

І.А. Крячок  
 А.В. Мартинчик  
 К.С. Філоненко  
 О.М. Алексик  
 Є.В. Кущевий  
 І.Б. Титоренко

Національний інститут раку,  
 Київ, Україна

**Ключові слова:** неходжкінські дифузні В-великоклітинні лімфоми, класифікація, групи ризику, молекулярні підтипи, імуногістохімічні маркери прогнозу.

## ІСТОРИЧНІ АСПЕКТИ КЛАСИФІКАЦІЇ НЕХОДЖКІНСЬКИХ ЛІМФОМ І СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ ВИЗНАЧЕННЯ ПРОГНОЗУ ПРИ ДИФУЗНИХ В-ВЕЛИКОКЛІТИННИХ ЛІМФОМАХ

*У статті подано історичний ракурс класифікацій минулих років та особливості останніх класифікацій дифузних В-великоклітинних лімфом. Детально проілюстровано поділ на прогностичні підгрупи дифузних В-великоклітинних лімфом, зміни факторів ризику з удосконаленням терапії та недосконалість існуючих прогностичних моделей. Представлено історію відкриття молекулярних підтипів дифузних В-великоклітинних лімфом і прогностичне значення основних імуногістохімічних маркерів певного підтипу неходжкінських лімфом.*

**Місце дифузних В-великоклітинних лімфом (ДВКЛ) у класифікаціях лімфом і нові підваріанти ДВКЛ у класифікації ВООЗ (2008).** В Україні, як і в цілому світі, відмічається підвищення захворюваності на дифузні неходжкінські лімфоми (НХЛ). Так, за даними Національного канцер-реєстру, у 2004 р. грубий показник захворюваності на НХЛ в Україні становив 4,1 на 100 000 населення, кількість вперше діагностованих випадків досягла 1994. У 2013 р. кількість вперше виявлених захворювань зросла до 2252, грубий показник захворюваності підвищився майже на 35% і становив 5,5 на 100 000 населення [1].

Складність проблеми та різноманітність форм і варіантів НХЛ знайшли своє відображення у великій кількості класифікацій різних років. ДВКЛ є найпоширенішим підваріантом НХЛ і становить близько 30–40% усіх вперше діагностованих випадків лімфом [2].

Захворювання, що наразі відоме як ДВКЛ, вперше виділили в окрему категорію у переглянутій Європейсько-Американській класифікації лімфоїдних новоутворень (The Revised European-American Lymphoma classification — REAL classification) у 1994 р., в якій об'єднали «центробластну» та «імунобластну» категорії лімфом, що існували у попередніх класифікаціях. Принципи цієї класифікації були засновані на морфологічних ознаках з урахуванням клінічного перебігу захворювання [3, 4]. Після відповідної апробації та внесення необхідних уточнень вона стала основою нової класифікації Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) пухлинних захворювань кровотворної та лімфоїдної тканин [5, 6], яка включає мієлоїдні, гістіоцитарні новоутворення та пухлини, що виникають із тучних клітин. Класифікація заснована не тільки на мор-

фологічних критеріях, але й враховує, окрім імунофенотипу, молекулярно-біологічні та клінічні особливості НХЛ [7].

Першою клінічно вагомою слід вважати класифікацію НХЛ, яку запропонував Н. Rappaport [8]. ДВКЛ відповідає таким підтипам лімфом цієї класифікації, як дифузна гістіоцитарна та дифузна лімфоцитарна низькодиференційована [9].

Серед гістологічних класифікацій НХЛ слід відзначити Британську (1973 р.), класифікацію Lukes — Collins (1974 р.), Кільську (1974 р.), першу класифікацію ВООЗ (1976 р.), а також так звану Робочу класифікацію (Working Formulation) НХЛ для практичного застосування (1982 р). У Кільській класифікації ДВКЛ представлена центробластною, імунобластною лімфомами та некласифікованою лімфомою високого ступеня злоякісності. У класифікації Lukes — Collins ДВКЛ включає імунобластну В-клітинну лімфому та лімфому з великих клітин фолікулярного центру. У Робочій класифікації НХЛ такі підтипи, як дифузна лімфома з малих та великих клітин і великоклітинна імунобластна лімфома належать до ДВКЛ [9].

