

Д.Ф. Глузман<sup>1</sup>  
 Л.М. Склярченко<sup>1</sup>  
 Т.С. Ивановская<sup>1</sup>  
 Н.И. Украинская<sup>1</sup>  
 С.В. Коваль<sup>1</sup>  
 М.П. Завелевич<sup>1</sup>  
 Л.Ю. Полудненко<sup>1</sup>  
 А.Ф. Джалилов<sup>1</sup>  
 В.Н. Зинченко<sup>2</sup>  
 Т.Б. Зубрицкая<sup>2</sup>  
 И.Р. Гартовская<sup>3</sup>  
 Т.И. Лысая<sup>4</sup>  
 Г.В. Филипенко<sup>5</sup>  
 Д.И. Дворак<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

<sup>2</sup>Киевская городская клиническая больница № 9, Киев

<sup>3</sup>КУ КОС «Киевский областной онкологический диспансер», Киев

<sup>4</sup>Житомирская областная клиническая больница им. А.Ф. Гербачевского, Житомир

<sup>5</sup>КУ ЧОС «Черкасский областной онкологический диспансер», Черкассы

<sup>6</sup>КЛ ПЗ «Черниговский областной онкологический диспансер», Чернигов, Украина

#### Ключевые слова:

неходжкинская лимфома, лейкемическая фаза, иммунофенотипический анализ.

## ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КЛЕТОК КРОВИ И КОСТНОГО МОЗГА В ДИАГНОСТИКЕ В-ЛИНЕЙНЫХ НЕХОДЖКИНСКИХ ЛИМФОМ

*Поражение костного мозга и появление неопластических клеток в периферической крови при В-клеточных неходжкинских лимфомах может быть одним из первых проявлений заболевания. Чаще же лейкемическую фазу отмечают при прогрессировании болезни. Изучены различные формы неходжкинских лимфом (лимфоцитарная, лимфоплазмоцитарная, из клеток мантии, В-крупноклеточная, ALK-положительная, плазмобластная, фолликулярная, лимфома Беркитта и др.) у 254 больных в соответствии с классификацией ВОЗ (2008). В результате проведенных исследований показано, что цитологический и иммунофенотипический анализ циркулирующих в крови и инфильтрирующих костный мозг лимфоидных клеток способствует в ряде случаев установлению диагноза при невозможности проведения биопсии лимфатического узла или других тканей и выполнения гистологического исследования.*

### ВВЕДЕНИЕ

Неходжкинские лимфомы (НХЛ) — гетерогенная группа опухолей, возникающих из различных типов клеток лимфоидной ткани. НХЛ относятся к тем немногим формам новообразований, заболеваемость которыми продолжает неуклонно возрастать. В Украине число впервые зарегистрированных больных с НХЛ в 2012 г. составило 2571, в 2013 г. (по неполным данным) — 2333. По данным Национального канцер-регистра Украины, согласно стандартизованному показателю (мировой стандарт) заболеваемость НХЛ мужчин в 2012 г. составила 4,8, женщин — 3,2 на 100 000 населения, а смертность соответственно — 2,6 и 1,4 на 100 000 населения [1].

Анализ статистических данных 2005–2007 гг. показывает, что на протяжении первого года после установления диагноза погибают 28,0% пациентов, а 5-летняя выживаемость больных составляет 48,8%.

В основе диагностики лимфоидных новообразований лежит гистологическое изучение полученных при биопсии лимфатических узлов или материала из экстранодальных очагов поражения. Современная классификация НХЛ основывается на анализе клинических данных, результатов морфологического, иммуногистохимического, цитогенетического и молекулярно-биологического исследований [2]. Приблизительно 85% НХЛ имеют В-клеточное происхождение, остальные возникают из Т- или ЕК-клеток.

К числу наиболее часто встречающихся В-клеточных НХЛ относятся хронический лимфолейкоз/лимфома из малых лимфоцитов (ЛМЛ), фолликулярная лимфома, диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ). Реже встречаются такие виды новообразований, как лимфома маргинальной зоны, высокоагрессивная лимфома Беркитта и др. [3].

У многих больных В-клеточной НХЛ в момент установления диагноза или при прогрессировании заболевания определяют очаги поражения в костном мозгу (КМ) и/или наличие патологических клеток, циркулирующих в периферической крови (ПК). Частота развития лейкемической фазы разная при различных гистологических формах лимфом [4–6].

