



Полатова Д.Ш.^{1,2}, Мадаминов А.Ю.^{1,2}✉, Каримова Н.М.^{1,2}, Гильдиева М.С.³,
Савкин А.В.^{1,2}, Ибрагимова Д.А.², Нуржабов А.И.², Асамединов Н.К.²,
Абдусаттаров О.К.¹, Насиров С.К.⁴

¹ Научно-практический медицинский центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Ташкент, Узбекистан

² Ташкентский государственный стоматологический институт, Ташкент, Узбекистан

³ Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр онкологии и радиологии, Ташкент, Узбекистан

⁴ Ташкентская медицинская академия, Ташкент, Узбекистан

Совмещение клеточного фенотипирования с хромосомными сигналами при гематоонкологических заболеваниях

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

Финансирование: исследование проведено без спонсорской поддержки.

Подана: 06.02.2025

Принята: 17.03.2025

Контакты: akhmad.madaminov@inbox.ru

Резюме

При диагностике гематоонкологических заболеваний (ГОЗ) своевременное выявление фенотипических и генетических маркеров в опухолевых клетках имеет большое значение для адекватной прогностической оценки и выбора эффективного варианта лечения. Многопараметрический метод Immuno-flowFISH, интегрирующий иммунофенотипирование, проточную цитометрию и FISH, позволяет одновременно обнаруживать множество молекулярных маркеров в мембране и хромосоме опухолевых клеток. В настоящее время установлено большое количество возникающих с той или иной частотой хромосомных aberrаций, ассоциированных с определенным вариантом ГОЗ. Одним из основных преимуществ метода Immuno-flowFISH является качественная и количественная морфофенотипическая идентификация одиночных клеток по хромосомным сигналам FISH с использованием различных аналитических инструментов в автоматизированном порядке. Неудивительно, что в ближайшем будущем использование всего технологического потенциала метода Immuno-flowFISH откроет множество конструктивных горизонтов в исследовании и лечении гематоонкологических заболеваний.

Ключевые слова: гематоонкологические заболевания, проточная цитометрия, иммунофенотипирование, FISH, Immuno-flowFISH



Polatova D.^{1,2}, Madaminov A.^{1,2}✉, Karimova N.^{1,2}, Gildieva M.³, Savkin A.^{1,2}, Ibragimova D.², Nurzhabov A.², Asamedinov N.², Abdusattarov O.¹, Nasirov S.⁴

¹ Scientific and Practical Medical Center for Children's Oncology, Hematology and Immunology, Tashkent, Uzbekistan

² Tashkent State Dental Institute, Tashkent, Uzbekistan

³ Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Oncology and Radiology, Tashkent, Uzbekistan

⁴ Tashkent Medical Academy, Tashkent, Uzbekistan

Combination of Cellular Phenotyping with Chromosomal Signals in Hemato-Oncological Diseases

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: all the authors made a significant contribution to the search and analytical study and preparation of the article, read and approved the final version before publication, agreed to assume responsibility for all aspects of the work, implying proper review and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the work.

Financing: the study was performed without external funding.

Submitted: 06.02.2025

Accepted: 17.03.2025

Contacts: akhmad.madaminov@inbox.ru

Abstract

When diagnosing hemato-oncological diseases (HOD), timely identification of phenotypic and genetic markers in tumor cells is of great importance for adequate prognostic assessment and selection of an effective treatment option. The multiparameter Immuno-flowFISH method, integrating immunophenotyping, flow cytometry and FISH, allows the simultaneous detection of multiple molecular markers in the membrane and chromosome of tumor cells. Currently, a large number of chromosomal aberrations that occur with varying frequencies and are associated with a certain variant of HOD have been identified. One of the main advantages of the Immuno-flowFISH method is the qualitative and quantitative morphophenotypic identification of single cells based on chromosomal FISH signals using various analytical tools in an automated manner. It is not surprising that in the near future, the use of the full technological potential of the Immuno-flowFISH method will open many constructive horizons in the study and treatment of hemato-oncological diseases.

