à une amplification ciblant la région 9p24.1 et est responsable de gains des gènes *JAK2* et *PDL1/PDL2*, à l'origine de leur hyperexpression et d'une activation de la voie PD-1 favorisant la prolifération cellulaire [75]. Des translocations ciblant le gène *CIITA* (16p13) ont également été décrites. Des gains 2p15-p16 (impliquant *REL* et *BCL11A*) sont également décrits. La maladie de Hodgkin est très proche génétiquement du PMBL puisque les gains 9p24 (*JAK2* et *PDL1/PDL2*) et 2p15-p16 (gain des gènes *REL* et *BCL11A*) constituent des marqueurs génétiques récurrents de ces pathologies. À noter qu'un sous-type particulier de lymphome de Hodgkin nodulaire à prédominance lymphocytaire (NLPHL) présente un réarrangement du locus *BCL6/3q27* dans près de la moitié des cas, posant la question de son apparentée avec un DLBCL d'autant que les cellules expriment le CD20 [76].

Lymphome plasmoblastique

Le caryotype de ces lymphomes est souvent complexe, sans réarrangement de *BCL2* ni de *BCL6*, mais avec une fréquence élevée de réarrangement de *MYC* (50 à 80 % des cas), fréquemment de type *IGH/MYC*. Dans cette entité, le réarrangement de *MYC* confère au patient un pronostic très défavorable [19].

Lymphome des séreuses (PEL)

Les anomalies cytogénétiques sont peu spécifiques (trisomie 12 en particulier). La morphologie cellulaire pouvant mimer un lymphome de Burkitt, il est important de noter que les PEL ne comportent pas de réarrangement 8q24/*MYC*.

Lymphomes T

Les lymphomes T constituent 10 % des lymphomes en Occident (plus fréquents en Asie 20-30 %). La classification WHO 2008 décrit 18 entités différentes ainsi que plusieurs entités provisoires dont la plupart ont une évolution agressive [2]. Pendant longtemps la classification a été difficile du fait de la grande variabilité histologique, de l'absence de marqueurs immuno-histochimiques spécifiques et du peu d'anomalies génétiques spécifiques. Pourtant la distinction entre ces différentes catégories a une importance diagnostique, pronostique et thérapeutique.

Lymphomes anaplasiques à grandes cellules (ALCL) de phénotype T ou nul

Ce sont des lymphomes CD30+ constitués de deux entités cliniques différentes : i) les ALCL cutanés primaires dont l'évolution est généralement indolente (90 % de survie à 5 ans) ; peu d'anomalies cytogénétiques caractéristiques sont décrites, en dehors des réarrangements du gène *IRF4* avec des gènes non-*TCR* et de l'absence de remaniement du gène *ALK* [77] ; le profil d'expression génique est distinct de celui des ALCL systémiques ; ii) les ALCL systémiques dont l'évolution est plus agressive. Il existe 2 catégories distinctes d'ALCL systémiques en fonction de l'expression ou non de la protéine ALK. Les ALCL ALK-positifs, observés surtout chez les adolescents et adultes jeunes, ont classiquement un pronostic plus favorable que les formes ALK-négatifs. Ces deux entités présentent des profils d'expression géniques différents.

– ALCL ALK-positifs :

Ce sont des lymphomes T à grandes cellules se caractérisant par une co-expression des antigènes CD30 et EMA, un réarrangement du gène *ALK* et l'expression de la protéine ALK. ALK est une protéine kinase transmembranaire normalement non exprimée dans les cellules lymphoïdes. Son expression active différentes voies de signalisation, dont PI3K/AKT/mTOR, JAK/STAT3 et RAS/ERK. Cette activation engendre une prolifération et une augmentation de la survie cellulaire. Elle est nécessaire et suffisante pour induire un ALCL [78].

Plusieurs translocations impliquant le gène *ALK* en 2p23 ont été décrites. La plus fréquente (80 %) est la t(2;5)(p23;q35) qui génère le gène de fusion *NPM1-ALK*. Des translocations variantes ont été décrites avec d'autres gènes partenaires dont *TPM3* en 1q25 (13 %) et *AT1C* en 2q35 (1 %). Les autres partenaires ont une fréquence faible (< 1%). Toutes ces translocations sont associées à une expression anormale de la protéine ALK. La répartition sub cellulaire de cette dernière dépend du partenaire. La t(2;5)(p23;q35) est associée à une expression cytoplasmique, nucléaire et nucléolaire tandis que les autres partenaires sont plus souvent responsables d'une localisation cytoplasmique. Ces distributions différentes pourraient avoir un impact sur le caractère oncogénique d'*ALK* mais cela n'a pas encore été clairement démontré.

Les anomalies secondaires comportent des délétions (6q-, 17p-), la perte du chromosome Y, des gains des chromosomes X, 7 et 9. Le réarrangement associé de *MYC* aggrave le pronostic.

– ALCL ALK-négatifs :

Il s'agit d'une entité provisoire de la classification OMS 2008. Ces LNH touchent les adultes de 40-65 ans. La seule anomalie cytogénétique récurrente décrite est la translocation t(6;7)(p25.3;q32.3) [79]. Cette translocation interrompt le gène *DUSP22* (6p25.3, plus télomérique que

IRF4) qui est transposé au niveau du site fragile FRA7H en 7q32.3. Cette translocation induit une inhibition de *DUSP22* et l'activation du micro-ARN miR-29 en 7q32.3. Les conséquences moléculaires de cette anomalie restent à déterminer.

Les études des profils d'expression génique en CGH-array montrent l'existence de profils différents de ceux observés dans les ALCL *ALK+* et dans les LNH T-NOS [78].