Вопросам лейкемизации лимфом посвящены немногочисленные исследования [4, 7, 8]. В первую очередь, это касается количественных критериев лейкемизации процесса. Если по аналогии основываться на количестве бластов, необходимых для диагностики острых лейкозов, то для верификации фазы лейкемизации, по нашему мнению, достаточно выявления в КМ и/или ПК не менее 20% лимфоидных клеток, относящихся по своим иммунофенотипическим характеристикам к одному клону. Возможно, следует воспользоваться критериями, применяемыми для диагностики хронического лимфолейкоза (не менее  $5 \cdot 10^9$ /л лимфоцитов в крови или КМ).

Лейкемизацию лимфом, если исключить лимфобластную лимфому и лимфому Беркитта, чаще регистрируют при опухолях с низкой степенью злокачественности, чем при высокозлокачественных [5, 9, 10].

Определение циркулирующих клеток лимфом может быть использовано для установления предварительного диагноза тех или иных форм НХЛ в случаях, когда затруднено получение биопсийного материала для гистологического исследования (лимфома селезенки, опухоли средостения, кишечника и т.д.). Для уточнения природы патологических клеток, определяющихся в ПК или инфильтрирующих КМ, могут быть применены иммуноцитохимические (ИЦХ) методы и панель моноклональных антител (МкАТ) к линейноспецифическим и дифференцировочным антигенам лимфоцитов. Изучается набор антигенов поверхностных мембран, по экспрессии которых установлены различия нормальных В-лимфоцитов и трансформированных клеток при различных формах В-клеточных НХЛ. Подобный же подход может быть использован для верификации клеток лимфом и очаговых инфильтратов из нормальных лимфоцитов при изучении стернальных пунктатов КМ.

Задачей нашего исследования было цитоморфологическое и ИЦХ изучение клеток ПК и КМ у больных НХЛ из зрелых (периферических) В-клеток.

## ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С 2012 по 2014 г. обследовано до начала лечения 254 больных с различными формами В-линейных НХЛ, находящихся в онкогематологических клиниках Киева, АР Крым и 20 областей Украины. У большинства из них диагноз установлен на основе гистологического и иммуногистохимического исследования, а у части — посредством цитогенетического и молекулярно-биологического анализа (кандидат медицинских наук С.В. Андреева). Проводили исследование мазков ПК и стернального пунктата КМ, цитоцентрифужных препаратов мононуклеаров, выделенных из венозной крови в градиенте плотности фиколл-урографина. Исследуемый материал окрашивали по Май-Грюнвальду — Романовскому — Гимзе.

Выполняли цитохимические (ЦХ) реакции определения активности кислой фосфатазы (КФ 3.1.3.2) по Goldberg, Barka, кислой неспецифической эстеразы (КФ 3.1.1.6) по Müller, содержания гликогена с помощью PAS-реакции по McManus, Hotchkiss.

ИЦХ реакции (LSAB-AP) выполняли в цитологических препаратах из выделенных мононуклеаров венозной крови и КМ, приготовленных по типу «высушенной капли», а также непосредственно в нативных мазках ПК и пунктата КМ грудины [10–12]. При необходимости ИЦХ исследование также проводили в цитоцентрифужных препаратах из мононуклеаров, выделенных из спинномозговой жидкости. Применяли МкАТ к широкому спектру антигенов, которые используют во многих лабораториях для микроскопической диагностики В-клеточной НХЛ в парафиновых срезах лимфатических узлов и других тканей: CD19, CD20, CD22, CD23, CD10, CD38, CD43, CD103, CD45, CD5, CD3, CD4, CD30, CD57, CD11c, ЕМА, HLA-DR, к циклину D1, цитокератинам. Подобным образом был охарактеризован иммунофенотип лимфоидных клеток ПК и КМ пациентов с ЛМЛ, лимфоплазмочитарной лимфомой (ЛПЛ), фолликулярной лимфомой, лимфомой из клеток мантийной зоны (ЛКМЗ), лимфомой маргинальной зоны селезенки (ЛМЗС) и лимфомой из клеток маргинальной зоны лимфатических узлов, MALT-лимфомой, первичной В-крупноклеточной лимфомой средостения (тимуса), ALK-положительной В-крупноклеточной лимфомой, ДВККЛ, неспецифицированной иным способом, лимфомой Беркитта спорадического типа.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение иммунофенотипа нормальных В-лимфоцитов ПК и КМ у здоровых людей (доноров) дало следующие результаты. В норме в крови, по нашим данным, выявляли 8–22% лимфоцитов с экспрессией на поверхностных мембранах антигена CD19, 8–19% — CD20-положительных лимфоцитов. Экспрессию антигена CD23 регистрировали на 6–12% клеток, а антигена CD22 — на 18–20%.