Однак категорія ДВКЛ залишалася гетерогенною групою лімфом з єдиною спільною морфологічною рисою, що визначається як «дифузна проліферація великих неопластичних клітин з розміром ядра, таким самим чи більшим за ядро нормального макрофага або більшим ніж удвічі за розмір нормального лімфоцита» [10].

В останній класифікації ВООЗ 2008 р. зроблено спробу виділити окремі підтипи з групи ДВКЛ, однак більшість цих підваріантів все ж були розподілені за розміром ядра чи органом ураження [11].

Деякі нові підваріанти ДВКЛ трапляються дуже рідко, однак їх виокремлення в цій класифікації мало на меті зробити підгрупи ДВКЛ більш гомогенними і стимулювати дослідження рідкісних варіантів, що можуть потребувати окремих підходів. Більшість ДВКЛ не мали специфічних клінічних або гістологічних ознак і були включені в групу ДВКЛ, неспецифікованих іншим чином (NOS). У новій класифікації підкреслено важливість локалізації та інших клінічних особливостей при окремих підваріантах.

Залежно від морфологічного варіанта ДВКЛ у класифікації ВООЗ 2008 р. виділяють загальні морфологічні підтипи: центробластну, імунобластну, анапластичну ДВКЛ та інші рідкісні підтипи.

За походженням клітин виділяють пухлини: з гермінального центру (germinal center В — GCB), з активованих В-клітин (із негермінального центру — non-GCB).

З урахуванням особливостей експресії імуногістохімічних маркерів виділяють: CD5<sup>+</sup> ДВКЛ, із гермінального центру, із клітин негермінального центру.

Підтипи ДВКЛ:

- В-великоклітинна лімфома, багата Т-клітинами/гістіоцитами;
- первинна ДВКЛ з ураженням центральної нервової системи (ЦНС);
- первинна ДВКЛ з ураженням шкіри нижніх кінцівок;
- вірус Епштейна — Барр-позитивна ДВКЛ осіб похилого віку.

До категорії інших В-великоклітинних лімфом належать:

- первинна медіастиальна великоклітинна лімфома (тимічна);
- інтраваскулярна великоклітинна лімфома;
- ДВКЛ, асоційована з хронічним запаленням;
- лімфоїдний гранулематоз;
- ALK-позитивна великоклітинна лімфома (ALK — anaplastic lymphoma kinase — кіназа анапластичної лімфоми);
- плазмобластна лімфома;
- В-великоклітинна лімфома, що розвивається з HHV8-асоційованої мультицентричної хвороби Кастельмана (HHV8 — human herpesvirus 8 — вірус герпесу людини 8-го типу);
- первинна лімфома серозних порожнин.

Окремо у класифікації виділені межові випадки:

- В-клітинна лімфома, некласифікована, з проміжними рисами ДВКЛ і лімфоми Беркітта;
- В-клітинна лімфома, некласифікована, з проміжними рисами ДВКЛ і класичною лімфою Ходжкіна.

## МІЖНАРОДНИЙ ПРОГНОСТИЧНИЙ ІНДЕКС (МПІ) ТА СПРОБИ ЙОГО УДОСКОНАЛЕННЯ

ДВКЛ є потенційно виліковною хворобою, однак приблизно у 10–15% пацієнтів відмічають пер-

винно-рефрактерний перебіг захворювання, а у 20–25% реєструють рецидив після відповіді на терапію першої лінії [11]. Стандартна терапія є недостатньо ефективною для цих пацієнтів, тому надзвичайно важливо виділити групу хворих високого ризику, що потребують більш агресивної чи експериментальної терапії вже на етапі встановлення діагнозу. З іншого боку, останнім часом з'явилася велика кількість нових лікарських засобів, тому визначення прогностичних факторів є необхідним для встановлення групи ризику пацієнтів та індивідуалізації терапії.