Lymphomes T périphériques non ALCL

Remaniements du gène IRF4 (6p25.3) dans les lymphomes T périphériques (PTCL)

Le gène *IRF4 (MUM1)* est un facteur de transcription agissant sur la régulation de la différenciation lymphoïde normale. Il est exprimé dans les plasmocytes, certains lymphocytes B et dans les lymphocytes T activés. Des réarrangements de *IRF4* ont été décrits dans des myélomes, des LNH B et plus récemment dans des LNH T *ALK-* avec, dans les PTCL, la translocation t(6;14)(p25;q11) générant le gène de fusion *IRF4-TRD (TCRAD)* [80, 81].

Dans les myélomes et les lymphomes B, les réarrangements du gène *IRF4* induisent une surexpression de la protéine IRF4. La signification du réarrangement d'*IRF4* dans les LNH T reste à définir et pourrait dépendre du gène partenaire.

Translocation t(5;9)(q33;q22) dans les PTCL

La translocation t(5;9)(q33;q22) générant le gène de fusion *SYK-ITK* responsable d'une surexpression de *SYK* a été observée dans la variante folliculaire des PTCL [82, 83].

– Lymphome $\gamma\delta$ (gamma-delta) hépatosplénique

Il s'agit d'un lymphome systémique agressif, rare (< 1% des LNH) dérivant de lymphocytes T cytotoxiques. Ces lymphomes touchent les adolescents et les adultes jeunes, le plus souvent suite à un traitement immunosuppresseur. Ils se présentent cliniquement avec une hépatosplénomégalie sans adénopathie et un envahissement médullaire. Ces lymphomes se caractérisent par la présence d'un isochromosome i(7q) dont le nombre de copies augmente avec l'évolution de la maladie. Les autres anomalies décrites sont des trisomies 8 et des pertes de gonosomes.

Mutations récurrentes dans les lymphomes T périphériques

Dans certains types de PTCL, sans anomalie chromosomique récurrente, ont été mises en évidence des mutations somatiques apportant une aide à la classification des PTCL. Ces marqueurs moléculaires pourraient constituer des marqueurs diagnostiques, pronostiques et thérapeutiques.

Lymphome angio-immunoblastique T (AITL)

On observe des mutations dans les gènes impliqués dans la régulation épigénétique : *TET2* (76 %), *DNMT3A* (33 %)

et *IDH2* (20 %) [84, 85]. De plus, une mutation inhibitrice dans le gène *RHOA* codant pour une petite GTP-ase a été décrite dans 53 à 68 % des cas. La mutation G17V *RHOA* est spécifique des AITL [85, 86]. Les mutations de *TET2* et *DNMT3A* sont précoces et présentent dans les cellules pré-malignes. La mutation G17V *RHOA* apparaîtrait secondairement et serait responsable du passage en AITL. Les mutations d'*IDH2* sont plus tardives [87].

LGL-T

Des mutations somatiques activatrices du gène *STAT3* ont été observées dans 28 à 40 % des cas. Les mutations de ce gène sont non spécifiques mais plus rares dans les autres hémopathies [88].

Autres lymphomes T périphériques

Les autres catégories de PTCL constituent des entités rares pour lesquelles aucune anomalie chromosomique récurrente n'a été décrite. Le caryotype reste optionnel et sans influence sur la prise en charge des patients [78, 89]. Les anomalies chromosomiques le plus souvent observées sont :

- dans les AITL, les trisomies 3, 5 et X ;
- dans les leucémies agressives à cellules NK, il a été décrit des pertes en 6q (q21q25), en 11q et 13q ainsi que des gains de 1q ;
- dans le mycosis fungoïde, les caryotypes sont complexes dans les formes avancées ;
- concernant le lymphome extra-ganglionnaire NK/T type nasal, les anomalies chromosomiques les plus fréquentes sont des del(6q) et i(6p). Des études en CGH-array ont montré que les anomalies les plus fréquentes sont des gains en 2q et des pertes en 1 p36.23-p36.33, 6q16.1-q27, 4q12, 5q34-q35.3, 7q21.3-q22.1, 11q22.3-q23.3 et 15q11.2-q14 ;
- concernant les lymphomes T-NOS (*not otherwise specified*) : il s'agit d'un groupe hétérogène de lymphomes T dont certains sont CD30+, mais ces derniers sont de plus mauvais pronostic que les ALCL *ALK-*. Les lymphomes T-NOS sont souvent associés à un caryotype complexe, sans anomalie caractéristique. Les anomalies les plus fréquentes sont de type quantitatif avec pertes en 4q, 5q, 6q, 9p, 10q, 12q et 13q et gains en 7q, 8q, 17q, 22q. Les déséquilibres génétiques et le profil d'expression génique observés dans les PTCL-NOS sont différents de ceux observés dans les ALCL et AITL.

Particularités des lymphomes de l'enfant

La distribution des différents sous-types de lymphomes chez les enfants et les adolescents diffère significativement de celle de l'adulte. Ils sont principalement caractérisés par une grande majorité de lymphomes diffus de haut grade, le plus souvent de la lignée B et par de fréquentes localisations extra-ganglionnaires. Environ 90 % des lymphomes survenant chez les enfants et adolescents sont des lymphomes

de Burkitt (BL), des lymphomes lymphoblastiques (LBL), des lymphomes diffus à grandes cellules (DLBCL) ou des lymphomes anaplasiques (ALCL) ALK positif. Tous ces sous-types de lymphomes sont rares chez les adultes en dehors du DLBCL.

Les lymphomes B matures agressifs : 50 % des lymphomes de l'enfant

Ils sont principalement de type centre germinatif que ce soit les BL prédominant chez les enfants de 5 à 14 ans, ou les DLBCL, plus fréquents chez les adolescents [90]. Entre l'âge de 15 à 29 ans, le sous-type histologique prédominant passe du BL au DLBCL. À la différence des adultes, ces 2 types de lymphomes sont traités uniformément par une polychimiothérapie intensive sur une courte durée, donnant une survie globale supérieure à 90 %.