Т-лимфоциты (CD3-положительные клетки) в крови у доноров составили 55–75%, лимфоциты с фенотипом Т-клеток-хелперов/индукторов (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>) — 45–55%, Т-клеток-супрессоров/цитотоксических клеток (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>) — 20–37%. CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> клетки достигли 3–7%, CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> клетки — 5–15%. С помощью использовавшихся нами МкАТ выявлен антиген CD25 на 13–24% активированных Т-лимфоцитов. Антиген CD43 также отмечен на мембранах Т-клеток.

В мазках из пунктата КМ грудины, по данным С.А. Луговской и соавт. [12], использовавших метод проточной цитофлуориметрии, в норме определяли 7–20% CD19-положительных клеток, 3–10% — лимфоидных клеток с экспрессией антигена CD20, 17–29% — с экспрессией антигена CD22, а также 0,5–15% клеток, на поверхностных мембранах которых выявляли антиген CD10. Экспрессию антигена CD23 регистрировали на единичных клетках. Среди лимфоцитов КМ здоровых людей CD3<sup>+</sup> лимфоциты составили 21–51%, CD4<sup>+</sup> — 14–30%, CD8<sup>+</sup> — 11–28%, CD7<sup>+</sup> — 17–31%.

**Лимфома из малых лимфоцитов (ЛМЛ)** по цитоморфологическим признакам не отличается от хронического лимфолейкоза, оба заболевания между собой тесно связаны. Переход в лейкоэмическую фазу в процессе прогрессирования заболевания отмечают только у некоторых больных. С учетом цитологических особенностей субстратных клеток 38 пациентов с ЛМЛ, включенных в исследование, были подразделены на 3 группы. У больных 1-й группы в ПК и КМ определяли преимущественно клетки типа малых лимфоцитов. У пациентов 2-й группы, наряду с малыми лимфоцитами, выявляли 30–40% лимфоидных клеток среднего размера с более нежной структурой ядерного хроматина и широкой цитоплазмой и до 10% пролимфоцитов. У 3-й группы обследованных больных в мазках ПК и КМ регистрировали малые и среднего размера лимфоидные клетки, нередко с умеренно базофильной цитоплазмой, более 10% пролимфоцитов и немногочисленные бластоподобные клетки.

При ЦХ определении активности КФ в лимфоидных клетках выявляли слабую мелкогранулярную реакцию, которая не ингибировалась ионами тартрата только в 3–5% клеток у больных 2-й и 3-й групп. При ИЦХ исследовании у 60% обследованных пациентов с ЛМЛ выявили стандартный иммунофенотип субстратных клеток — CD19<sup>+</sup> CD20<sup>+</sup> CD23<sup>+</sup> CD5<sup>+</sup> CD43<sup>+</sup> циклин D1<sup>+</sup> с преобладанием на поверхностных мембранах  $\kappa$ -легких цепей иммуноглобулинов. У 20% пациентов дополнительно выявляли антиген CD22 и активационный антиген CD38.

У 10% больных на поверхностных мембранах лимфоцитов не отмечена экспрессия антигена CD23. В таких случаях проводили дифференциальную диагностику с морфологически сходными В-клеточными НХЛ из клеток мантийной зоны,

на поверхностных мембранах которых выявляли циклин D1.

Также у 10% пациентов на лимфоцитах не выявлена экспрессия антигена CD5. При этом ЛМЛ приходилось дифференцировать с редкими CD5<sup>-</sup> и CD23<sup>+</sup> случаями ЛКМЗ, реагирующими с МкАТ к циклину D1.

**Лимфома плазматическая (ЛПЛ).** Циркулирующие в крови клетки представляют собой малые лимфоциты с признаками плазматизации. По данным цитологического исследования стерильного пунктата КМ, 23 больных ЛПЛ разделены на две группы. У пациентов 1-й группы (10 человек) в мазках КМ определяли 40–60% лимфоцитов с плазматизированной цитоплазмой; плазматических клеток не было, или их содержание не превышало 1–2%. У 13 больных 2-й группы в КМ выявляли 30–50% лимфоцитов малого и среднего размера и 10–20% плазматических клеток.

