

О.О. Шалай
 Я.І. Виговська
 З.В. Масляк
 А.А. Мазурок
 Г.Б. Лебедь
 О.М. Цяпка
 Н.В. Пеленьо
 О.В. Зотова
 А.С. Лук'янова
 М.О. Вальчук
 О.Я. Виговська
 В.Є. Логінський

ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини»
 НАМН України, Львів, Україна

Ключові слова:

волосистоклітинна лейкемія,
 діагностичні ознаки,
 гемоцитопенія, CD-антигени,
 лектини, хромосомні аномалії.

ВСТУП

Волосистоклітинна лейкемія (ВКЛ; hairy cell leukemia) — рідкісна форма хронічної лімфоїдної лейкемії зі зрілих В-клітин, яка проявляється дифузною пухлинною проліферацією характерних лімфоїдних клітин з тонкими цитоплазматичними відростками — волосистими клітинами (ВК) у кістковому мозку (КМ) та селезінці, що призводить до ретикулінового фіброзу КМ, панцитопенії, появи ВК у периферичній крові (ПК) та спленомегалії [1–3, 5]. Крім типової (класичної) ВКЛ, існує варіантна форма ВКЛ (ВКЛ-В), частота якої становить приблизно 10% усіх випадків ВКЛ [27]. ВКЛ-В відрізняється за морфологією, гематологічними проявами та імунофенотипом ВК, відсутністю фіброзу КМ, а також за клінічними ознаками, перебігом і лікуванням [18, 27]. Відомий ще третій (японський) варіант ВКЛ, який зрідка діагностують у мешканців Японських островів [23].

Незважаючи на доволі характерну клінічну, гематологічну і морфологічну картину діагностика і диференціальна діагностика ВКЛ часто є складними, що, на думку деяких авторів, призводить до зниженого і неправильного діагностування цієї патології [20, 24]. ВКЛ може бути альтернативним діагнозом при апластичній анемії, атиповій лімфоцитарній лейкемії, В-клітинній пролімфоцитарній лейкемії, лімфомі селезінки з ворсинчастими лімфоцитами, мієлодиспластичному синдромі з гіпоплазією, ідіопатичному мієлофіброзі [20, 22]. У зв'язку з цим виникає необхідність у опрацюванні діагностичних й диференціально-діагностичних критеріїв ВКЛ і ВКЛ-В на основі поглибленого дослідження клініко-лабораторних ознак захворювання. Правильна і своєчасна діагностика ВКЛ важлива тим, що вона відноситься до однієї з найбільш успішно лікованих лейкемій з тривалим перебігом.

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ВОЛОСИСТОКЛІТИННОЇ ЛЕЙКЕМІЇ

Резюме. На основі аналізу результатів лабораторних досліджень у 87 хворих встановлено комплекс початкових діагностичних ознак волосистоклітинної лейкемії (ВКЛ). Встановлено діагностичне значення наявності лімфоцитів з характерною морфологією — волосистих клітин (ВК) у периферичній крові та/або кістковому мозку, гемоцитопенії (у 78,6% хворих), результатів цитологічного і гістологічного дослідження кісткового мозку (інфільтрація ВК, ретикуліновий фіброз), активності тартратрезистентної кислоти фосфатази у лімфоцитах, імунофенотипової характеристики пухлинних лімфоцитів (рап-В⁺, CD23⁻, CD5⁻, CD10⁻, CD25⁺, CD11c⁺, CD103⁺). Додатковим діагностичним критерієм є високий рівень експресії на ВК антигену Томсена — Фріденрайха, який виявляється за допомогою лектину арахісу (PNA). Відсутні чіткі відмінності лабораторних ознак ВКЛ у пацієнтів молодшого (≤40 років) і старшого (>40 років) віку.

Метою роботи було представити аналіз початкових лабораторно-діагностичних ознак ВКЛ.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідну групу включено 87 хворих на ВКЛ віком від 29 до 80 років (медіана — 50 років), серед яких 64 — чоловіки та 23 — жінки, співвідношення між ними становить 2,7:1. Хворі перебували на стаціонарному лікуванні у гематологічному відділенні 5-ї Міської клінічної лікарні Львова, гематологічному відділенні клініки ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини» НАМН України та знаходилися на диспансерному спостереженні у консультативній поліклініці інституту.

Діагностичні дослідження при ВКЛ, крім клінічного та інструментального обстеження, відповідно до критеріїв класифікації ВООЗ [6, 15] включали: загальний аналіз крові з гемограмою, цитоморфологічну характеристику лімфоїдних клітин ПК, аспіратів КМ та відбитків селезінки, цитохімічну реакцію на наявність тартратрезистентної кислоти фосфатази (ТРКФ) у цих клітинах, гістологічне дослідження трепанобіоптатів КМ та тканини селезінки, дослідження імунофенотипу лімфоцитів ПК, КМ та клітин селезінки, визначення рецепторів лектинів субстратних клітин, цитогенетичний аналіз каріотипу хворих на препаратах метафазних хромосом клітин ПК та/або КМ.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Основними симптомами, які дозволяють запідозрити ВКЛ, є наявність у пацієнтів спленомегалії, одно-, дво- або триросткової цитопенії та типових ВК у ПК та/або КМ.