Les lymphomes de Burkitt (BL) : 80 % des LNHB agressifs de l'enfant

En dépit de la différence en termes de présentation clinique et notamment au niveau du sex ratio, les BL pédiatriques sont très similaires à ceux de l'adulte sur le plan génétique, contrairement aux DLBCL et aux ALCL [91, 92]. Une récente étude montre toutefois des différences, avec notamment chez les adultes une fréquence significativement augmentée de mutations double-hit *CCND3* et *ID3* d'une part et, d'autre part, de disomie uniparentale 18q21, qui semblent associées à une évolution plus défavorable (Havelange V *et al.*, à paraître en 2016).

Le locus *MYC* 8q24 est réarrangé dans la majorité des cas (96 %) avec un des locus des immunoglobulines. Cette translocation chromosomique est le plus souvent isolée ou associée à 1 ou 2 anomalies chromosomiques. Le caryotype n'est complexe que dans 30 % des cas. On retrouve les mêmes anomalies additionnelles que dans les BL de l'adulte. Les anomalies 13q, 7q (principalement les gains) et la complexité du caryotype sont pronostiques [93], de même que la maladie minimale disséminée et la maladie minimale résiduelle évaluée par PCR quantitative [94].

Les lymphomes diffus à grandes cellules (DLBCL) : 10 à 20 % des LNHB agressifs de l'enfant, plus fréquents chez l'adolescent

Les DLBCL des enfants et adolescents sont plus homogènes que chez l'adulte et partagent des caractéristiques avec les BL. Les DLBCL de l'enfant et de l'adulte jeune diffèrent de ceux de l'adulte pour les caractéristiques suivantes : (i) le sous-type GCB est prédominant (75-80 % au lieu de ~45 % chez les adultes), les DLBCL post-centre germinatif sont plus rares et apparaissent plutôt chez les grands adolescents ; (ii) le taux de prolifération est relativement plus élevé ; (iii) le réarrangement du locus *BCL2*/18q21 est quasiment absent avant l'âge de 18 ans alors que détecté

dans 20 à 30 % des DLBCL de sous-type GCB de l'adulte ; il en est de même pour le locus *BCL6*/3q27 (détecté dans ~30 % des DLBCL principalement post-GCB de l'adulte) ; (iv) le réarrangement du locus *MYC*/8q24 est nettement plus fréquent que chez l'adulte (environ 30 % des enfants), mais la fréquence diminue avec l'âge, notamment chez les adolescents, pour tendre vers 5-10 % chez les adultes ; (v) les DLBCL pédiatriques sont globalement plus homogènes et moins complexes sur le plan génomique que ceux de l'adulte [92].

Tous ces éléments sont en faveur d'une physiopathogénèse des DLBCL âge-dépendante avec un continuum [29]. Au niveau génétique, cela se reflète par une augmentation de la complexité des anomalies chromosomiques avec l'âge et en particulier des anomalies de type ABC (anomalie 3q27/*BCL6*, gain 18q21/*BCL2*) et de type GCB (+1q21, +7p22, +7q21) [92]. Ainsi le seuil de 18 ans fréquemment utilisé dans la pratique clinique est arbitraire et ne reflète pas la biologie du DLBCL. L'augmentation de la complexité génétique avec l'âge est dans une certaine mesure indépendante du sous-type de DLBCL.

Les lymphomes B inclassables (BCLU), présentant des caractéristiques intermédiaires entre BL et DLBCL

Cette entité est nettement plus rare dans la population pédiatrique que chez l'adulte et moins hétérogène. En particulier, il n'y a pas de formes double hit ou triple hit comme observé chez l'adulte et associées à un très mauvais pronostic. Les caryotypes sont souvent moins complexes. Néanmoins, il n'y a pas eu d'étude génétique publiée décrivant ce type de lymphome selon la dernière classification OMS 2008 dans la population pédiatrique. Des lymphomes inclassables persistent toutefois, même dans les études de profil d'expression génique dans des proportions variables [91, 92].

Les lymphomes primitifs du médiastin (PMBL) : 3 % des lymphomes de l'enfant

C'est un lymphome rare, qui à la différence des PMBL de l'adulte, présente une moins bonne survie chez les enfants et les adolescents que chez les adultes. Les caractéristiques morphologiques, immunophénotypiques et génétiques sont pourtant similaires entre les PMBL de l'enfant, de l'adolescent et de l'adulte. La différence pronostique en fonction de l'âge de survenue est donc vraisemblablement attribuable au type de traitement.

Les plus fréquentes anomalies chromosomiques sont les gains voire amplifications 9p24 (incluant les gènes *JAK2*, *PDL1* et *PDL2* dans ~60 % des cas) et les gains 2p15-p16 (comprenant *REL* et *BCL11A* dans ~40 % des cas), comme observés chez dans les PMBL de l'adulte et également dans le lymphome de Hodgkin classique [91, 95].

Les lymphomes anaplasiques à grandes cellules (ALCL) : 10-15 % des lymphomes de l'enfant

Les ALCL sont les plus fréquents des lymphomes T de l'enfant. Ils présentent un réarrangement du locus *ALK/2p23* dans environ 90 % des cas pédiatriques, fréquence plus élevée que chez l'adulte (un peu plus de 50 % des cas). Le gène *ALK* est le plus souvent réarrangé avec le gène *NPM1/5q35* dans le cadre de la *t(2;5)(p23;q35)*, plus rarement avec différents gènes partenaires, entraînant une activité tyrosine kinase constitutive. Ceci a conduit à l'utilisation de traitement ciblé sur l'anomalie génétique, inhibiteur de cette activité tyrosine kinase (Crizotinib®). Des mutations d'*ALK* peuvent entraîner des résistances aux inhibiteurs [96].