Keywords: hemato-oncological diseases, flow cytometry, immunophenotyping, FISH, Immuno-flowFISH

■ ВВЕДЕНИЕ

Новейшие разработки в области крупномасштабного геномного анализа значительно улучшили наши знания о биологии гематоонкологических заболеваний (ГОЗ), открыв новые типы нарушений внутриклеточных молекулярных путей, на которые можно воздействовать терапевтически [1, 2]. Хотя ГОЗ относительно редко встречаются среди злокачественных опухолей в общей популяции, они широко

распространены среди детей в возрасте 1–14 лет [3, 4]. Наиболее общеизвестные прогностические факторы стратификации риска у этих пациентов включают возраст, количество лейкоцитов, иммунофенотип, минимальную остаточную болезнь, цитогенетические aberrации и поражение центральной нервной системы [5]. Более того, с помощью технологии флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) крайне сложно выявить низкоуровневые субклоны злокачественных клеток у пациентов с ГОЗ и в связи с этим полноценно оценить минимальную остаточную опухоль [6]. Хотя проточная цитометрия имеет большое значение для калибровки клеток по субпопуляциям с помощью иммунофенотипирования [7], она представляет собой отдельную технологическую платформу от FISH. Таким образом, существует инертный пробел между технологиями иммунофенотипирования и цитогенетического кариотипирования при распределении лейкозных клеток по субпопуляциям и идентификации более глубоких генетических маркеров.

В данной обзорной статье описан совершенно новый инновационный подход, устраняющий существующие ограничения. Метод под названием Immuno-flowFISH позволяет одновременно использовать иммунофенотипирование, проточную цитометрию и FISH [8]. Этот интегрированный многопараметрический метод проточного цитометрического иммунофенотипирования и FISH проводится на клетках в суспензии в одном эксперименте и не требует предварительного выделения или разделения клеток.

Детекция клеточных маркеров генетических aberrаций при гематоонкологических опухолях

Первой обнаруженной онкогенной aberrацией стала перестройка между хромосомами 9 и 22, цитогенетическое проявление которой – филадельфийская (Ph) хромосома, которая была выявлена в лейкозных клетках пациентов с хронической миелопролиферативной неоплазией в 1960 г. американскими исследователями P.C. Nowell и D.A. Hungerford [9]. К настоящему времени были обнаружены сотни хромосомных перестроек, связанных с развитием ГОЗ. Некоторые типы генетических реаранжировок (рекуррентные хромосомные аномалии) достаточно часто встречаются при опухолях определенной локализации. Своевременное выявление таких хромосомных структурных изменений опухолевых клеток в образце костного мозга при первичной диагностике острого лейкоза имеет большое значение для адекватной прогностической оценки и выбора эффективного лечения [10]. Результаты недавнего одноцентрового исследования II фазы подтверждают, что комбинация понатиниба и блинатумомаба показала высокую эффективность у пациентов с впервые диагностированным и рецидивирующим и рефрактерным острым лимфобластным лейкозом с филадельфийской хромосомой t(9;22)(q34;q11) [11].

На самом деле Всемирная организация здравоохранения поддерживает диагностику ГОЗ на основе комплексного подхода, включающего клинические особенности, морфологию, иммунофенотипирование и выявление генетических нарушений [12]. Сегодня стандартное кариотипирование, FISH, хромосомный микроматричный анализ, оптическое картирование генома и другие технологии широко используются для обнаружения хромосомных аномалий в клетках костного мозга при лейкозах и в образцах опухолевой ткани при лимфомах и некоторых видах солидных опухолей [13]. Иммунофенотипирование используется для количественной оценки



наличия клонированных злокачественных лимфоидных клеток (например, CD19+, CD5+ маркеров в В-ХЛЛ), тогда как флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) основана на количественном обнаружении структурных хромосомных aberrаций с использованием специфических ДНК-меченых зондов [14, 15]. В большинстве случаев рутинный FISH обычно оценивает специфические сигналы хромосом, представляющие интерес, в ядрах 100–200 клеток. Положительный результат требует обнаружения 1 аномальной клетки из 20 оцененных, что приводит к низкой диагностической чувствительности (чувствительность 5–7%) [16].