Для поглибленого аналізу стану учасників дослідження їх було розділено на дві групи за віком: 1-ша

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

група — 18 пацієнтів ≤ 40 років, з них 12 чоловіків та 6 жінок (2:1) віком 29–40 років (медіана — 32,5 року); 2-га — 69 хворих > 40 років, з них 52 чоловіки і 17 жінок (3:1) віком 41–80 років (медіана — 53 роки) (різниця між групами у гендерному розподілі хворих відсутня; $\chi^2 = 0,56$; $p = 0,456$) (рис. 1).

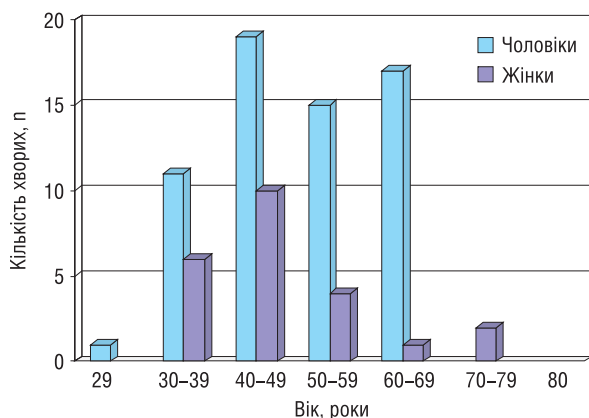


Рис. 1. Розподіл хворих за віком та статтю

При дослідженні ПК у 61 хворого (70,1%) виявлено анемію різного ступеня. Основні показники гемограми представлено у табл. 1. Середній рівень гемоглобіну (Hb) в групі пацієнтів до 40 років становив $(104,5 \pm 7,5)$ г/л. У 3 пацієнтів цієї групи діагностовано анемію легкого ступеня (Hb = 90–110 г/л), у 4 — середнього (Hb = 70–90 г/л), у 2 — тяжкого (Hb = 50–70 г/л), у 1 пацієнта діагностовано надтяжку анемію (Hb = 48 г/л). Середня концентрація Hb у крові пацієнтів старшого віку становила $88,6 \pm 3,3$ г/л ($p = 0,05$). У цій групі у 16 хворих виявлено анемію легкого ступеня, у 16 — середнього, у 14 — тяжкого, у 5 пацієнтів діагностовано надтяжку анемію (Hb < 50 г/л). Отже, анемія відсутня (Hb > 110 г/л) у 44,4% хворих молодшого та тільки у 26,0% пацієнтів старшого віку ($\chi^2 = 2,30$; $p = 0,130$).

Таблиця 1

Основні показники гемограми у хворих на ВКЛ різних вікових груп

Показники	Вікова група	
	≤ 40 років (n = 18)	> 40 років (n = 69)
Hb, г/л	$104,5 \pm 7,5$	$88,6 \pm 3,3^*$
Еритроцити, $\times 10^{12}/л$	$3,51 \pm 0,78$	$3,10 \pm 1,67$
Лейкоцити, $\times 10^9/л$	$3,29 \pm 0,61$	$3,03 \pm 0,27$
Тромбоцити, $\times 10^9/л$	$109,7 \pm 20,7$	$80,5 \pm 5,4$
Лімфоцити, %	$73,6 \pm 5,6$	$73,9 \pm 2,2$
Лімфоцити абс., $\times 10^9/л$	$2,47 \pm 0,54$	$2,33 \pm 0,26$
ШОЕ, мм/год	$37,7 \pm 5,8$	$36,8 \pm 2,5$

*Вірогідна різниця показника між групами.

Поряд з анемією характерною ознакою ВКЛ є лейкопенія з нейтропенією та моноцитопенією; лейкоцитоз відзначається рідко [2, 14, 20]. Серед учасників дослідження лише у 2 (2,3%) хворих виявлено збільшену кількість лейкоцитів, яка становила $10,3 \times 10^9/л$ та $34,7 \times 10^9/л$. Один із них входив у групу молодших, інший — старших пацієнтів. В обох випадках лейкоцитоз поєднувався з анемією (рівень Hb сягав 60 і 63 г/л, відповідно) та з тромбоцитопенією ($115,0 \times 10^9/л$ і $137,0 \times 10^9/л$ відповідно). У першого пацієнта початковим проявом захворювання став розрив селезінки. Лейкопенія ($< 4,0 \times 10^9/л$) виникла у 67 (77,0%) хворих. Серед-

ня кількість лейкоцитів у пацієнтів молодшого віку становила $(3,29 \pm 0,61) \times 10^9/л$, старшого — $(3,03 \pm 0,27) \times 10^9/л$ ($p > 0,05$).