Les ALCL sans réarrangement du locus *ALK* sont très rares, l'incidence de ces formes augmentant avec l'âge mais ne différant pas entre les enfants et les adolescents. Ils sont associés à un moins bon pronostic.

Le lymphome de Hodgkin : ~40 % des lymphomes de l'enfant

C'est l'une des pathologies malignes les plus fréquentes des adolescents et adultes jeunes. Le sex ratio est en faveur des garçons dans les formes de l'enfant. Les caractéristiques cliniques et biologiques sont très similaires à celles des lymphomes de Hodgkin survenant chez l'adulte.

Autres lymphomes de l'enfant : les lymphomes folliculaires

Ces lymphomes B matures indolents sont très rares chez les enfants, apparaissant généralement à partir de 20-25 ans. À la différence des cas survenant chez les adultes, les très rares cas de FL de l'enfant sont plus souvent de grade III ou composite entre LF et DLBCL. Ils ont également une meilleure survie. Ces LF ont une prédilection pour la localisation tête et cou. Ils sont également caractérisés par un aspect blastoïde et un taux de prolifération élevé.

Le locus *BCL2/18q21* n'est généralement pas réarrangé. Des translocations récurrentes entraînant la juxtaposition du locus *IRF4(MUM1)/6p21* avec un des loci des gènes des immunoglobulines ont été identifiées dans des cas de LF de grade III ou de lymphome composite LF/DLBCL de l'enfant ou du jeune adulte, le plus souvent localisés au niveau de l'anneau de Waldeyer [15, 97]. Elles conduisent à l'activation du facteur de transcription *IRF4/MUM1*. La translocation *t(6;14)(p25;q32)* étant cryptique, la recherche d'un réarrangement du locus *IRF4* peut être réalisée par FISH en cas de diagnostic de LF de l'enfant ou de l'adulte jeune.

En pratique, pour les lymphomes de l'enfant, l'analyse cytogénétique repose sur :

– le caryotype : ces lymphomes étant le plus souvent prolifératifs, il suffit de réaliser des temps de culture à court

terme sans stimulation, voire une méthode directe en cas de suspicion de lymphome de Burkitt ;

– la FISH :

- devant un lymphome B mature de l'enfant (BL ou DLBCL) : exploration du locus *MYC* ;
- devant un lymphome anaplasique à grandes cellules T : exploration du locus *ALK* ;
- devant un lymphome lymphoblastique B ou T : cf chapitre correspondant.

Conclusion

La cytogénétique occupe actuellement une place grandissante et devient incontournable dans le diagnostic (voire le pronostic) des lymphomes et des SLP. Elle s'associe aux analyses moléculaires pour permettre une approche pluridisciplinaire optimale. Les précisions de la future classification des hémopathies malignes de l'OMS reposent sur l'évolution de la caractérisation diagnostique de ces multiples entités, permettant d'envisager de nouvelles thérapies ciblées.

Remerciements. Les auteurs remercient les docteurs Christian Bastard, Dominique Leroux, Pascaline Talmant, Agnès Daudignon, Evelyne Callet-Bauchu et Hélène Antoine-Poirel pour leurs contributions lors de la parution de la première version de ces recommandations (*Pathol Biol (Paris)* 2004 ; 52).

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Harris NL, Jaffe ES, Stein MH, Banks PM, Chan JK, Cleary ML, *et al.* A revised European-American classification of lymphoid neoplasms : a proposal from the International lymphoma study group. *Blood* 1994 ; 84 : 1361-92.
2. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, *et al.* *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues.* Lyon : IARC Press, 2008.
3. Struski S, Gervais C, Helias C, Herbrecht R, Audhuy B, Mauvieux L. Stimulation of B-cell lymphoproliferations with CpG-oligonucleotide DSP30 plus IL-2 is more effective than with TPA to detect clonale abnormalities. *Leukemia* 2009 ; 23 : 617-9.
4. Put N, Konings P, Rack K, Jamar M, Van Roy N, Libouton JM, *et al.* Improved detection of chromosomal abnormalities in chronic lymphocytic leukemia by conventional cytogenetics using CpG oligonucleotide and interleukin-2 stimulation : a Belgian multicentric study. *Genes Chromosomes Cancer* 2009 ; 48 : 843-53.
5. Tzankov A, Xu-Monette ZY, Gerhard M, Visco C, Dirnhofer S, Gisin N, *et al.* Rearrangements of *MYC* gene facilitate risk stratification in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with rituximab-CHOP. *Mod Pathol* 2014 ; 27 : 958-71.