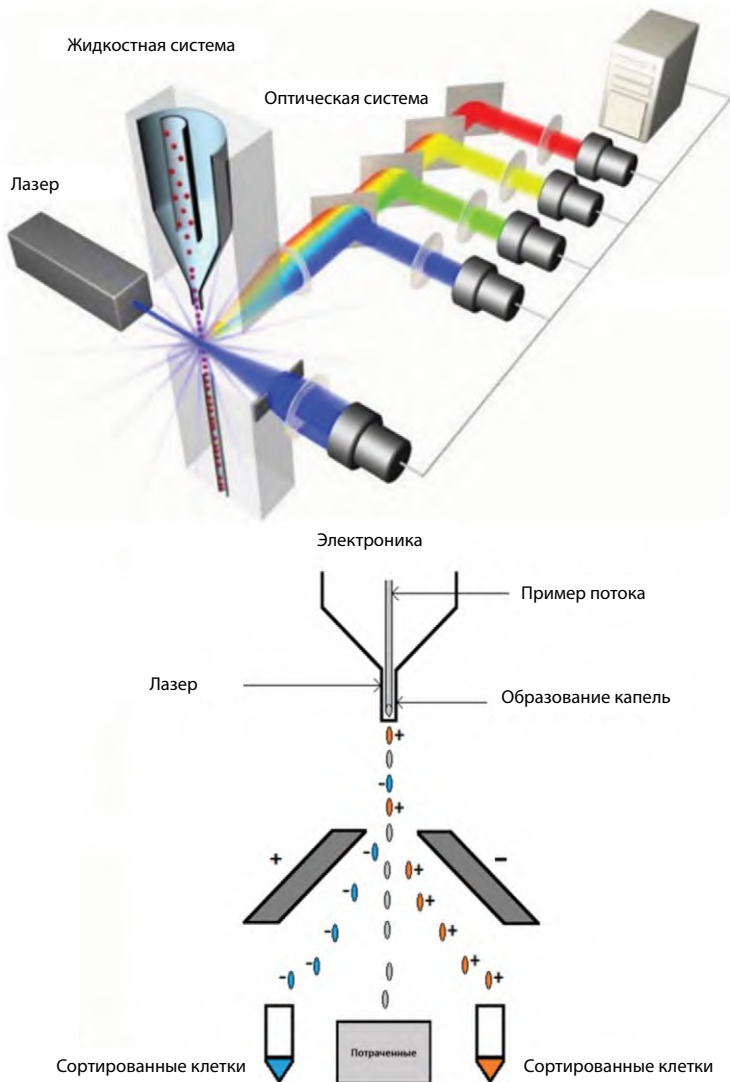


Рис. 1. Механизмы основного принципа работы проточной цитометрии
Fig. 1. The mechanisms of the basic principle of flow cytometry

В проточной цитометрии клетки направляются с высокой скоростью вдоль источников лазерного возбуждения, а детекторы сбора данных обеспечивают скорость оптического возбуждения более 10 000 клеток в секунду по более чем 30 каналам длины волны [17]. Уровень интенсивности флуоресценции, измеренный по каждому каналу, затем можно использовать для идентификации клеток с различными фенотипами с помощью инструментов многомерного анализа. Обычно это достигается путем проекционной конструкции серии двумерных диаграмм рассеяния различных комбинаций маркеров (рис. 1). Проточная цитометрия использует принципы рассеяния лазерного луча, а также эмиссию флуоресцентных молекул для сбора многопараметрических данных о клетках и частицах размером от 0,2 до 150 микрон на высокой скорости [18]. Визуализирующая проточная цитометрия в сочетании с современной системой ImageStream использует специальную камеру с интеграцией временной задержки для одновременного захвата до 12 множественных флуоресцентных изображений 1 клетки со скоростью до 5000 объектов в секунду [19].