У лейкограмах більш ніж половини пацієнтів абсолютна кількість гранулоцитів становила $< 2,0 \times 10^9/л$, а у 73 (83,9%) хворих виявлено відносний лімфоцитоз у межах від 46 до 99%.

Для ВКЛ, як правило, властива тромбоцитопенія. Кількість тромбоцитів у обстежених пацієнтів досить різна: від поодиноких до нормальних показників. Середня кількість тромбоцитів у групі молодших пацієнтів становила $(109,7 \pm 20,7) \times 10^9/л$, старших — $(80,5 \pm 5,4) \times 10^9/л$ ($p > 0,05$).

За результатами дослідження ізольовану лейкопенію виявлено у 2 (11,1%) хворих молодшого та у 1 (1,4%) — старшого віку, лейкопенію у поєднанні з анемією — у 3 (4,3%) пацієнтів старшого віку, а з тромбоцитопенією — у 2 (11,1%) молодшого та 5 (7,2%) старшого віку; панцитопенію діагностовано у 8 (44,4%) осіб віком до 40 років та у 45 (65,2%) — старше 40 років. Частота цитопенії в обох вікових групах не відрізняється ($\chi^2 = 1,05$; $p = 0,306$).

Показник швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ) змінювався у межах від 7 до 85 мм/год. Середня ШОЕ у молодших пацієнтів становила $37,7 \pm 5,8$ мм/год та $36,8 \pm 2,5$ мм/год — у старших ($p > 0,05$).

У хворих виявляли атипичну популяцію лімфоцитів ПК з характерною волосистою морфологією цитоплазми (від поодиноких до 60%). Ці клітини за розміром дещо більші порівняно зі звичайним лімфоцитом, діаметром 10–15 мкм, з ядром, розташованим переважно дещо ексцентрично, овальної або округлої форми, рідше бобовидним. Ядерний хроматин розрихлений, неконденсований, нуклеоли візуалізуються нечітко або відсутні. Цитоплазма середньої ширини від блідо- або сіро-голубого до більш базофільних відтінків, має нерівні хвилясті контури з волосистоподібними відростками. Множинні цитоплазматичні відростки ВК, як вважають, відображають зміни цитоскелета клітин при їх активації [2, 3, 5], що підтверджено експресією на мембрані активаційних маркерів.

Дослідження аспіраційного пунктату КМ — обов'язковий етап діагностики ВКЛ, оцінки відповіді на лікування та раннього виявлення рецидиву. Отримання аспірату у багатьох хворих було проблематичним внаслідок фіброзу КМ (dry tap — суха пункція), що вважають навіть діагностичною ознакою ВКЛ [2, 3, 5]. При підрахунку мієлограми в першу чергу оцінювали клітинність пунктату. У 77,8% пацієнтів молодшого віку він був гіпоклітинним, у 16,7% хворих — нормоклітинним та у 5,5% — гіперклітинним. У пацієнтів старше 40 років 56,5% пунктатів були гіпоцелюлярними, у 42,0% — нормоцелюлярними, у 1,5% — гіперцелюлярними. Гіпоклітинний образ КМ дещо частіше виявляли у молодших пацієнтів ($\chi^2 = 2,71$; $p = 0,099$).

Гранулоцитарний, еритроїдний та мегакаріоцитарний паростки гемопоезу переважно були кіль-

кісно зменшені або навіть редуковані за рахунок переважання основного клітинного субстрату КМ — лімфоїдних клітин (у середньому $(61,7 \pm 4,6)\%$). ВК, морфологічно ідентичні до циркулюючих у крові, становили від 15 до 100% лімфоцитів КМ.

Для підтвердження діагнозу ВКЛ, зокрема при неможливості отримати аспірат КМ або при сумнівних результатах цитологічного і/або імунофенотипового дослідження, у 40 хворих виконано трепанобіопсію здухвинної кістки. При гістологічному дослідженні біопсій у 5 хворих відзначено нормоклітинність КМ, у 19 — виявлено гіперклітинність з дифузною, змішаною або вогнищово-інтерстиціальною інфільтрацією КМ лімфоїдними клітинами. При вогнищовому рості лімфоїдні клітини утворювали нечітко розмежовані вогнища без вираженої тенденції до паратрабекулярного росту. Крім того, в препаратах відзначали витіснення нормальних паростків, більшою мірою мієлоїдного і еритроїдного і, рідше, мегакаріоцитарного гемопоезу. У 13 осіб у КМ констатували знижену клітинність, що нагадувало картину аплазії гемопоезу. Лімфоїдна інфільтрація КМ при ВКЛ мала деякі характерні особливості: клітини лежать вільно, ядра ВК порівняно з ядрами лімфоцитів при інших лімфопроліферативних процесах розміщені ексцентрично і оточені широким обідком блідої, практично безколірної цитоплазми. Мітози клітин у КМ відсутні. У всіх випадках виявлено фіброз КМ з ніжною або більш вираженою сіткою ретикулінових волокон, які розділяють клітини. Причиною фіброзу КМ є секреція ВК фібронектинового матриксу [7, 20].