6. Munoz-Marmol AM, Sanz C, Tapia G, Marginet R, Ariza A, Mate JL. MYC status determination in aggressive B-cell lymphoma : the impact of FISH probe selection. *Histopathology* 2013 ; 63 : 418-24.
7. May PC, Foot N, Dunn R, Geoghegan H, Neat MJ. Detection of cryptic and variant IGH-MYC rearrangements in high-grade non-Hodgkin's lymphoma by fluorescence in situ hybridization : implications for cytogenetic testing. *Cancer Genet Cytogenet* 2010 ; 198 : 71-5.
8. Relander T, Johnson NA, Farinha P, Connors JM, Sehn LH, Gascoyne RD. Prognostic factors in follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2010 ; 28 : 2902-13.
9. Kridel R, Sehn LH, Gascoyne RD. Pathogenesis of follicular lymphoma. *J Clin Invest* 2012 ; 122 : 3424-31.
10. Leroux D, Monteil M, Sotto JJ, Jacob MC, Le Marc'Hadour F, Bonnefoi H, et al. Variant t(2;18) translocation in a follicular lymphoma. *Br J Haematol* 1990 ; 75 : 290-2.
11. Hoglund M, Sehn L, Connors JM, Gascoyne RD, Siebert R, Sall T, et al. Identification of cytogenetic subgroups and karyotypic pathways of clonal evolution in follicular lymphomas. *Genes Chromosomes Cancer* 2004 ; 39 : 195-204.
12. Johnson NA, Al-Tourah A, Brown CJ, Connors JM, Gascoyne RD, Horsman DE. Prognostic significance of secondary cytogenetic alterations in follicular lymphomas. *Genes Chromosomes Cancer* 2008 ; 47 : 1038-48.
13. Jardin F, Gaulard P, Buchonnet G, Contentin N, Lepretre S, Lenain P, et al. Follicular lymphoma without t(14;18) and with BCL-6 rearrangement : a lymphoma subtype with distinct pathological, molecular and clinical characteristics. *Leukemia* 2002 ; 16 : 2309-17.
14. Katzenberger T, Kalla J, Leich E, Stocklein H, Hartmann E, Barnickel S, et al. A distinctive subtype of t(14;18)-negative nodal follicular non-Hodgkin lymphoma characterized by a predominantly diffuse growth pattern and deletions in the chromosomal region 1p36. *Blood* 2009 ; 113 : 1053-61.
15. Salaverria I, Philipp C, Oeschles I, Kohler CW, Kreuz M, Szczepanowski M, et al. Translocations activating IRF4 identify a subtype of germinal center-derived B-cell lymphoma affecting predominantly children and young adults. *Blood* 2011 ; 118 : 139-47.
16. Roulland S, Kelly RS, Morgado E, Sungalee S, Solal-Celigny P, Colombat P, et al. t(14;18) translocation : a predictive blood biomarker for follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2014 ; 32 : 1347-55.
17. Milpied P, Nadel B, Roulland S. Premalignant cell dynamics in indolent B-cell malignancies. *Curr Opin Hematol* 2015 ; 22 : 388-96.
18. Okosun J, Bodor C, Wang J, Araf S, Yang CY, Pan C, et al. Integrated genomic analysis identifies recurrent mutations and evolution patterns driving the initiation and progression of follicular lymphoma. *Nat Genet* 2014 ; 46 : 176-81.
19. Ott G, Rosenwald A, Campo E. Understanding MYC-driven aggressive B-cell lymphomas : pathogenesis and classification. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2013 ; 2013 : 575-83.
20. Bacher U, Haferlach T, Schnittger S, Weiss T, Burkhard O, Bechtel B, et al. Detection of a t(4;14)(p16;q32) in two cases of lymphoma showing both the immunophenotype of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 2010 ; 200 : 170-4.
21. Aukema SM, Siebert R, Schuurin E, van Imhoff GW, Kluin-Nelemans HC, Boerma EJ, et al. Double-hit B-cell lymphomas. *Blood* 2011 ; 117 : 2319-31.
22. Le Gouill S, Talmant P, Touzeau C, Moreau A, Garand R, Juge-Morineau N, et al. The clinical presentation and prognosis of diffuse large B-cell lymphoma with t(14;18) and 8q24/c-MYC rearrangement. *Haematologica* 2007 ; 92 : 1335-42.
23. Johnson NA, Boyle M, Bashashati A, Leach S, Brooks-Wilson A, Sehn LH, et al. Diffuse large B-cell lymphoma : reduced CD20 expression is associated with an inferior survival. *Blood* 2009 ; 113 : 3773-80.
24. Copie-Bergman C, Cuilliere-Dartigues P, Baia M, Briere J, Delarue R, Canioni D, et al. MYC-IG rearrangements are negative predictors of survival in DLBCL patients treated with immunochemotherapy : a GELA/LYSA study. *Blood* 2015 ; 126 : 2466-74.
25. Petrich AM, Nabhan C, Smith SM. MYC-associated and double-hit lymphomas : a review of pathobiology, prognosis, and therapeutic approaches. *Cancer* 2014 ; 120 : 3884-95.
26. Swerdlow SH. Diagnosis of 'double hit' diffuse large B-cell lymphoma and B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between DLBCL and Burkitt lymphoma : when and how, FISH versus IHC. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2014 ; 1 : 90-9.
27. Hummel M, Bentink S, Berger H, Klapper W, Wessendorf S, Barth TF, et al. A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N Engl J Med* 2006 ; 354 : 2419-30.
28. Tirado CA, Chen W, Garcia R, Kohlman KA, Rao N. Genomic profiling using array comparative genomic hybridization define distinct subtypes of diffuse large B-cell lymphoma : a review of the literature. *J Hematol Oncol* 2012 ; 5 : 54.
29. Boerma EG, Siebert R, Kluin PM, Baudis M. Translocations involving 8q24 in Burkitt lymphoma and other malignant lymphomas : a historical review of cytogenetics in the light of today's knowledge. *Leukemia* 2009 ; 23 : 225-34.
30. Seegmiller AC, Garcia R, Huang R, Maleki A, Karandikar NJ, 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 : 909-20.
31. Havelange V, Ameye G, Theate I, Callet-Bauchu E, Mugneret F, Michaux L, et al. Patterns of genomic aberrations suggest that Burkitt lymphomas with complex karyotype are distinct from other aggressive B-cell lymphomas with MYC rearrangement. *Genes Chromosomes Cancer* 2013 ; 52 : 81-92.
32. Leucci E, Cocco M, Onnis A, De Falco G, van Cleef P, Bellan C, et al. MYC translocation-negative classical Burkitt lymphoma cases : an alternative pathogenetic mechanism involving miRNA deregulation. *J Pathol* 2008 ; 216 : 440-50.
33. Salaverria I, Martin-Guerrero I, Wagener R, Kreuz M, Kohler CW, Richter J, et al. A recurrent 11q aberration pattern characterizes a subset of MYC-negative high-grade B-cell lymphomas resembling Burkitt lymphoma. *Blood* 2014 ; 123 : 1187-98.
34. Schmitz R, Young RM, Ceribelli M, Jhavar S, Xiao W, Zhang M, et al. Burkitt lymphoma pathogenesis and therapeutic targets from structural and functional genomics. *Nature* 2012 ; 490 : 116-20.
35. Bertrand P, Bastard C, Maingonnat C, Jardin F, Maisonneuve C, Courel MN, et al. Mapping of MYC breakpoints in 8q24 rearrangements involving non-immunoglobulin partners in B-cell lymphomas. *Leukemia* 2007 ; 21 : 515-23.
36. Barrans S, Crouch S, Smith A, Turner K, Owen R, Patmore R, et al. Rearrangement of MYC is associated with poor prognosis in patients with