На сьогодні прогноз для пацієнтів із ДВКЛ оцінюється за допомогою МПІ [12]. Цей показник був розроблений у 1993 р. за результатами аналізу лікування 3273 хворих на агресивні НХЛ, що отримували терапію за СНОР-подібними схемами (циклофосфамід, доксорубіцин, вінкрисин, преднізолон) у 16 онкологічних центрах. На підставі поєднання таких несприятливих чинників, як вік понад 60 років, підвищення рівня лактатдегідрогенази (ЛДГ) у сироватці крові, загальний статус > 1 (2–4) за шкалою Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG), стадія III–IV та кількість екстранодальних уражень > 1, було виділено 4 групи ризику: низького (0–1 фактор), низького проміжного (2 фактори), високого проміжного (3 фактори) і високого (4–5 факторів). При цьому 5-річна загальна виживаність становила відповідно 73; 51; 43 і 26%. Також у цьому дослідженні було проаналізовано 5-річну загальну виживаність хворих віком молодше 60 років відповідно до таких факторів ризику, як підвищення рівня ЛДГ, стадія III–IV, загальний статус > 1 (2–4) і кількість екстранодальних уражень > 1 (МПІ, адаптований до віку). Показник виживаності у групі низького ризику (0–1 фактор) становив 83%, низького проміжного (2 фактори) — 69%, високого проміжного (3 фактори) — 46% і високого (4–5 факторів) — 32% [13].

Прогностичну цінність МПІ перевірили і в еру імунотерапії. Канадські вчені з Університету Британської Колумбії (University of British Columbia) проаналізували результати лікування 365 пацієнтів із ДВКЛ, які отримали терапію за схемою R-СНОР. Згідно з результатами аналізу 5-річна виживаність хворих групи високого ризику становила 50%. МПІ було переглянуто з урахуванням терапії ритуксимабом. Відмічали таку зміну груп ризику залежно від кількості факторів ризику: у пацієнтів без факторів ризику безрецидивна виживаність була найбільш тривалою (близько 90%), у пацієнтів з 1–2 факторами ризику цей показник становив приблизно 80%, найгірші результати терапії зареєстровано у хворих за наявності 3, 4 або 5 факторів ризику — 4-річна безрецидивна виживаність сягала < 50% [13]. Для вдосконалення МПІ створено проект з обчислення NCCN-МПІ, в якому взяли участь сім онкологічних центрів Національної загальної онкологічної мережі (National Comprehensive Cancer Network — NCCN) США. У дослідження було включено пацієн-

тів віком старше 18 років з діагнозом ДВКЛ, які проходили лікування у цих центрах з 2000 по 2010 р. У пацієнтів не було іншого злоякісного новоутворення протягом 5 років до встановлення діагнозу лімфоми. Базові клінічні характеристики включали вік, стать, клінічну стадію захворювання за Ann Arbor, кількість екстранодальних уражень, із урахуванням ураження селезінки, рівень ЛДГ, стан за шкалою ECOG (загальний стан 0–4), наявність великої пухлинної маси ( $\geq 10$  см), В-симптомів (тривала лихоманка, нічне підвищене потовиділення та втрата маси тіла  $> 10\%$ ).

Ураження кісткового мозку та ЦНС були підтверджені гістологічно. Рівень  $\beta_2$ -мікроглобуліну, імуногістохімічні маркери та молекулярний підтип не були обов'язковими для визначення, тому їх не оцінювали. За результатами мультиваріантного аналізу, «оновлений» прогностичний індекс складався з 5 факторів. Кількість екстранодальних уражень ( $> 1$ ) не мала прогностичного значення (відношення шансів 1,0; 95% довірчий інтервал 0,8–1,3;  $p = 0,91$ ). Таким чином, NCCN-МПП включає 8 балів для категоризації віку ( $> 40$ –60 років — 1 бал;  $> 60$ –75 років — 2 бали;  $> 75$  років — 3 бали) та 2 бали для оцінки відношення ЛДГ до верхньої межі нормального значення цього показника ( $> 1$ –3 — 1 бал;  $\geq 3$ –2 бали). Наявність екстранодального ураження органів (кісткового мозку, ЦНС, печінки/шлунково-кишкового тракту чи легень), III–IV стадія за Ann Arbor та ECOG  $\geq 2$  оцінювалися як 1 бал. За допомогою цієї прогностичної шкали виділено 4 групи ризику з різною 5-річною виживаністю за Капланом — Мейером: низького ризику (Н; 0–1 бал), низького-проміжного (Н-П; 2–3 бали), високого проміжного (В-П; 4–5 балів) та високого (В;  $\geq 6$  балів). За допомогою нового NCCN-МПП стало можливим краще виділити групи низького та високого ризику (5-річна загальна виживаність становить 96 vs 33% відповідно) порівняно з МПП (5-річна загальна виживаність 90 vs 54% відповідно) [14].