Важливою діагностичною ознакою ВКЛ є активність кислої фосфатази, резистентної до дії її інгібітора — іонів тартрату (ТРКФ). У цитоплазмі вона розміщується дифузно або дифузно-гранулярно. В аналізованій групі хворих високу активність ТРКФ відзначено у 80 (91,9%) хворих, що відповідає повідомленням у літературі [3, 5]. Лише у 4 хворих фермент інгібувався частково, а у 3 пацієнтів він був чутливим до дії інгібітора.

Імуноцитохімічні дослідження лімфоїдних клітин ПК проведено у 60 хворих, клітин аспірату КМ — у 22, клітин суспензії видаленої під час спленектомії селезінки — в 11. У обстежених пацієнтів у ПК, КМ і селезінці переважала моноклональна В-клітинна популяція, яка характеризувалася високими показниками експресії рапВ-клітинних антигенів (>80% позитивних клітин) CD19, CD20, CD22, HLA-DR, CD37 з переважним сильним експонуванням одного ізо типу легкого ланцюга Ig. У 25 (53,2%) із 47 хворих ВК був κ -фенотип, у 16 (34,0%) — λ -фенотип і у 6 (12,8%) клональність імунофенотипово не підтверджена. Хоча у літературі описано, що на мембрані ВК частіше виявляється ланцюг λ [2, 3, 10], ми не змогли цього підтвердити у нашій вибірці хворих (співвідношення κ +/ λ + випадків становило 1,56). На ВК відсутній CD10, крім двох CD10⁺-випадків. На відміну від неопластичних лімфоцитів при хро-

нічний лімфоцитарній лейкемії (ХЛЛ), на ВК виявляли сильну експресію sIg, CD22; вони були CD5⁻ (крім 2 випадків CD5⁺dim), CD21⁻, CD23⁻ (у одного хворого ВК експонували CD23).

На пухлинних лімфоцитах 95,9% хворих на ВКЛ встановлено високий рівень експресії (на 39–95% клітин) активаційного антигену CD25, рецептора ІЛ-2, а також CD11b, CD11c, CD103, що дозволило підтвердити діагноз ВКЛ. Незважаючи на те, що ні один з цих маркерів окремо (CD25, CD11c, CD103) не є специфічним виключно для ВКЛ і може виявлятися при інших лімфоїдних проліфераціях (наприклад, при лімфомі селезінки з ворсинчастими лімфоцитами), їх поєднання і високий рівень експресії — характерна ознака ВКЛ [5, 10, 16], тим більше, що на лімфоцитах при ХЛЛ вказані антигени відсутні. У 2 (4,1%) хворих на В-лімфоцитах з морфологією ВК не знаходили антигену CD25, що на основі клінічних та лабораторних показників розцінено як варіант ВКЛ (ВКЛ-В). У 37% хворих на ВК виявлено експресію антигену CD38, а також часто експресію сигнальної молекули активації лімфоцитів SLAM — CD150 (ІПО-3⁺).

У всіх хворих на ВКЛ популяція Т-лімфоцитів у ПК значно знижена: Т-клітинні маркери CD3, CD5, CD4, CD8 виявляли на <20% клітин.

Імунофенотиповий профіль пухлинної популяції В-лімфоцитів КМ та селезінки у всіх випадках ідентичний з ВК ПК.

Таким чином, встановлений фенотип ВК при типовій ВКЛ — sIg⁺, CD19⁺, CD20⁺, CD21⁻, CD22⁺, CD23⁻, CD37⁺, HLA-DR⁺, CD10⁻, CD5⁻, CD25⁺, CD11b⁺, CD11c⁺, CD103⁺, CD150⁺ і ТРКФ⁺ з моноклональним розподілом легких ланцюгів Іg κ і λ . Результати проведених імунофенотипових досліджень відповідають повідомленням інших авторів [2, 5, 10, 12, 24]. Для варіантної форми хвороби (ВКЛ-В) фенотип відповідно — CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD23⁻, CD5⁻, CD10⁻, CD25⁻, CD11c⁻, та ТРКФ⁻, що загалом констатують літературні джерела [16, 18, 25, 27].