diffuse large B-cell lymphoma treated in the era of rituximab. *J Clin Oncol* 2010 ; 28 : 3360-5.

37. Cuccuini W, Briere J, Mounier N, Voelker HU, Rosenwald A, Sundstrom C, *et al.* MYC+ diffuse large B-cell lymphoma is not salvaged by classical R-ICE or R-DHAP followed by BEAM plus autologous stem cell transplantation. *Blood* 2012 ; 119 : 4619-24.

38. Horn H, Ziepert M, Becher C, Barth TF, Bernd HW, Feller AC, *et al.* MYC status in concert with BCL2 and BCL6 expression predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2013 ; 121 : 2253-63.

39. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, *et al.* Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004 ; 103 : 275-82.

40. Gutierrez-Garcia G, Cardesa-Salzmann T, Climent F, Gonzalez-Barca E, Mercadal S, Mate JL, *et al.* Gene-expression profiling and not immunophenotypic algorithms predicts prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Blood* 2011 ; 117 : 4836-43.

41. Tagawa H, Suguro M, Tsuzuki S, Matsuo K, Karnan S, Ohshima K, *et al.* Comparison of genome profiles for identification of distinct subgroups of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2005 ; 106 : 1770-7.

42. Aukema SM, Kreuz M, Kohler CW, Rosolowski M, Hasenclever D, Hummel M, *et al.* Biological characterization of adult MYC-translocation-positive mature B-cell lymphomas other than molecular Burkitt lymphoma. *Haematologica* 2014 ; 99 : 726-35.

43. Pasqualucci L. The genetic basis of diffuse large B-cell lymphoma. *Curr Opin Hematol* 2013 ; 20 : 336-44.

44. Morin RD, Mendez-Lago M, Mungall AJ, Goya R, Mungall KL, Corbett RD, *et al.* Frequent mutation of histone-modifying genes in non-Hodgkin lymphoma. *Nature* 2011 ; 476 : 298-303.

45. Schuetz JM, Johnson NA, Morin RD, Scott DW, Tan K, Ben-Nierah S, *et al.* BCL2 mutations in diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia* 2012 ; 26 : 1383-90.

46. Momose S, Weissbach S, Pischmarov J, Nedeva T, Bach E, Rudelius M, *et al.* The diagnostic gray zone between Burkitt lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma is also a gray zone of the mutational spectrum. *Leukemia* 2015 ; 29 : 1789-91.

47. Salaverria I, Siebert R. The gray zone between Burkitt's lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma from a genetics perspective. *J Clin Oncol* 2011 ; 29 : 1835-43.

48. Perry AM, Crockett D, Dave BJ, Althof P, Winkler L, Smith LM, *et al.* B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and burkitt lymphoma : study of 39 cases. *Br J Haematol* 2013 ; 162 : 40-9.

49. Wlodarska I, Meeus P, Stul M, Thienpont L, Wouters E, Marcelis L, *et al.* Variant t(2;11)(p11;q13) associated with the IgK-CCND1 rearrangement is a recurrent translocation in leukemic small-cell B-non-Hodgkin lymphoma. *Leukemia* 2004 ; 18 : 1705-10.

50. Salaverria I, Royo C, Carvajal-Cuenca A, Clot G, Navarro A, Valera A, *et al.* CCND2 rearrangements are the most frequent genetic events in cyclin D1(-) mantle cell lymphoma. *Blood* 2013 ; 121 : 1394-402.

51. Wlodarska I, Dierickx D, Vanhentenrijk V, Van Roosbroeck K, Pospisilova H, Minnei F, *et al.* Translocations targeting CCND2, CCND3, and MYCN do occur in t(11;14)-negative mantle cell lymphomas. *Blood* 2008 ; 111 : 5683-90.

52. Sarkozy C, Terre C, Jardin F, Radford I, Roche-Lestienne C, Penther D, *et al.* Complex karyotype in mantle cell lymphoma is a strong prognostic factor for the time to treatment and overall survival, independent of the MCL international prognostic index. *Genes Chromosomes Cancer* 2014 ; 53 : 106-16.

53. Ondrejka SL, Lai R, Smith SD, Hsi ED. Indolent mantle cell leukemia : a clinicopathological variant characterized by isolated lymphocytosis, interstitial bone marrow involvement, kappa light chain restriction, and good prognosis. *Haematologica* 2011 ; 96 : 1121-7.

54. Navarro A, Clot G, Royo C, Jares P, Hadzidimitriou A, Agathangelidis A, *et al.* Molecular subsets of mantle cell lymphoma defined by the IGHV mutational status and SOX11 expression have distinct biologic and clinical features. *Cancer Res* 2012 ; 72 : 5307-16.

55. Bea S, Valdes-Mas R, Navarro A, Salaverria I, Martin-Garcia D, Jares P, *et al.* Landscape of somatic mutations and clonal evolution in mantle cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013 ; 110 : 18250-5.