Однак слід зазначити, що ці індекси, незважаючи на їх широке застосування у клінічній практиці та прогностичну цінність, відображають лише клінічні та лабораторні характеристики захворювання, але не враховують біологічні та молекулярно-генетичні особливості пухлини.

**Молекулярні підтипи ДВКЛ.** Останні технічні та аналітичні досягнення в онкології зробили можливим кількісно виміряти експресію тисяч генів, використовуючи комплементарні мікрочипи ДНК.

Перше пілотне дослідження із застосуванням мікрочипів було виконано А.А. Alizadeh та співавторами з використанням cDNA Lymphochip array [15]. Дослідники проаналізували зразки пухлини 42 хворих на ДВКЛ, що отримували антрациклінівмісну хімотерапію. На основі визначення профілю експресії генів було виділено два молекулярні підтипи ДВКЛ із різними ознаками експресії генів, які вказували на різні етапи диференціювання пухлинних клітин. Експресія генів одного підтипу була характер-

на для клітин гермінального центру (ДВКЛ із клітин гермінального центру), а експресія генів іншого підтипу в нормі може бути викликана активацією В-лімфоцитів периферичної крові *in vitro* (ДВКЛ з активованих В-клітин). 5-річна загальна виживаність для пацієнтів першої групи становила 76% і тільки 16% — для другого підтипу [15].

У подальшому ці результати були підтверджені авторами у більш масштабному проекті «Дослідження молекулярного профілю лімфоми і лейкомії» [15]. Використовуючи аналогічну платформу cDNA Lymphochip array, автори проекту провели аналіз зразків біопсії 240 хворих на ДВКЛ, які отримували терапію за антрациклінівмісними схемами. Відмічено значні переваги у 5-річній виживаності хворих на ДВКЛ із клітин гермінального центру порівняно з ДВКЛ із активованих В-клітин (60 vs 35% відповідно). Хоча у ранніх дослідженнях профілю експресії генів були визначені біологічно відмінні підваріанти ДВКЛ, внесок окремих генів залишався нез'ясованим, що ускладнювало побудову клінічно корисної прогностичної моделі, яка б включала відносно невелику кількість генів.

Для вирішення цієї проблеми М.А. Shipp та співавтори [16] застосували аналітичні методології для аналізу профілів, визначених за допомогою Lymphochip (240 пацієнтів із ДВКЛ) та Affymetrix (58 пацієнтів із ДВКЛ). Цей підхід зробив можливим конструкцію прогностичної моделі, заснованої на 17 та 13 генах відповідно. Однак при порівнянні прогностичних моделей не виявлено спільних генів, визначених за допомогою вищезгаданих платформ. Цю невідповідність можна пояснити вибіркою пацієнтів, технічними особливостями різних платформ, будовою мікрочипів та різними аналітичними підходами. Група з дослідження молекулярного профілю лімфоми і лейкомії визначила експресію 14 генів, на основі яких було можливим розподілення ДВКЛ на молекулярні підтипи з різною 5-річною виживаністю [16].

Для створення технічно простішої прогностичної моделі, що може бути застосована у рутинній клінічній практиці, проаналізовано mRNA 36 прогностичних генів на зразках біопсії 66 хворих на ДВКЛ. Перші 6 генів, прогностична цінність яких була перевірена в уніваріантному аналізі, були використані для побудови прогностичної моделі.

Серед обраних генів *LMO2*, *BCL-6* і *FN1* були визнані маркерами кращої виживаності, тоді як *CCND2*, *SCYA3* та *BCL-2* — маркерами несприятливого прогнозу. На основі експресії цих маркерів пацієнти можуть бути розподілені на три МПП-незалежні прогностичні групи (низького, середнього та високого ризику) з 5-річною загальною виживаністю від  $\geq 65\%$  у групі низького ризику до 15% у групі високого ризику [17].