Результати дослідження вуглеводних компонентів мембрани лімфоцитів ПК у 13 хворих на ВКЛ представлені у табл. 2. У ній наведено середній відсоток позитивних клітин, які взаємодіяли з кожним лектином, та частоту випадків з наявною експресією рецепторів лектинів (відсоток позитивних клітин >20%) у групі хворих та у контрольній групі.

ВК ПК і/або КМ у хворих на ВКЛ у значному відсотку містили на своїй мембрані Gal-специфічні вуглеводні компоненти. Так, антиген Томсена — Фріденрайха (антиген Т; Gal β 1 \rightarrow 3GalNAc α 1 \rightarrow), який виявляється лектином PNA, наявний на мембрані ВК у всіх хворих на істотно вищому відсотку клітин ($70,2 \pm 3,3\%$), ніж у контрольній групі ($p < 0,001$). Gal β -специфічний лектин RCA, який взаємодіє з усіма нормальними лімфоцитами і виявляє вуглеводні ланцюги I і II типу O- і N-гліканів, представлений у всіх хворих, однак вірогідно знижується рівень експресії його рецептора ($p < 0,001$). Зростає до-

Рецептори лектинів на пухлинних клітинах при ВКЛ

Лектини	Специфічність	Група пацієнтів			
		Контрольна (здорові люди) (n = 15)		Хворі на ВКЛ (n = 13)	
		Ч+	% кл.+	Ч+	% кл.+
PNA (аглютинін арахісу)	Galβ	0/15	6,3 ± 1,0	13/13*	70,2 ± 3,3**
RCA (аглютинін ридини)	Galβ	15/15	68,5 ± 3,9	12/12	45,8 ± 3,1**
ML-1 (лектин омели білої)	Galα	2/15	14,3 ± 1,8	6/12*	24,9 ± 3,1**
HPL (лектин виноградного слимака)	GalNAcα	0/15	4,3 ± 1,0	4/13*	18,9 ± 1,1**
SBA (аглютинін сої)	GalNAcα	3/15	15,9 ± 1,5	1/13	11,0 ± 1,9
LCL (лектин сочевиці харчової)	Manα, Fucα	4/15	10,9 ± 1,9	3/13	15,2 ± 2,4
PSL (лектин гороху)	Manα	13/15	40,4 ± 2,8	6/12*	23,5 ± 3,5**
WGA (аглютинін зародків пшениці)	GlcNAcβ	15/15	61,7 ± 3,9	12/13	51,6 ± 5,7
STL (лектин бульб картоплі)	GlcNAcβ	11/15	31,1 ± 2,7	9/12	28,8 ± 3,2
LAL (лектин кори золотого дощу)	Fucα	0/15	9,1 ± 1,2	6/13*	21,8 ± 3,5**
SNL (лектин кори бузини чорної)	NANα	8/15	23,3 ± 1,8	8/13	27,4 ± 3,0
PHA-L (лектин із квасолі звичайної)	Поліспецифічний	15/15	81,3 ± 2,9	10/12	44,6 ± 5,9**

Ч+ – співвідношення кількості позитивних випадків (експресія маркера >20%) до кількості тестованих осіб; % кл.+ – середня кількість позитивно реагуючих клітин; *статистично вірогідно (p < 0,05) порівняно з частотою випадків у контрольній групі; **статистично вірогідно (p < 0,05) порівняно з показником у контрольній групі.

стовірно як рівень експресії (p < 0,001), так і частота позитивних випадків (точний тест Фішера; p = 0,044) експресії E-рецептора з детермінантою Galα→Gal, яка виявляється за допомогою лектину ML-1.

Клітини хворих при ВКЛ не реагували достатньо мірою (<20% позитивних клітин) з лектинами, специфічними до GalNAcα глікопротеїнових структур (HPL, SBA). Слід зазначити, що підвищення рівня експресії (p < 0,001) антигену F (лектин HPL) відзначається у вірогідно більшій кількості випадків (точний тест Фішера; p = 0,035). ВК збіднені і на маннозні (Manα) структури серцевинної частини N-гліканів. Рецептори до PSL, які наявні у значній кількості на нормальних лімфоцитах, при ВКЛ виявляють значно рідше (точний тест Фішера; p = 0,044) і на меншій кількості клітин (p < 0,01) порівняно з контрольною групою. Не змінюється вміст N-гліканів комплексного і гібридного типу, які містять сіалізовані повторні залишки GlcNAcβ і взаємодіють з лектинами WGA, а також з STL. Це стосується і рівня сіалізації лімфоцитів хворих (лектин SNL). Змінюється експресія антигену H, який відсутній на нормальних лімфоцитах. Зростає частота позитивних випадків (точний тест Фішера; p = 0,005) та посилюється експресія (p < 0,01) гліканів з термінальною Fucα (лектин LAL). Пухлинні лімфоцити містять у мембрані вірогідно меншу кількість (p < 0,001) 4-антенних ланцюгів II типу N-гліканів (поліспецифічний лектин PHA-L).