При ИЦХ исследовании на поверхностных мембранах субстратных клеток в ПК и КМ обнаруживали экспрессию антигенов CD19 и CD20. Отмечали варьирующую экспрессию антигенов CD22, CD23 и CD38. В некоторых случаях наблюдали слабое окрашивание мембран клеток при взаимодействии с МкАТ к антигену CD25. На основании изучения поверхностного иммунофенотипа проводили также дифференциальную диагностику с лимфомой из клеток мантийной зоны, аутоиммунными процессами и реактивными изменениями в КМ, сопровождавшимися увеличением количества плазматических клеток и лимфоцитов у больных с солидными опухолями.

**Лимфома из клеток мантийной зоны (ЛКМЗ).** При лимфоме данного типа субстратные клетки, определявшиеся в мазках ПК и КМ у 36 больных, в 60% случаев имели признаки малых и среднего размера лимфоцитов. У 30% пациентов клеточный состав отличался полиморфизмом: преобладали клетки среднего и несколько более крупного размера с рыхлой структурой хроматина и узким ободком цитоплазмы, часть клеток была с расщепленным ядром.

При ЦХ исследовании в клетках ЛКМЗ активность КФ, ингибированная ионами тартрата, определялась в виде мелких гранул или слабой диффузной окраски цитоплазмы. Иммунофенотип клеток ЛКМЗ у большинства больных был следующим: CD19<sup>+</sup> CD20<sup>+</sup> CD22<sup>+</sup> CD5<sup>+/-</sup> CD43<sup>+</sup> CD10<sup>-</sup> циклин D1<sup>+</sup>. Лимфоме данного типа в случаях отсутствия экспрессии антигена CD5 приходилось дифференцировать с лимфомой мантийной зоны лимфатического узла. Различить эти два типа лимфоидных новообразований позволяло наличие циклина D1 на поверхностных мембранах клеток ЛКМЗ.

В группе обследованных нами больных с полиморфным клеточным составом и значительным количеством клеток с расщепленным ядром было 3 пациента с CD5<sup>-</sup>CD10<sup>+</sup>-клетками. В этих случаях на-

личие экспрессии циклина D1 на клетках ЛКМЗ при бластноидном варианте позволяло отличить их от клеток при соответствующем варианте фолликулярной лимфомы.

У 7 больных ЛКМЗ в стадии лейкемизации (количество лейкоцитов в крови в пределах  $9-20 \cdot 10^9/\text{л}$ , лимфоцитов — 50–60%) приходилось дифференцировать с атипичным В-клеточным хроническим лимфолейкозом (CD5<sup>+</sup>CD23<sup>-</sup>).

**Лимфома маргинальной зоны селезенки (ЛМЗС)** диагностирована у 98 больных, в основном среднего и пожилого возраста. У большинства из них отмечали признаки анемии и тромбоцитопении, наличие спленомегалии при отсутствии лимфаденопатии. В ПК и КМ выявляли неопластические лимфоидные клетки небольшого и среднего размера. Часть клеток была с ворсинчатыми отростками.

При ЦХ исследовании в значительной части клеток ЛМЗС определяли слабую или умеренную активность КФ, сохранявшуюся при добавлении в инкубационную среду ингибитора (ионов тартрата) в 10–30% клеток.

Классический иммунофенотип клеток ЛМЗС был следующим: CD19<sup>+</sup> CD20<sup>+</sup> CD22<sup>+</sup> CD5<sup>-</sup> CD10<sup>-</sup> CD23<sup>-</sup> CD43<sup>-</sup> CD25<sup>-</sup> CD103<sup>-</sup> циклин D1<sup>-</sup>. Лишь в редких случаях на клетках отмечали экспрессию антигена CD5. В этих случаях проводили дифференциальный диагноз с циклин D1<sup>+</sup>-ЛКМЗ. В выполнении дифференциальной диагностики с вариантом волосатоклеточного лейкоза помогало определение на клетках последнего антигенов CD103 и CD11c.

**MALT-лимфома.** У 8 больных (6 мужчин с опухолью желудка и 2 женщины с опухолью молочной железы) с MALT-лимфомой в ПК и КМ преобладали малые и среднего размера лимфоциты, моноцитоподобные В-клетки, клетки типа центробластов, иммунобластов, плазматические клетки.