Преимущества метода Immuno-FlowFISH

Соответственно, при диагностике острых лейкозов и некоторых видов лимфом своевременное выявление репертуара мембранных антигенов и хромосомных структурных изменений в опухолевых клетках имеет большое значение для адекватной прогностической оценки и выбора эффективного варианта лечения. Исключительные субклоны, возникающие самостоятельно в результате хромосомных aberrаций [t(14;18)(q32;q21), t(2;18)(p11.2;q21), t(8;21)(q22;q22), t(6;9)(p22;q34), t(5;7)(q33;q11), inv(16)(p13;q22), делеция TP53 (del17p) и т. д.] при ГОЗ [20], служат факторами риска и прогноза, связанными с рецидивом и прогрессированием заболевания [21]. Тот факт, что эти редкие субклоны, которые по своей природе связаны с индолентной минимальной остаточной болезнью, не могут быть обнаружены с помощью стандартного FISH-анализа, обусловлен наличием внутриклональной гетерогенности. В этом смысле Immuno-flowFISH необходим для выявления спектра внутриклональной гетерогенности и наиболее уникальной конфигурации среди этих субклонов путем анализа тысяч клеток в образцах на каждый случай. Immuno-flowFISH подходит для оценки хромосомных дефектов в кроветворных клетках лимфоидного и миелоидного происхождения в крови или костном мозге, при острых и хронических типах ГОЗ. Этот метод более чем в 10 000 раз точнее существующих тестов, что делает его пригодным для обнаружения геномных дефектов при постановке диагноза, а также для оценки остаточных заболеваний [22]. Immuno-flowFISH приведет к новым открытиям в биологии рака и новым средствам прогнозирования заболеваний и реакций. С помощью этого метода получают цифровые «сфокусированные» фотографические изображения каждой клетки, позволяющие визуализировать клеточную морфологию, антигены и хромосомные сигналы FISH («пятна» или «точки»). Конкретные популяции клеток идентифицируются по их морфологии и иммунофенотипическим характеристикам, а затем анализируются на предмет хромосомного состава. В недавнем исследовании сообщалось об использовании нового метода Immuno-FlowFISH, который повышает чувствительность и специфичность обнаружения хромосомных аномалий в фенотипических клетках В-ХЛЛ [8, 22]. В исследовании Henry Y.L. Hui, Kathryn M. Clarke, Kathryn A. Fuller et al. представлены результаты Immuno-FlowFISH-анализа пролеченных субклинических (остаточных



заболеваний) случаев ХЛЛ с трисомией 12 (+12) с использованием CEP12 и иммунофенотипических маркеров [22]. На рис. 2 показаны изображения, полученные с помощью анализа Immuno-FlowFISH, демонстрирующие примеры нормальных диплоидных Т-, В- и других клеток с нормальной цитогенетикой (диплоид) с ядерными колокализованными двухточечными сигналами FISH для зонда Vysis CEP12-SO (объекты 163, 102 и 1707). В исследуемом образце также были обнаружены опухолевые клетки ХЛЛ с дисомией 12 и трисомией 12 (+12). Также можно увидеть CD19-/CD5-положительную, CD3-отрицательную опухолевую клетку ХЛЛ с парными и ядерно-колокализованными двухточечными сигналами FISH для CEP12 у объекта 2000. Объекты 2894, 4971 и 8288 представляют собой репрезентативные образцы трисомийных (+12), CD19-/CD5-положительных, CD3-отрицательных ХЛЛ опухолевых клеток с ядерными колокализованными сигналами FISH для зонда Vysis CEP12-SO [22].

По сводным количественным результатам Immuno-FlowFISH-анализа субпопуляций клеток, представленным в таблице, в популяции опухолевых клеток ХЛЛ (CD19+, CD5+, CD3-) среднее количество пятен (2,21), процент клеток с 3+ пятна (20,9%)