Досі не вдалося з'ясувати, на якому етапі диференціації відбувається пухлинна трансформація ВК, які мають імунофенотип зрілих постгермінальних В-клітин з експресією CD25 (IL-2R) [4, 7]. У проведених дослідженнях виявлено, що глікопротеїнові детермінанти мембрани ВК представлені високим рівнем залишків, специфічних для O-гліканів (антигеном T), Galα і термінальною Fucα, та зниженням N-гліканів комплексного типу (лектини PSL, RCA, PHA-L). Слід відзначити, що рівень експресії антигену T (лектин PNA) на ВК найвищий серед пухлинних лімфоцитів при інших зрілоклітинних злоякісних проліфераціях [8, 9, 21]. Активаційний антиген CD25, рецептор IL-2, представляє собою високо O-

і N-глікозильований глікопротеїн типу I [4, 7]. Результати наших досліджень можуть вказувати, що він, подібно до інших сіглектинів, містить низькосіалізований залишок NANα→Galβ1→3GalNAcα1→. Невідомо, чи низька сіалізація (невисока взаємодія з лектином SNL) є звичайною ознакою цього рецептора, чи вона виявляється тільки при ВКЛ.

Цитогенетичне дослідження клітин ПК та/або КМ в загальному проведено у 10 хворих на ВКЛ, проте мітотичні клітини отримано у 7 пацієнтів (табл. 3). Якість метафазних пластинок була низькою внаслідок поганого розкладення хромосом або їх взаємного накладання, в результаті чого ідентифікація дрібних аберацій була ускладнена.

Таблиця 3
Результати цитогенетичного дослідження клітин ПК та/або КМ у хворих на ВКЛ

№	Вік, роки	Стать	Каріотип
1	39	Ж	46,XX[3]
2	75	Ж	—
3	69	Ч	46,XY,del(17)(p13)[4]/46,XY[9]
4	53	Ч	46,XY[20]
5	67	Ч	46,XY[4]
6	37	Ж	—
7	42	Ч	46,XY[20]
8	52	Ч	46,XY[18]
9	49	Ж	46,XX[10]
10	61	Ж	—

Аналіз каріотипу у 6 випадках показав відсутність цитогенетично видимих змін. Нормальний каріотип виявлено у зразках, отриманих від одного первинного і 5 раніше пролікованих хворих. В одному випадку у раніше пролікованого хворого у 30% клітин встановлено наявність делеції короткого плеча 17 хромосоми — del(17)(p13) (рис. 2.).

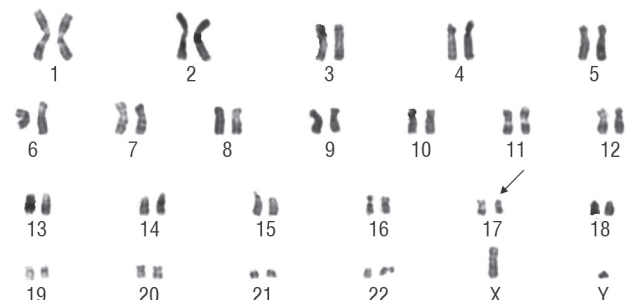


Рис. 2. Каріотип хворого на ВКЛ з делецією короткого плеча хромосоми 17 — 46,XY,del(17)(p13)

Така перебудова, як відомо, пов'язана з агресивним перебігом хвороби у деяких варіантах В-клітинних лімфоїдних неоплазій. У локусі 17p13 розміщений ген TP53, який кодує транскрипційний фактор p53, що бере участь в індукції апоптозу при пошкодженні геному клітини. Делеція TP53 зумовлює коротший час виживання хворих і є вагомим фактором несприятливого прогнозу при ХЛЛ [17]. При ВКЛ несприятливість del(17)(p13) не доведено.