Иммунофенотип неопластических клеток у пациентов с MALT-лимфомой желудка был следующим: CD19<sup>+</sup> CD20<sup>+</sup> CD22<sup>+</sup> CD5<sup>-</sup> CD23<sup>-</sup> CD10<sup>-</sup>. У 5 из них реакция при выявлении антигена CD43 была отрицательной, а у 1 — положительной. Экспрессию антигена CD43 отмечали также при MALT-лимфоме, диагностированной при исследовании биоптата опухоли молочной железы.

Определяемая при ЦХ исследовании активность КФ была слабой и ингибировалась ионами тартрата. Дифференциальный диагноз MALT-лимфомы (как CD5<sup>+</sup> CD43<sup>+</sup>, так и CD5<sup>-</sup> CD43<sup>+</sup>) проводили с CD23-отрицательной ЛКМЗ. Когда при CD5<sup>+</sup> CD43<sup>-</sup> MALT-лимфоме в КМ больных было увеличено количество пролимфоцитов и бластоподобных форм, возникала необходимость дифференциации с ЛМЛ. Для последней была характерна экспрессия антигена CD23.

**Лимфома маргинальной зоны лимфатического узла.** У 2 из 4 больных с этой формой лимфомы, у которых отмечали поражение только лимфатических узлов, субстратные клетки выявлены не только

в КМ, но и в ПК. Они были представлены малыми и среднего размера лимфоцитами с моноцитоподобными ядрами и широкой голубого цвета цитоплазмой (моноцитоподобные В-клетки), визуализировались немногочисленные плазматические клетки.

При ЦХ исследовании в цитоплазме клеток определяли мелкогранулярную реакцию, ингибирующуюся ионами тартрата. У 3 больных фенотип неопластических клеток был следующим: CD19<sup>+</sup> CD20<sup>+</sup> CD22<sup>+</sup> CD5<sup>-</sup> CD10<sup>-</sup> CD43<sup>+</sup> CD23<sup>-</sup>. У 1 пациента на лимфоцитах с базофильной цитоплазмой не наблюдали экспрессии антигена CD43. В этом случае проводили дифференциальную диагностику с ЛПЛ.

**Первичная В-крупноклеточная лимфома средостения (тимуса).** Исследования проведены у 2 женщин пожилого возраста, у которых диагностирован синдром сдавления верхней полой вены. В мазках КМ определяли полиморфные по форме и размеру лимфоидные клетки типа центробластов и центроцитов, немногочисленные иммунобласты, а также крупные клетки с трехлопастными ядрами с глыбчатой структурой хроматина, узким ободком цитоплазмы с признаками базофилии. При ИЦХ исследовании фенотип субстратных клеток был таким: CD19<sup>+</sup> CD20<sup>+</sup> CD22<sup>+</sup> CD23<sup>+</sup> CD79a<sup>+</sup>. В обоих случаях отмечали крайне слабую экспрессию антигена CD30, в одном, кроме этого, определялась экспрессия антигена CD15, в другом, при отсутствии этого антигена, клетки были CD10-положительными. Дифференциальный диагноз (наличие антигенов CD30, CD23 и цитоморфологических особенностей субстратных клеток) проводили с ДВККЛ и поражением КМ при лимфоме Ходжкина.

**ALK-положительная В-крупноклеточная лимфома.** Обследованы 3 пациента — 1 женщина и 2 мужчины, у одного из которых выявлены множественные поражения костей. В мазках КМ больных обнаружены лимфоидные клетки среднего и крупного размера с умеренно базофильной цитоплазмой. Фенотип субстратных клеток был следующим: ALK<sup>+</sup> EMA<sup>+</sup> CD20<sup>-</sup> CD22<sup>-</sup> CD79a<sup>-</sup> CD19<sup>-</sup> CD23<sup>-</sup> CD3<sup>-</sup> CD4<sup>+</sup> CD57<sup>+</sup>. Антиген CD45 выявлен только в 1 случае. Проводили дифференциальную диагностику с плазмобластной лимфомой (наличие экспрессии ALK и антигенов CD4 и CD57). Отсутствие В-клеточных антигенов на ALK<sup>+</sup> EMA<sup>+</sup>-клетках позволило дифференцировать опухоль данного типа от ДВККЛ.

**Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ).** Обследованы 15 больных в фазе лейкемизации. У 7 пациентов была выявлена ДВККЛ с экстранодальной локализацией (кожа, почки, органы желудочно-кишечного тракта, кости). Определявшиеся в стернальном пунктате КМ крупные, полиморфные клетки были немногочисленными и по цитоморфологическим признакам напоминали центробласты, иногда иммунобласты. При ЦХ исследовании активность КФ проявлялась в виде сла-

бого диффузного окрашивания цитоплазмы клеток. В мазках ПК клетки лимфомы не выявляли.