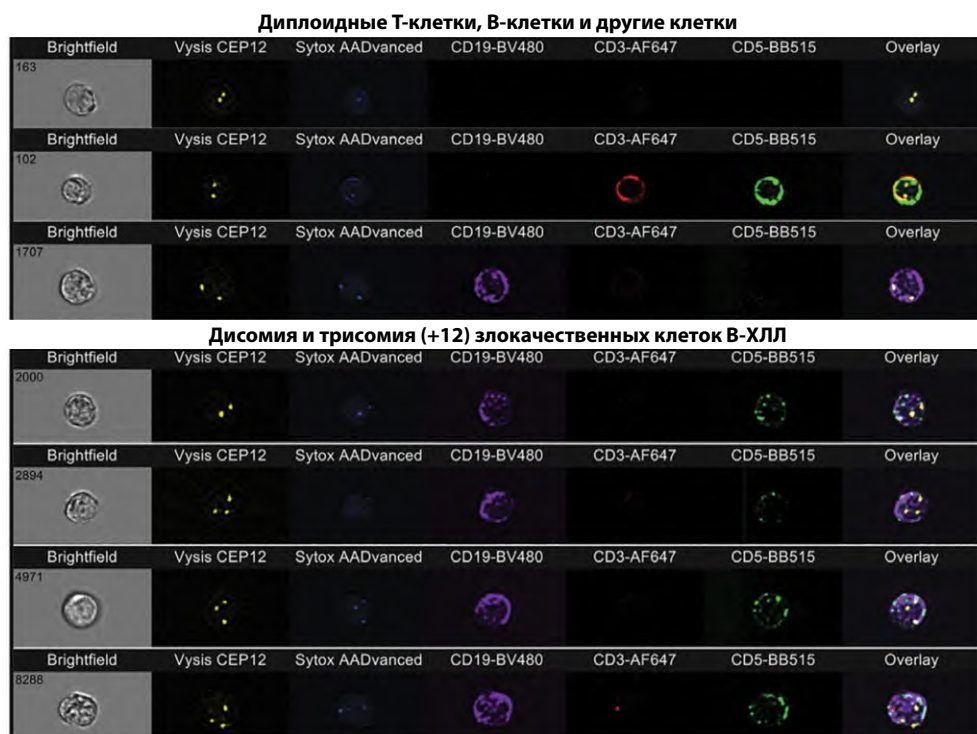


Рис. 2. Графическое обобщение результатов анализа Immuno-FlowFISH образца крови в В-ХЛЛ (сравнение нормальных Т-, В- и других клеток крови с опухолевыми клетками В-ХЛЛ с дисомией и трисомией по параметрам анализа) (адаптировано из Henry Y.L. Hui)

Fig. 2. Graphical summary of the results of the Immuno-FlowFISH analysis of a blood sample in B-CLL (comparison of normal T-, B- and other blood cells with B-CLL tumor cells with dysomy and trisomy according to the analysis parameters) (adapted from Henry Y.L. Hui)

Число и коэффициенты точек, обеспечивающих ядерную локализацию в исследуемых клетках В-ХЛЛ по результатам Immuno-FlowFISH (на основе исследований Henry Y.L. Hui)
The number and coefficients of points providing nuclear localization in the studied B-CLL cells according to the results of Immuno-FlowFISH (based on the research of Henry Y.L. Hui)

Субпопуляция	Размер %	2-точечные %	3-точечные %	% 3-точечных клеток от общего числа	Среднее количество точек	Соотношение точек Клетка/Т-клетка
CD19+ CD5+ CD3– клеток В-ХЛЛ	0,63	72,4	20,9	0,13	2,21	1,10
CD3+ CD5+ CD19– Т-клеток	49,9	95,2	0,47	0,23	2,002	1,00
CD19+ CD5– CD3– В-клеток	2,48	95,9	0,36	0,18	2,003	1,00
CD19– CD5– CD3– другие клетки	44,6	94,8	0,54	2,4	2,005	1,00

показывает, что оно значительно выше, чем у клеток другого объекта, и соотношение точек составляет 1,10. По результатам данного анализа можно отметить, что автоматизированный Immuno-FlowFISH позволяет быстро обнаружить хотя бы 1 генотипически аномальную лейкозную клетку (по фенотипу) среди тысяч нормальных клеток. Например, частота трехточечных (трисомия, +12) хромосомных сигналов в опухолевых клетках фенотипа В-ХЛЛ (CD19+, CD5+, CD3–) составила 0,13% [22].

Несмотря на сложность понимания механизмов клеточного патогенеза ГОЗ, Immuno-FlowFISH демонстрирует способность изучать биологию заболеваний, клональную эволюцию и субклональную конфигурацию на интегрированном одноклеточном уровне. В настоящее время зондирование хромосомных аномалий на основе подобных технологий является одной из основных задач. Тщательное изучение генома опухолевых клеток показывает, что последние практически всегда содержат хромосомные транслокации. Согласно данным каталога онкогенных соматических мутаций (COSMIC, <https://cancer.sanger.ac.uk>, Cancer Gene Census [CGC]), охарактеризовано 735 типов генетических изменений, встречающихся при раке; 315 из них представлены хромосомными транслокациями, из которых 193 ассоциированы с гемопоэтическими и 122 – с солидными опухолями [23]. Поскольку приобретенные геномные aberrации часто играют важную роль в патогенезе ГОЗ, их специфическое выявление в клинической практике дает полезную информацию для диагностики, лечения и прогнозирования заболевания [24].