А.А. Alizadeh та співавтори опублікували дані про іншу просту модель, що базується на експресії двох генів: один ген експресується пухлинними клітинами, інший — імунними клітинами [18]. Прогностична роль експресії генів *LMO2* та *TNFRSF9*



не залежала від клітинного походження пухлини, стромальних особливостей та МПІ; більше того, ці гени посилювали прогностичне значення МПІ. Шкала, що включала експресію генів і МПІ, була перевірена на трьох когортах 545 хворих на ДВКЛ. Автори вважають, що визначення експресії гена пухлинних клітин (*LMO2*) та гена імунних клітин мікрооточення (*TNFRSF9*) надає можливість прогнозувати загальну виживаність хворих [18].

**Імуногістохімічні алгоритми для визначення молекулярного підтипу.** Висока вартість обладнання, необхідність проводити дослідження на свіжозамороженому матеріалі та складність методики визначення профілю експресії генів обмежує застосування цього методу в рутинній клінічній практиці для визначення прогнозу захворювання. Тому продовжується пошук імуногістохімічних алгоритмів для розподілення ДВКЛ на молекулярні підтипи. Першим і найбільш розповсюдженим є алгоритм С.Р. Hans та співавторів [19]. Згідно з цим алгоритмом розподіл на молекулярні підтипи виконано на основі експресії таких маркерів, як CD10, bcl-6 та MUM1. Групу ДВКЛ із клітин гермінального центру становили випадки з позитивною експресією CD10 або CD10 та bcl-6. При негативній експресії CD10 та bcl-6 випадок відносили до групи ДВКЛ із клітин негермінального центру. За умови позитивної експресії bcl-6 та негативної експресії CD10 приналежність до групи визначали на основі результатів експресії MUM1: при негативній експресії MUM1 випадок відносили до групи ДВКЛ із клітин гермінального центру, при позитивній експресії MUM1 — до групи з клітин негермінального центру [19].

Імуногістохімічний алгоритм W.W. Choi та співавторів [20] базується на результатах експресії 5 маркерів (GCET1, CD10, BCL6, MUM1 і FOXP1). За даними фахівців, конкордантність із результатами визначення профілю експресії генів становить 87%, що значно перевищує аналогічний показник при використанні алгоритму С.Р. Hans та співавторів [19].

P.N. Meyer з колегами [21] нещодавно проаналізували низку імуногістохімічних алгоритмів. Згідно з результатами аналізу більшість опублікованих алгоритмів збігаються з результатами визначення профілю експресії генів на 80% і більше.

Зниження прогностичної цінності молекулярних підтипів ДВКЛ обговорюється з введенням у клінічну практику ритуксимабу. За даними деяких авторів, різниця в загальній виживаності нівелюється при терапії ритуксимабвмісними режимами [21, 22]. З урахуванням вищесказаного поділ на молекулярні підгрупи не є визначальним фактором прогнозу у хворих на ДВКЛ [23]. Більше того, ці молекулярні підтипи характеризуються значною гетерогенністю всередині груп і містять додаткові підтипи, що, можливо, будуть потребувати інших терапевтичних підходів. Наприклад, доведено, що ДВКЛ із клітин гермінального центру мають більш сприятливий прогноз, однак у цій підгрупі трапляються так зва-

ні MYC/BCL2 double-hit лімфоми, що характеризуються надзвичайно несприятливим перебігом [24, 25]. Тому дуже важливо проводити подальшу стратифікацію ДВКЛ на біологічно та клінічно однорідні підгрупи, що не тільки полегшить прогностичну оцінку та вибір терапії, але й сприятиме подальшим дослідженням, спрямованим на розуміння патогенезу та розробку нових методів лікування.

**Прогностичне значення імуногістохімічних маркерів.** Імуногістохімічні маркери, що використовуються для діагностики лімфом, можуть мати і прогностичне значення. Існує низка публікацій стосовно різної прогностичної ролі таких маркерів, як MUM1/IRF4, CD10, BCL6, BCL2, CD30, що мають важливе значення у патогенезі лімфом.