В большинстве случаев (у 10 пациентов) на поверхностных мембранах субстратных клеток выявляли экспрессию антигенов CD19 и CD22 и не определяли антиген CD20. У 5 пациентов клетки были только CD20-положительными. В 8 случаях наблюдали экспрессию антигена CD10 (у 2 больных была проведена дифференциальная диагностика с лимфомой Беркитта), у 3 пациентов — CD5 и у 2 — CD38.

Дифференциальный диагноз проводили с другими В-линейными лимфомами, представленными крупными клетками, с лимфомой Ходжкина (в КМ выявлены CD30<sup>+</sup>CD15<sup>+</sup>-клетки), с мезотелиомой (наличие цитокератинов и отсутствие В-клеточных антигенов). При ДВККЛ с наличием клеток типа иммунобластов дифференциальный диагноз проводили с плазмобластной лимфомой и множественной миеломой.

**Лимфома Беркитта спорадического типа.** Клинические проявления лимфомы Беркитта варьировали в зависимости от локализации опухоли. У 23 пациентов при прогрессировании заболевания развилась лейкемическая фаза с поражением КМ и наличием неопластических клеток в ПК (10 больных). Опухолевые клетки при лимфоме Беркитта средних размеров с интенсивно базофильной вакуолизированной цитоплазмой. В некоторых из них выявляли признаки апоптоза. В составе очагов поражения в КМ определяли немногочисленные макрофаги. При PAS-реакции и ЦХ определении КФ клетки лимфомы Беркитта оставались неокрашенными.

На поверхностных мембранах клеток лимфомы Беркитта выявляли легкие  $\kappa$ - и  $\lambda$ -цепи IgM и отмечали экспрессию ассоциированных с В-клетками антигенов (CD19, CD20, CD22), а также антигенов CD10, CD38, CD43.

**Фолликулярная лимфома.** При исследовании мазков из КМ у 3 больных (с поражением Вальдейерова кольца и органов желудочно-кишечного тракта; с поражением селезенки и лимфатических узлов; с вовлечением в патологический процесс кожи и селезенки) установлено, что половину клеток в препаратах составляли лимфоидные клетки. При этом у больных со спленомегалией лимфоциты были небольшого размера, со светло-голубой цитоплазмой. Часть клеток имели расщелину в ядре. При ЦХ исследовании реакция на КФ была отрицательной или слабой мелкогранулярной. Фенотип клеток был следующим: CD19<sup>+</sup> CD20<sup>+</sup> CD22<sup>+</sup> CD10<sup>+</sup> CD5<sup>-</sup> CD43<sup>-</sup> CD23<sup>-</sup>. В ПК субстратные клетки не визуализировались.

У пациента с поражением органов желудочно-кишечного тракта неопластические лимфоидные клетки выявлены в ПК и КМ. По цитоморфологическим признакам клетки были бластоподобными, среднего и несколько более крупного размера. В ча-

сти клеток в ядре было небольшое ядрышко. Около 10% субстратных клеток были с глубокой расщелиной в ядре. Цитоплазма клеток — с некоторыми признаками базофилии.

При ИЦХ исследовании фенотип патологических лимфоидных клеток был следующим: CD19<sup>+</sup> CD20<sup>+</sup> CD22<sup>+</sup> CD10<sup>-</sup> CD5<sup>-</sup> CD43<sup>-</sup> CD23<sup>+</sup> циклин D1<sup>+</sup>. Дифференциальный диагноз проводили с «бластоидным» типом ЛКМЗ (CD5<sup>-</sup> CD23<sup>+</sup> циклин D1<sup>+</sup>).

**Плазмобластная лимфома** диагностирована у пожилого мужчины, у которого в анамнезе отмечали изменения, обусловленные иммунными нарушениями. В мазках из стерильного пунктата КМ определялись полиморфные клетки типа иммунобластов, плазмобластов. В единичных клетках выявляли признаки апоптоза. Иммунофенотип субстратных клеток был следующим: CD38<sup>+</sup> CD30<sup>+</sup> EMA<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>. Дифференциальный диагноз проводили с ДВККЛ, плазмобластным вариантом множественной миеломы.

В таблице представлены сводные данные, полученные при ИЦХ исследовании клеток КМ и ПК у пациентов с различными формами В-линейных НХЛ в фазе лейкемизации.