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стремительное развитие исследований, направленных на раскрытие молекулярных механизмов гематоонкологических заболеваний, позволяет сосредоточить наш интерес на координатах, воплощающих решение проблем, связанных с этим заболеванием. Данное открытие будет способствовать не только установлению молекулярных квалификаторов во время первичной диагностики и прогностической оценки потенциальных вариантов клинического течения, но и разработке новых терапевтических средств для лечения гематоонкологических заболеваний. В этом плане Immuno-flowFISH – высокопроизводительная количественная платформа,



способная упростить диагностическое тестирование за счет объединения наиболее важных диагностических методов с возможностями визуализационной проточной цитометрии. Одним из основных преимуществ метода Immuno-flowFISH является качественная и количественная морфофенотипическая идентификация одиночных клеток по хромосомным сигналам FISH с использованием различных аналитических инструментов в автоматизированном порядке. Поскольку Immuno-flowFISH стал уникальным модулем в области генетической и биомолекулярной инженерии, становится ясно, что использование всего потенциала этой технологии в исследованиях и лечении рака улучшит жизнь многих пациентов. Неудивительно, что в ближайшем будущем использование всего технологического потенциала метода Immuno-flowFISH откроет множество конструктивных горизонтов в исследовании и лечении гематоонкологических заболеваний.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Bhat GR, Sethi I, Sadidia HQ, Rah B, Mir R, Algehaiy N, Albalawi IA, Masoodi T, Subbaraj GK, Jamal F, Singh M, Kumar R, Macha MA, Uddin S, Akil ASA, Haris M, Bhat AA. Cancer cell plasticity: from cellular, molecular, and genetic mechanisms to tumor heterogeneity and drug resistance. *Cancer Metastasis Rev.* 2024 Mar;43(1):197–228. Epub 2024 Feb 8. PMID: 38329598; PMCID: PMC11016008. doi: 10.1007/s10555-024-10172-z
2. Mosquera Orgueira A, Krall O, Pérez Miguez C, et al. Refining risk prediction in pediatric acute lymphoblastic leukemia through DNA methylation profiling. *Clin Epigenetics.* 2024;16(1):49. Published 2024 Mar 28. doi: 10.1186/s13148-024-01662-6
3. Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin.* 2023;73(1):17–48. doi: 10.3322/caac.21763
4. Kratz CP, Jongmans MC, Cavé H, Wimmer K, Behjati S, Guerrini-Rousseau L, Milde T, Pajtlér KW, Golmard L, Gauthier-Villars M, Jewell R, Duncan C, Maher ER, Brugieres L, Pritchard-Jones K, Bourdeaut F. Predisposition to cancer in children and adolescents. *Lancet Child Adolesc Health.* 2021 Feb;5(2):142–154. PMID: 33484663. doi: 10.1016/S2352-4642(20)30275-3
5. Inaba H, Mullighan CG. Pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica.* 2020;105(11):2524–2539. Published 2020 Nov 1. doi: 10.3324/haematol.2020.247031
6. Avenarius MR, Huang Y, Hyak J, Byrd JC, Bhat SA, Grever M, Kittai AS, Rogers KA, Jones D, Zhao W, Heerema NA, Abruzzo LV, Woyach J, Miller CR. Refining prognosis in chronic lymphocytic leukemia with normal Fluorescence in situ hybridization results. *Hematol Oncol.* 2023 Oct;41(4):771–775. Epub 2023 Apr 3. PMID: 37010242. doi: 10.1002/hon.3134
7. Robinson JP, Ostafe R, Iyengar SN, Rajwa B, Fischer R. Flow Cytometry: The Next Revolution. *Cells.* 2023 Jul 17;12(14):1875. PMID: 37508539; PMCID: PMC10378642. doi: 10.3390/cells12141875
8. Hui HYL, Stanley J, Clarke K, Erber WN, Fuller KA. Multi-probe FISH Analysis of Immunophenotyped Chronic Lymphocytic Leukemia by Imaging Flow Cytometry. *Curr Protoc.* 2021 Oct;1(10):e260. PMID: 34610214. doi: 10.1002/cpz1.260