*MUM1/IRF4* — міелома-асоційований онкоген, який транскрипційно активується у результаті хромосомної транслокації t(6;14)(p25,q32) [26]. Згідно з результатами деяких досліджень, високий рівень експресії MUM1/IRF4 асоціюється з поганим прогнозом [16, 24]. Однак, відповідно до даних інших авторів, цей маркер не впливає на виживаність [23, 25].

Так, у дослідженні С.Р. Hans і співавторів було проаналізовано дані 152 пацієнтів (82 чоловіки і 70 жінок), середній вік становив 63 роки (14–90 років). Медіана виживаності хворих — 6,4 року. Експресію MUM1 відзначали у 47% пацієнтів. Експресія цього маркера була асоційована з нижчою загальною виживаністю ( $p < 0,009$ ) та безпідійною виживаністю ( $p < 0,003$ ) [16]. Згідно з даними, одержаними G.W. van Imhoff та співавторами [27], велике значення має рівень експресії маркера, що вважається позитивним. За результатами різних досліджень, цей показник коливається від 20–30% [18, 27–29] до 80% [28]. У наших власних роботах позитивна експресія  $> 30\%$  не мала прогностичного значення, натомість при експресії  $> 70\%$  було виділено невелику групу пацієнтів із дуже низькою загальною виживаністю (10 міс) [19].

За даними дослідження L. Colomo та співавторів [29], що включало 128 пацієнтів (59 чоловіків, 69 жінок, середній вік — 65 років), експресія MUM1 не мала прогностичного впливу на загальну виживаність. Аналогічні результати отримано й у роботі групи дослідників на чолі з M. Berglund [28], які проводили аналіз експресії bcl-6, CD10 та MUM1. Прогностичне значення експресії вивчали на зразках біопсії у 161 пацієнта з вперше діагностованою ДВКЛ. За результатами аналізу позитивна експресія MUM1 не мала самостійного прогностичного значення.

CD10 — маркер стадії гермінального центру В-клітинної диференціації. CD10-позитивні випадки характеризуються більш сприятливим прогнозом згідно з [19, 30–32]. Не відмічено різниці у виживаності між CD10-позитивними та негативними випадками згідно з даними L. Colomo та співавторів [29], B. Fabiani та співавторів [32]. У дослідженні K. Ohshima та співавторів [33] експресія CD10 виявлена в 39 (28,2%) зі 138 випадків. Експерти повідомляють про виражену кореляцію експресії

CD10 з покращеною загальною виживаністю (68 vs 48%). Експресія CD10 була позитивною в 27 (32,1%) з 84 хворих із низьким МПІ і в 12 (22,2%) з 54 пацієнтів із високим МПІ. У групі низького ризику експресія CD10 мала позитивне прогностичне значення (загальна виживаність становила 93 vs 71%), однак прогностична цінність маркера нівелювалася в групі високого ризику (загальна виживаність сягала 25 vs 20%) [33].

У дослідженні С.Р. Hains та співавторів [19] експресію CD10 відмічено в 42 (28%) із 152 випадків. Мультиваріантний аналіз продемонстрував зв'язок експресії CD10 з вищою загальною виживаністю ( $p < 0,019$ ), однак не з безрецидивною виживаністю.

У ретроспективному дослідженні В. Fabiani та колеги [32] проаналізували дані 98 пацієнтів дослідницької групи GELA, що брали участь у дослідженні LNH93 і отримали терапію за схемою ACVBP. Експресію CD10 зареєстровано у 33 (34%) пацієнтів. За даними авторів, показники загальної та безрецидивної виживаності суттєво не відрізнялися у групах із позитивною та негативною експресією CD10.

BCL6 є репресором транскрипції та найважливішим регулятором гермінального центру. Однак, на думку одних дослідників, експресія цього маркера асоціюється зі сприятливим прогнозом [34], а для інших позитивний вплив експресії маркера відсутній [29].