Таблица  
Результаты иммунофенотипирования клеток КМ и ПК у больных с различными формами В-линейных НХЛ

Формы НХЛ	Количество больных, n	Экспрессия антигенов на поверхностных мембранах
ЛМЛ	38	CD19 <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> CD22 <sup>+</sup> CD23 <sup>+</sup> CD5 <sup>+</sup> CD43 <sup>+</sup> (иногда CD22 <sup>-</sup> CD38 <sup>-</sup> CD23 <sup>-</sup> )
ЛПЛ	23	CD19 <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> CD22 <sup>+</sup> CD5 <sup>-</sup> CD23 <sup>-</sup> (в 50% случаев CD25 <sup>+</sup> CD38 <sup>+</sup> , иногда CD22 <sup>-</sup> , CD23 <sup>+</sup> )
ЛКМЗ	36	CD19 <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> CD22 <sup>+</sup> CD5 <sup>+</sup> CD10 <sup>-</sup> CD23 <sup>-</sup> CD43 <sup>+</sup> циклин D1 <sup>+</sup> (иногда CD5 <sup>-</sup> CD10 <sup>+/+</sup> CD23 <sup>+</sup> )
ЛМЗС	98	CD19 <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> CD22 <sup>+</sup> CD5 <sup>-</sup> CD10 <sup>-</sup> CD23 <sup>-</sup> CD43 <sup>-</sup> CD25 <sup>-</sup> CD103 <sup>-</sup> циклин D1 <sup>-</sup> (иногда CD5 <sup>+</sup> )
MALT-лимфома	8	CD19 <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> CD22 <sup>+</sup> CD5 <sup>-</sup> CD10 <sup>-</sup> CD23 <sup>-</sup> CD43 <sup>-</sup> циклин D1 <sup>-</sup> (иногда CD5 <sup>+</sup> , CD43 <sup>+</sup> )
НХЛ маргинальной зоны лимфатического узла	4	CD19 <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> CD22 <sup>+</sup> CD5 <sup>-</sup> CD10 <sup>-</sup> CD23 <sup>-</sup> CD43 <sup>-</sup> циклин D1 <sup>-</sup> (в 50% — CD43 <sup>+</sup> )
Первичная В-крупноклеточная лимфома средостения (тимуса)	2	CD19 <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> CD22 <sup>+</sup> CD30 <sup>+</sup> CD23 <sup>+</sup> CD10 <sup>-</sup> CD15 <sup>-</sup> (иногда CD30 <sup>-</sup> CD23 <sup>-</sup> CD10 <sup>+</sup> CD15 <sup>+</sup> )
ALK-положительная В-крупноклеточная лимфома	3	ALK <sup>+</sup> EMA <sup>+</sup> CD3 <sup>-</sup> CD19 <sup>-</sup> CD20 <sup>-</sup> CD22 <sup>-</sup> CD30 <sup>-</sup> CD10 <sup>-</sup> CD4 <sup>+</sup> CD57 <sup>+</sup> CD45 <sup>+</sup> (иногда CD45 <sup>-</sup> CD30 <sup>+</sup> )
ДВККЛ	15	CD19 <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> CD22 <sup>+</sup> CD38 <sup>-</sup> CD5 <sup>-</sup> CD10 <sup>+</sup> CD30 <sup>-</sup>
Лимфома Беркитта спорадического типа	23	CD19 <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> CD22 <sup>+</sup> CD10 <sup>+</sup> CD34 <sup>-</sup> CD38 <sup>+</sup>
Фолликулярная лимфома	3	CD19 <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> CD22 <sup>+</sup> CD10 <sup>+</sup> CD5 <sup>-</sup> CD43 <sup>-</sup> CD23 <sup>-</sup> (иногда CD10 <sup>-</sup> CD23 <sup>+</sup> и/или CD43 <sup>+</sup> )
Плазмобластная лимфома	1	CD19 <sup>-</sup> CD20 <sup>-</sup> CD38 <sup>+</sup> CD45 <sup>-</sup> EMA <sup>+</sup> CD79 <sup>+</sup> CD56 <sup>-</sup> CD30 <sup>+</sup> (иногда CD79 <sup>-</sup> CD20 <sup>+</sup> CD30 <sup>-</sup> CD56 <sup>+</sup> EMA <sup>-</sup> CD45 <sup>+</sup> )

## ВЫВОДЫ

Основным методом диагностики НХЛ было и остается гистологическое (иммуногистохимическое) изучение срезов лимфатических узлов и биоптатов из экстранодальных очагов поражения.