56. Rinaldi A, Mian M, Chigrinova E, Arcaini L, Bhagat G, Novak U, *et al.* Genome-wide DNA profiling of marginal zone lymphomas identifies subtype-specific lesions with an impact on the clinical outcome. *Blood* 2011 ; 117 : 1595-604.

57. Salido M, Baro C, Oscier D, Stamatopoulos K, Dierlamm J, Matutes E, *et al.* Cytogenetic aberrations and their prognostic value in a series of 330 splenic marginal zone B-cell lymphomas : a multicenter study of the Splenic B-Cell Lymphoma Group. *Blood* 2010 ; 116 : 1479-88.

58. Watkins AJ, Hamoudi RA, Zeng N, Yan Q, Huang Y, Liu H, *et al.* An integrated genomic and expression analysis of 7q deletion in splenic marginal zone lymphoma. *PLoS One* 2012 ; 7 : e44997.

59. Rossi D, Trifonov V, Fangazio M, Bruscazzin A, Rasi S, Spina V, *et al.* The coding genome of splenic marginal zone lymphoma : activation of NOTCH2 and other pathways regulating marginal zone development. *J Exp Med* 2012 ; 209 : 1537-51.

60. Nguyen-Khac F, Lambert J, Chapiro E, Grelier A, Mould S, Barin C, *et al.* Chromosomal aberrations and their prognostic value in a series of 174 untreated patients with Waldenstrom's macroglobulinemia. *Haematologica* 2013 ; 98 : 649-54.

61. Monge J, Braggio E, Ansell SM. Genetic factors and pathogenesis of Waldenstrom's macroglobulinemia. *Curr Oncol Rep* 2013 ; 15 : 450-6.

62. Treon SP, Xu L, Yang G, Zhou Y, Liu X, Cao Y, *et al.* MYD88 L265P somatic mutation in Waldenstrom's macroglobulinemia. *N Engl J Med* 2012 ; 367 : 826-33.

63. Lens D, De Schouwer PJ, Hamoudi RA, Abdul-Rauf M, Farahat N, Matutes E, *et al.* p53 abnormalities in B-cell polyclonal lymphocytic leukemia. *Blood* 1997 ; 89 : 2015-23.

64. Nguyen-Khac F, Davi F, Receveur A, Maloum K, Morel V, Le Garff-Tavernier M, *et al.* Burkitt-type acute leukemia in a patient with B-prolymphocytic leukemia : evidence for a common origin. *Cancer Genet Cytogenet* 2005 ; 159 : 74-8.

65. Put N, Van Roosbroeck K, Konings P, Meeus P, Brusselmans C, Rack K, *et al.* Chronic lymphocytic leukemia and polyclonal lymphocytic leukemia with MYC translocations : a subgroup with an aggressive disease course. *Ann Hematol* 2012 ; 91 : 863-73.

66. Flatley E, Chen AI, Zhao X, Jaffe ES, Dunlap JB, Pittaluga S, *et al.* Aberrations of MYC are a common event in B-cell polyclonal lymphocytic leukemia. *Am J Clin Pathol* 2014 ; 142 : 347-54.

67. Lens D, Matutes E, Catovsky D, Coignet LJ. Frequent deletions at 11q23 and 13q14 in B cell polyclonal lymphocytic leukemia (B-PLL). *Leukemia* 2000 ; 14 : 427-30.