Для з'ясування прогностичного значення BCL6 при додаванні ритуксимабу до хіміотерапії J.N. Winter та співавтори [34] проаналізували експресію цього маркера на 199 зразках біопсії пацієнтів, що брали участь у клінічному дослідженні III фази, в якому визначали ефективність терапії R-CHOP проти CHOP з або без підтримувальної терапії ритуксимабом. У групі пацієнтів із негативною експресією BCL6 відмічали вищу безрецидивну та загальну виживаність при терапії за схемою R-CHOP порівняно з лікуванням за схемою CHOP (2-річна безрецидивна виживаність 76 vs 9%,  $p < 0,001$ ; 2-річна загальна виживаність 79 vs 17%,  $p < 0,001$ ). На противагу цьому не відзначено різниці у цих показниках для пацієнтів із позитивною експресією BCL6. За результатами мультиваріантного аналізу в групі BCL6 єдиним фактором, який впливав на виживаність, була схема терапії, тоді як у групі Bcl-6<sup>+</sup> єдиним прогностичним маркером був МПІ. Як зазначили автори, ритуксимаб не покращує результати лікування пацієнтів із позитивною експресією BCL6<sup>+</sup>. Однак такий висновок потребує підтвердження у подальших дослідженнях [32].

BCL2 є антиапоптотичним фактором і відіграє важливу роль у розвитку і диференціації В-клітин. Гіперекспресія BCL2 має ключове значення у виникненні хіміорезистентності.

Роль BCL2 (ген В-клітинної лейкемії/лімфоми) була визначена більше 25 років тому у зв'язку з відкриттям транслокації t(14:18) при фолікулярній лімфомі [35]. Цю цитогенетичну патологію, що призводить до дерегуляції експресії білка BCL2, виявля-

ють при більшості фолікулярних лімфом і при вперше виявлених ДВКЛ (за даними різних авторів, від 10 до 40%). Припушено, що при ДВКЛ пригнічувальна дія BCL2 на процес апоптозу є причиною розвитку хіміорезистентності. Це підтверджено у декількох дослідженнях в еру до ритуксимабу, в яких відмічався зворотний зв'язок між експресією BCL2 та виживаністю [36, 37]. Результати деяких досліджень, які проводили після початку застосування ритуксимабу, продемонстрували відсутність впливу цього біомаркера на виживаність [38–40].

Однак J. Iqbal та його колеги проаналізували прогностичне значення BCL2 у пацієнтів із ДВКЛ, які отримали терапію за схемою R-CHOP. За результатами їх досліджень, білок BCL2 виявився біомаркером поганого прогнозу в групі пацієнтів із ДВКЛ із клітин гермінального центру, але не з активованих В-клітин. Ці результати сприяли підвищенню інтересу до різних механізмів активації протеїну BCL2 та різної активності ритуксимабу в межах молекулярних підтипів [40].

CD30 є членом родини рецепторів фактора некрозу пухлини і вважається типовим маркером для клітин Рід — Штернберга і Ходжкіна, пухлинних клітин при Т-клітинних анапластичних лімфомах, Т-/NK-лімфомах. Згідно з результатами нещодавніх досліджень CD30 експресується також і при ДВКЛ [41].

S. Hu та співавтори [41] проаналізували експресію CD30 на 903 зразках біопсії хворих із вперше встановленою ДВКЛ. Експресію CD30 виявили в 14% випадків. Пацієнти з позитивною експресією маркера мали кращу 5-річну загальну виживаність (79 vs 59%;  $p = 0,001$ ) та безрецидивну виживаність ( $p = 0,003$ ). Сприятливий вплив на виживаність відмічали в обох молекулярних підтипах ДВКЛ.

Мутації гена TP53 [42–44] асоціюються з поганим прогнозом у хворих на ДВКЛ, особливо в групі ДВКЛ із клітин гермінального центру [45–48]. Однак результати робіт інших авторів не підтвердили негативний вплив цієї мутації на перебіг захворювання [49]. При мультиваріантному аналізі прогностичного значення імуногістохімічної експресії p53 на зразках біопсії 85 хворих на ДВКЛ цей протеїн виявився найсильнішим прогностичним маркером незалежно від МПІ та молекулярного підтипу ДВКЛ ( $p < 0,005$ ) [50].