Повідомлення про цитогенетичні дослідження при ВКЛ з'являються нерегулярно, можливо, у зв'язку з відносною рідкісністю хвороби та через труднощі в отриманні достатньої кількості матеріалу для аналізу. У хворих на ВКЛ описано широкий спектр хромосомних аномалій, але досі не виявлено специфічних цитогенетичних перебудов, пов'язаних з прогнозом перебігу хвороби. Так, в одному з досліджень, яке включало 21 випадок ВКЛ, у 30% пацієнтів виявлено аномалію 14q+, включаючи випадок t(14;18)(q32;q21), характерний для фолікулярної лімфоми [11]. У 2 пацієнтів виявлено транслокацію t(2;8)(p12;q24), властиву лімфомі Беркітта [26]. Нерідко виявляють порушення в 12-ій хромосомі (12r, 12q24, 12q13) [11, 13]. У дослідженні за допомогою FISH (флуоресцентна гібридизація *in situ*) у 2 випадках із 10 встановлено трисомію 12-ї хромосоми [13]. В іншому дослідженні, у якому брали участь 30 пацієнтів з ВКЛ, у 12 (40%) випадках виявлено аномалії 5-ї хромосоми, переважно трисомію, перичентричну інверсію і делецію 5q13 [19]. Поряд з аномаліями 5-ї хромосоми знаходили аномалії 14-ої хромосоми, а також зміни в локусі 1q42 і +del(12)(p11) [11]. Трисомія 12 — досить часта аномалія при ХЛЛ, тоді як аномалії 5-ї хромосоми рідко відзначаються при лімфоїдній неоплазії [13]. Кількісні частіше трисомія) і структурні порушення в 5-й хромосомі дозволяють передбачити, що у частини пацієнтів в патогенезі хвороби може брати участь втрата пухлинного супресора, локалізованого в 5q13.3 [13].

ВИСНОВКИ

1. Лабораторними критеріями діагностики ВКЛ є дослідження ПК (виявлення анемії, лейкопенії і тромбоцитопенії у різних сполученнях, наявність лімфоцитів з характерною морфологією — ВК), цитологічне і гістологічне дослідження КМ (інфільтрація ВК, ретикуліновий фіброз), цитохімічне виявлення у лімфоцитах активності кислої фосфатази, резистентної до дії інгібітора — іонів тартрату, імунофенотипове дослідження пухлинних лімфоцитів ПК і/або КМ (sIg⁺, CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD23⁻, CD5⁻, CD10⁻, CD25⁺, CD11c⁺, CD103⁺).

2. Додатковим лабораторно-діагностичним критерієм у складних випадках є високий рівень експресії на ВК антигену Томсена — Фріденрайха (понад 60% клітин, які позитивно реагують з лектином PNA) при зниженому рівні взаємодії (<20% позитивних клітин) з іншими лектинами, специфічними до вуглеводних залишків О-гліканів (реакція з лектинами HPL, SBA).

3. Цитогенетичні дослідження при ВКЛ дозволяють виявити хромосомні аномалії, оцінка прогностичного значення яких потребує подальшого вивчення.

4. Відсутні чіткі відмінності лабораторних ознак ВКЛ у пацієнтів молодшого (<40 років) і старшого (>40 років) віку.

ЛІТЕРАТУРА

1. Виговська ЯІ, Логінський ВС, Масляк ЗВ та ін. Ефективність лікування 2-хлордезоксиденозином хворих на волосистоклітинну лейкемію. Укр журн гематол трансфузіол 2008; 3 (8): 40–4.
2. Волкова МА. Волосатоклітинний лейкоз. В: Клиническая онкогематология. Москва: Медицина, 2007: 396–410.
3. Воробьев АИ, Кременецкая АМ. Атлас: опухоли лимфатической системы. Москва: Ньюдиамед, 2007. 294 с.
4. Глузман ДФ, Скляренко ЛМ, Надгорная ВА и др. Классификация антигенов лейкоцитов человека (система CD). Киев: б/и, 2003: 40 с.
5. Глузман ДФ, Скляренко ЛМ, Надгорная ВА и др. Диагностическая иммуноцитохимия опухолей. Киев: Морион, 2003. 155 с.
6. Глузман ДФ, Скляренко ЛМ, Надгорная ВА и др. Новая классификация опухолей лимфоидной ткани (ВОЗ, 2008). Киев: ДИА, 2009. 36 с.
7. Фаллер Дж, Шилдс Д. Молекулярная биология клетки. Москва: Бином-Пресс, 2004. 268 с.
8. Шалай ОО, Логінський ВС. Порівняльна оцінка лектинового профілю мембрани лімфоїдних клітин при В-клітинних лімфомах низького та високого ступеня злоякісності. Практ Мед 2008; 3 (14): 183–8.
9. Шалай ОО. Вуглеводні структури мембрани неопластичних клітин при окремих варіантах В-клітинних лімфом низького ступеня злоякісності. Укр журн гематол трансфузіол 2008; 8 (1): 6–11.
10. Babusikova, O, Tomova A. Hairy cell leukemia: early immunophenotypic detection and quantitative analysis by flow cytometry. Neoplasma 2003; 50 (5): 350–6.
11. Brito-Babapulle V, Matutes E, Oscier D, et al. Chromosome abnormalities in a variant form of hairy cell leukaemia. Gen Chrom Cancer 1994; 10: 197–202.
12. Cornfield DB, Mitchell Nelson DM, Rimsza LM, et al. The diagnosis of hairy cell leukemia can be established by flow cytometric analysis of peripheral blood, even in patients with low levels of circulating malignant cells. Am J Haematol 2001; 67 (4): 223–6.
13. Cuneo A, Bigoni R, Balboni M, et al. Trisomy 12 in chronic lymphocytic leukemia and hairy cell leukemia: a cytogenetic and interphase cytogenetic study. Leuk Lymph 1994; 15: 167–72.
14. Dores GM, Matsumo RK, Weisenburger, et al. Hairy cell leukaemia: a heterogeneous disease? Br J Haematol 2008; 142 (1): 45–51.
15. Foucar K, Catovsky D. Hairy cell leukemia. In: World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. / Eds: ES Jaffe, NL Harris, H Stein, et al / Lyon: IARC Press, 2001.
16. Goodman GR, Bethel KJ, Saven A. Hairy cell leukemia: an update. Curr Opin Hematol 2003; 10: 258–66.
17. Grever MR, Lucas DM, Dewald GW, et al. Comprehensive assessment of genetic and molecular features predicting outcome in patients with chronic lymphocytic leukaemia. J Clin Oncol 2007; 25(7): 799–804.
18. Gupta K, Jasmina A, Malhotra P, et al. Hairy cell leukemia-variant — a case report. Indian J Pathol Microbiol 2005; 48 (3): 387–9.
19. Hagland U, Julliusson G, Stellan B, et al. Hairy cell leukemia is characterized by clonal chromosome abnormalities clustered to specific regions. Blood 1994; 83: 2637–45.
20. Hoffman MA. Clinical presentations and complications of hairy cell leukemia. Hematol Oncol Clin North Am 2006; 20 (5): 1065–73.
21. Kumar SR, Sauter ER, Quinn TR, et al. Thomsen-Friedenreich and Tn antigens in nipple fluid: carbohydrate biomarkers for breast cancer detection. Clin Cancer Res 2005; 11 (19): 6868–71.