9. Sampaio MM, Santos MLC, Marques HS, et al. Chronic myeloid leukemia-from the Philadelphia chromosome to specific target drugs: A literature review. *World J Clin Oncol.* 2021;12(2):69–94. doi: 10.5306/wjco.v12.i2.69
10. Mustyace V. BCR-ABL1-positive and BCR-ABL1-negative acute lymphoblastic leukemias: description of three clinical cases and literature review. *Issues of oncology.* 2023;69(1):143–148. doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-1-143-148
11. Jabbar E, Short NJ, Jain N, et al. Ponatinib and blinatumomab for Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia: a US, single-centre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Haematol.* 2023;10(1):e24–e34. doi: 10.1016/S2352-3026(22)00319-2
12. Attygalle AD, Chan JKC, Coupland SE, Du MQ, Ferry JA, Jong D, Gratzinger D, Lim MS, Naresh KN, Nicolae A, Ott G, Rosenwald A, Schuh A, Siebert R. The 5th edition of the World Health Organization Classification of mature lymphoid and stromal tumors - an overview and update. *Leuk Lymphoma.* 2024 Apr;65(4):413–429. doi: 10.1080/10428194.2023.2297939
13. Harchenko E, Semiglazova T, Artemeva A, Kireeva G, Polyackin I, Zuzgyn I, Filatova L, CHudinovich Y, Motalkina M, Olejnik Y. Prognostic significance of immunohistochemical and molecular genetic characteristics of diffuse large-cell b-cell lymphoma. *Issues of oncology.* 2020;66(1):79–89. doi: 10.37469/0507-3758-2020-66-1-79-89
14. Contreras Yametti GP, Ostrow TH, Jasinski S, Raetz EA, Carroll WL, Evensen NA. Minimal Residual Disease in Acute Lymphoblastic Leukemia: Current Practice and Future Directions. *Cancers (Basel).* 2021;13(8):1847. Published 2021 Apr 13. doi: 10.3390/cancers13081847
15. Cui J, Liu Y, Lv R, et al. Fluorescence in situ hybridization reveals the evolutionary biology of minor clone of gain/amp(1q) in multiple myeloma. *Leukemia.* 2024;38(6):1299–1306. doi: 10.1038/s41375-024-02237-3
16. Miron PM, Fang M. The evolving clinical testing landscape of genomic aberrations in solid tumors and hematological malignancies - Insights from evidence-based reviews for B-ALL and breast, brain, and renal cell neoplasia. *Cancer Genet.* 2020;244:60–61. doi: 10.1016/j.cancergen.2020.04.001
17. Rees P, Summers HD, Filby A, Carpenter AE, Doan M. Imaging flow cytometry: a primer. *Nat Rev Methods Primers.* 2022;2:86. doi: 10.1038/s43586-022-00167-x
18. Cossarizza A, Chang HD, Radbruch A, et al. Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies (second edition). *Eur J Immunol.* 2019;49(10):1457–1973. doi: 10.1002/eji.201970107
19. Dimitriadis S, Dova L, Kotsianidis I, Hatzimichael E, Kapsali E, Markopoulos GS. Imaging Flow Cytometry: Development, Present Applications, and Future Challenges. *Methods Protoc.* 2024;7(2):28. Published 2024 Mar 23. doi: 10.3390/mps7020028
20. Zahra K, Cherif W, Ahmed G, et al. A novel t(5;17)(q35;q21) associated with t(8;21)(q22;q22) in a patient with acute myeloid leukemia: case report and review of literature. *Genes Cancer.* 2023;14:50–55. Published 2023 Jun 28. doi: 10.18632/genesandcancer.232
21. Tiso F, Koorenhof-Scheele TN, Huys E, et al. Genetic diversity within leukemia-associated immunophenotype-defined subclones in AML. *Ann Hematol.* 2022;101(3):571–579. doi: 10.1007/s00277-021-04747-x
22. Hui HYL, Erber WN, Fuller KA. "Immuno-FlowFISH": Applications for Chronic Lymphocytic Leukemia. *Methods Mol Biol.* 2023;2635:149–171. doi: 10.1007/978-1-0716-3020-9_9
23. Tate JG, Bamford S, Jubb HC, et al. COSMIC: the Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(D1):D941–D947. doi: 10.1093/nar/gky1015
24. Streib P, Kowarz E, Benz T, Reis J, Marschalek R. How chromosomal translocations arise to cause cancer: Gene proximity, trans-splicing, and DNA end joining. *iScience.* 2023;26(6):106900. Published 2023 May 19. doi: 10.1016/j.isci.2023.106900