При ряде форм В-линейных НХЛ уже в начальной стадии заболевания или при прогрессировании процесса неопластические клетки могут выявляться в составе инфильтратов в КМ или циркулировать в ПК.

Их определение основано на использовании классических цитологических, ЦХ и новых иммунофенотипических признаков, ставших известными после широкого применения МкАТ — специфических реагентов для выявления линейноспецифических и дифференцировочных антигенов В-лимфоцитов.

Данные цитологического и ИЦХ исследования клеток ПК и пунктатов КМ, как свидетельствуют полученные результаты, могут быть использованы для установления предварительного диагноза тех или иных форм В-клеточных НХЛ.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рак в Україні, 2012–2013. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. Бюл Нац канцерреєстру України 2014; (15). 124 с.
2. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, *et al.* (eds). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press, 2008. 439 p.
3. Kimby E. Leukemic phase of B-lineage NHL. *Exp Oncol* 2012; **34** (4): 384–5.
4. Bain BJ, Catovsky D. The leukaemic phase of non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Pathol* 1995; **48**: 189–93.
5. Wong KF, Chan JK, So JC, Yu PH. Mantle cell lymphoma in leukemic phase: characterization of its broad cytologic spectrum with emphasis on the importance of distinction from chronic lymphoproliferative disorders. *Cancer* 1999; **86**: 850–7.
6. Vizcarra E, Martinez-Climent JA, Benet J, *et al.* Identification of WHO subgroups of mantle cell leukemia with distinct clinical and biological features. *Hematol J* 2001; **2**: 234–41.
7. Onciu M, Schlette E, Bueso-Ramos C, Medeiros LJ. Leukemic mantle cell lymphoma with cells resembling prolymphocytes. *Am J Clin Pathol* 2002; **118**: 305–6.
8. Ferrer A, Salaverria I, Bosh F, *et al.* Leukemic involvement is a common feature in mantle cell lymphoma. *Cancer* 2007; **109**: 2473–80.

9. Nelson BP, Variakojis D, Peterson L-A. Leukemic phase of B-cell lymphomas mimicking chronic lymphocytic leukemia and variants at presentation. *Mod Pathol* 2002; **15** (11): 1111–20.

10. Глузман ДФ, Скляренко ЛМ, Надгорная ВА. Диагностическая онкогематология. Киев: ДИА, 2011. 256 с.

11. Глузман ДФ, Скляренко ЛМ, Надгорная ВА, Крячок ИА. Диагностическая иммуноцитохимия опухолей. Киев: Морион, 2003. 156 с.

12. Луговская СА, Почтарь МЕ, Тупицын НН. Иммунофенотипирование в диагностике гемобластозов. М.: Триада, 2005. 166 с.

## IMMUNOCYTOCHEMICAL STUDYING OF BLOOD AND BONE MARROW CELLS IN DIAGNOSING B-CELL LINEAGE NON-HODGKIN'S LYMPHOMAS

*D.F. Gluzman, L.M. Sklyarenko, T.S. Ivanovskaya, N.I. Ukrainskaya, S.V. Koval, M.P. Zavelevich, L.Yu. Poludnenko, A.F. Jalilov, V.N. Zinchenko, T.B. Zubritskaya, I.R. Gartovskaya, T.I. Lysaya, G.V. Pilipenko, D.I. Dvorak*

**Summary.** Bone marrow and peripheral blood involvement in B-cell non-Hodgkin's lymphomas (NHL) may be disclosed at initial presentation. Furthermore, a leukemic phase may be evident in NHL progression. The different subtypes of NHL (lymphocytic, lymphoplasmocytic, mantle cell, marginal zone cell, diffuse B large cell, ALK-positive, Burkitt, plasmoblastic and follicular) were diagnosed in 254 patients to the WHO (2008) criteria. The careful cytological and immunocytochemical analysis of lymphoma cells in peripheral blood and bone marrow is advantageous in providing a provisional diagnosis even if the tissues samples for histological examination are not available.

**Key Words:** non-Hodgkin's lymphoma, leukemic phase, immunocytochemical analysis.

### Адрес для переписки:

Глузман Д.Ф.  
03022, Киев, ул. Васильковская, 45  
Институт экспериментальной патологии,  
онкологии и радиобиологии  
им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины  
E-mail: gluzman@onconet.kiev.ua

Получено: 19.02.2015