68. Ruchlemer R, Parry-Jones N, Brito-Babapulle V, Attolico I, Wotherspoon AC, Matutes E, *et al.* B-prolymphocytic leukaemia with t(11;14) revisited : a splenomegalic form of mantle cell lymphoma evolving with leukaemia. *Br J Haematol* 2004 ; 125 : 330-6.
69. Brito-Babapulle V, Catovsky D. Inversions and tandem translocations involving chromosome 14q11 and 14q32 in T-prolymphocytic leukemia and T-cell leukemias in patients with ataxia telangiectasia. *Cancer Genet Cytogenet* 1991 ; 55 : 1-9.
70. Stern MH, Soulier J, Rosenzweig M, Nakahara K, Canki-Klain N, Aurias A, *et al.* MTCP-1 : a novel gene on the human chromosome Xq28 translocated to the T cell receptor alpha/delta locus in mature T cell proliferations. *Oncogene* 1993 ; 8 : 2475-83.
71. Maljaei SH, Brito-Babapulle V, Hiorns LR, Catovsky D. Abnormalities of chromosomes 8, 11, 14, and X in T-prolymphocytic leukemia studied by fluorescence in situ hybridization. *Cancer Genet Cytogenet* 1998 ; 103 : 110-6.
72. Soulier J, Pierron G, Vecchione D, Garand R, Brizard F, Sigaux F, *et al.* A complex pattern of recurrent chromosomal losses and gains in T-cell prolymphocytic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2001 ; 31 : 248-54.
73. Durig J, Bug S, Klein-Hitpass L, Boes T, Jons T, Martin-Subero JJ, *et al.* Combined single nucleotide polymorphism-based genomic mapping and global gene expression profiling identifies novel chromosomal imbalances, mechanisms and candidate genes important in the pathogenesis of T-cell prolymphocytic leukemia with inv(14)(q11q32). *Leukemia* 2007 ; 21 : 2153-63.
74. Bergmann AK, Schneppenheim S, Seifert M, Betts MJ, Haake A, Lopez C, *et al.* Recurrent mutation of JAK3 in T-cell prolymphocytic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2014 ; 53 : 309-16.
75. Green MR, Monti S, Rodig SJ, Juszczynski P, Currie T, O'Donnell E, *et al.* Integrative analysis reveals selective 9p24.1 amplification, increased PD-1 ligand expression, and further induction via JAK2 in nodular sclerosing Hodgkin lymphoma and primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood* 2010 ; 116 : 3268-77.
76. Wlodarska I, Stul M, De Wolf-Peeters C, Hagemeijer A. Heterogeneity of BCL6 rearrangements in nodular lymphocyte predominant Hodgkin's lymphoma. *Haematologica* 2004 ; 89 : 965-72.
77. Kiran T, Demirkesen C, Eker C, Kumusoglu H, Tuzuner N. The significance of MUM1/IRF4 protein expression and IRF4 translocation of CD30(+) cutaneous T-cell lymphoproliferative disorders : a study of 53 cases. *Leuk Res* 2013 ; 37 : 396-400.
78. Piccaluga PP, Tabanelli V, Pileri SA. Molecular genetics of peripheral T-cell lymphomas. *Int J Hematol* 2014 ; 99 : 219-26.
79. Feldman AL, Dogan A, Smith DI, Law ME, Ansell SM, Johnson SH, *et al.* Discovery of recurrent t(6;7)(p25.3;q32.3) translocations in ALK-negative anaplastic large cell lymphomas by massively parallel genomic sequencing. *Blood* 2011 ; 117 : 915-9.
80. Feldman AL, Law M, Remstein ED, Macon WR, Erickson LA, Grogg KL, *et al.* Recurrent translocations involving the IRF4 oncogene locus in peripheral T-cell lymphomas. *Leukemia* 2009 ; 23 : 574-80.
81. Somja J, Bisig B, Bonnet C, Herens C, Siebert R, de Leval L. Peripheral T-cell lymphoma with t(6;14)(p25;q11.2) translocation presenting with massive splenomegaly. *Virchows Arch* 2014 ; 464 : 735-41.
82. Streubel B, Vinatzer U, Willheim M, Raderer M, Chott A. Novel t(5;9)(q33;q22) fuses ITK to SYK in unspecified peripheral T-cell lymphoma. *Leukemia* 2006 ; 20 : 313-8.
83. Huang Y, Moreau A, Dupuis J, Streubel B, Petit B, Le Guillou S, *et al.* Peripheral T-cell lymphomas with a follicular growth pattern are derived from follicular helper T cells (TFH) and may show overlapping features with angioimmunoblastic T-cell lymphomas. *Am J Surg Pathol* 2009 ; 33 : 682-90.
84. Cairns RA, Iqbal J, Lemonnier F, Kucuk C, de Leval L, Jais JP, *et al.* IDH2 mutations are frequent in angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Blood* 2012 ; 119 : 1901-3.
85. Odejide O, Weigert O, Lane AA, Toscano D, Lunning MA, Kopp N, *et al.* A targeted mutational landscape of angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Blood* 2014 ; 123 : 1293-6.
86. Sakata-Yanagimoto M, Enami T, Yoshida K, Shiraishi Y, Ishii R, Miyake Y, *et al.* Somatic RHOA mutation in angioimmunoblastic T cell lymphoma. *Nat Genet* 2014 ; 46 : 171-5.
87. Sakata-Yanagimoto M. Multistep tumorigenesis in peripheral T cell lymphoma. *Int J Hematol* 2015 ; 102 : 523-7.
88. Koskela HL, Eldfors S, Ellonen P, van Adrichem AJ, Kuusanmaki H, Andersson EI, *et al.* Somatic STAT3 mutations in large granular lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2012 ; 366 : 1905-13.
89. Bench AJ, Erber WN, Follows GA, Scott MA. Molecular genetic analysis of haematological malignancies II : Mature lymphoid neoplasms. *Int J Lab Hematol* 2007 ; 29 : 229-60.
90. Burkhardt B, Oschlies I, Klapper W, Zimmermann M, Woessmann W, Meinhardt A, *et al.* Non-Hodgkin's lymphoma in adolescents : experiences in 378 adolescent NHL patients treated according to pediatric NHL-BFM protocols. *Leukemia* 2011 ; 25 : 153-60.
91. Deffenbacher KE, Iqbal J, Sanger W, Shen Y, Lachel C, Liu Z, *et al.* Molecular distinctions between pediatric and adult mature B-cell non-Hodgkin lymphomas identified through genomic profiling. *Blood* 2012 ; 119 : 3757-66.
92. Klapper W, Kreuz M, Kohler CW, Burkhardt B, Szczepanowski M, Salaverria I, *et al.* Patient age at diagnosis is associated with the molecular characteristics of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2012 ; 119 : 1882-7.
93. Poirel HA, Cairo MS, Heerema NA, Swansbury J, Auperin A, Launay E, *et al.* Specific cytogenetic abnormalities are associated with a significantly inferior outcome in children and adolescents with mature B-cell non-Hodgkin's lymphoma : results of the FAB/LMB 96 international study. *Leukemia* 2009 ; 23 : 323-31.
94. Mussolin L, Pillon M, d'Amore ES, Conter V, Piglion M, Lo Nigro L, *et al.* Minimal disseminated disease in high-risk Burkitt's lymphoma identifies patients with different prognosis. *J Clin Oncol* 2011 ; 29 : 1779-84.
95. Oschlies I, Burkhardt B, Salaverria I, Rosenwald A, d'Amore ES, Szczepanowski M, *et al.* Clinical, pathological and genetic features of primary mediastinal large B-cell lymphomas and mediastinal gray zone lymphomas in children. *Haematologica* 2011 ; 96 : 262-8.
96. Eyre TA, Khan D, Hall GW, Collins GP. Anaplastic lymphoma kinase-positive anaplastic large cell lymphoma : current and future perspectives in adult and paediatric disease. *Eur J Haematol* 2014 ; 93 : 455-68.
97. Liu Q, Salaverria I, Pittaluga S, Jegalian AG, Xi L, Siebert R, *et al.* Follicular lymphomas in children and young adults : a comparison of the pediatric variant with usual follicular lymphoma. *Am J Surg Pathol* 2013 ; 37 : 333-43.