22. Michie H, Bingshu E, Elaine S, *et al.* Second cancer incidence and cause-specific mortality among 3104 patients with hairy cell leukemia: a population-based study. *J Natl Cancer Inst* 2007; **99**: 215–22.

23. Miyazaki M, Taguchi A, Sakuragi S, *et al.* Hairy cell leukemia, Japanese variant, successfully treated with cladribine (in Japanese). *Rinsho Ketsueki* 2004; **45** (5): 405–7.

24. Sharpe RW, Bethel KJ. Hairy cell leukemia: diagnostic pathology. *Hematol Oncol Clin North Am* 2006; **20** (5): 1023–49.

25. Wanko SO, de Castro C. Hairy cell leukemia: an elusive but treatable disease. *Oncologist* 2006; **11** (7): 780–9.

26. Wong K, Kwong Y, Hui P. Hairy cell leukemia variant with t(2;8)(p12;q24) abnormality. *Cancer genet and cytogenet* 1997; **98**: 102–5.

27. Ya-In C, Brandwein J, Pantalony D, *et al.* Hairy cell leukemia variant with features of intrasinusoidal bone marrow involvement. *Arch Pathol Lab Med* 2005; **129** (3): 395–8.

LABORATORY DIAGNOSTICS OF HAIRY CELL LEUKEMIA

O.O. Shalay, Y.I. Vyhovska, Z.V. Maslyak, A.A. Mazurok, H.B. Lebed, O.M. Tsiapka, N.V. Pelenyo, O.V. Zotova, A.S. Lukyanova, M.O. Valchuk, O.Y. Vyhovska, V.E. Loginsky

Summary. *Based on the analysis of results of laboratory research in 87 patients a set of initial diagnostic features of hairy cell leukemia (HCL) has been stated. There has*

been defined a diagnostic value of occurrence of lymphocytes with definitive morphology — hairy cells (HC) in peripheral blood and/or bone marrow, hemocytopenias (in 78.6% of patients), results of cytological and histological research of bone marrow (infiltration of HC, reticular fibrosis), activity of tartrate-resistant acid phosphatase in lymphocytes, immunophenotype characteristics of tumor lymphocytes (pan-B⁺, CD23⁻, CD5⁻, CD10⁻, CD25⁺, CD11c⁺, CD103⁺). Additional diagnostic criterion is a high expression level on HC of Thomsen-Friedenreich antigen, which is detected with the help of peanut lectin (PNA). Clear differences of laboratory signs of HCL in younger patients (≤40 years of age) and older patients (>40 years of age) are absent.

Key Words: hairy cell leukemia, diagnostic signs, hemocytopenias, CD antigens, lectins, chromosome abnormality.

Адреса для листування:

Шалай О.О.

79044, Львів, вул. Генерала Чупринки, 45

ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини» НАМН України

E-mail: oliashalai@ukr.net