Таким чином, ДВКЛ є гетерогенною групою захворювань. З метою виділення пацієнтів групи високого ризику, для яких стандартна терапія залишається недостатньо ефективною, постійно проводиться пошук нових прогностичних маркерів. МПІ та R-МПІ, які набули широкого використання, не відображають біологічні особливості пухлини, а враховують лише її клінічні характеристики. Перспективним є дослідження імуногістохімічних і молекулярно-генетичних маркерів, які відіграють важливу роль у патогенезі ДВКЛ. Їх комплексний аналіз дасть можливість виокремити групу пацієнтів, для яких у майбутньому будуть застосовані ефективніші підходи до терапії.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. **Филоненко КС, Крячок ІА, Алексик ЕМ, Титоренко ІБ и др.** Терапия пациентов с ДВККЛ: мировой опыт в украинской медицине. *Клин онкол* 2011; (4 (4)): 82–7.
2. **Armitage JO, Weisenburger DD.** New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *J Clin Oncol* 1998; **16**: 2780–95.
3. **Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al.** A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from International Lymphoma Study Group. *Blood* 1997; **84**: 924–1361.
4. **Mason DY, Harris NL (eds).** Human Lymphoma: clinical implication of REAL classification. London: Springer-Verlag, 1999. 554 p.
5. **Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al.** Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press, 2001. 351 p.
6. **Gutierrez M, Wilson WH, Abraham EJ, Atlegra CJ.** Non-Hodgkin's lymphoma. In: Bethesda Handbook of Clinical Oncology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 319–32.
7. **Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, et al.** World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the clinical Advisory Committee meeting, Airlie House, Virginia, November, 1997. *J Clin Oncol* 1999; **17**: 3835–49.
8. **Rappaport H.** Tumors of the hematopoietic system. Atlas of tumor pathology. Washington: US Armed Forces Inst Pathol, 1996. 442 p.
9. **Hu Y, Yang K, Krause JR.** Diffuse large B-cell lymphoma, differential diagnosis and molecular stratification. *N A J Med Sci* 2011; **4** (2): 67–76.
10. **Gatter KC, Warnke RA.** Diffuse large B-cell lymphoma. In: Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC Press, 2001: 171–4.
11. **Sehn LH.** Paramount prognostic factors that guide therapeutic strategies in diffuse large B-cell lymphoma. *ASH Education Book* 2012; **2012** (1): 402–9.
12. **[No authors listed].** A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. *N Engl J Med* 1993; **329**: 987–94.
13. **Sehn LH, Berry B, Chhanabhai M, et al.** The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Blood* 2007; **109** (5): 1857–61.
14. **Zhou Z, Sehn HL, Rademaker AW, et al.** An enhanced International Prognostic Index (NCCN-IPI) for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the rituximab era. *Blood* 2014; **123** (6): 837–42.
15. **Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al.** Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000; **403** (6769): 503–11.
16. **Shipp MA, Ross KN, Tamayo P, et al.** Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction by gene expression profiling and supervised machine learning. *Nat Med* 2002; **8**: 68–74.
17. **Lossos IS.** Diffuse large B-cell lymphoma: from gene expression profiling to prediction of outcome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; **14** (1): 108–11.
18. **Alizadeh AA, Gentles AJ, Alencar AJ, Liu CL.** Prediction of survival in diffuse large B-cell lymphoma based on the expression of 2 genes reflecting tumor and microenvironment. *Blood* 2011; **118** (5): 1350–8.
19. **Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, et al.** Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004; **103** (1): 275–82.
20. **Choi WW, Weisenburger DD, Greiner TC, et al.** A new immunostain algorithm classifies diffuse large B-cell lymphoma into molecular subtypes with high accuracy. *Clin Cancer Res* 2009; **15** (17): 5494–502.
21. **Meyer PN, Fu K, Greiner TC, et al.** Immunohistochemical methods for predicting cell of origin and survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab. *J Clin Oncol* 2011; **29** (2): 200–7.
22. **Ilić I, Mitrović Z, Aurer I, et al.** Lack of prognostic significance of the germinal-center phenotype in diffuse large B-cell lymphoma patient treated with CHOP-like chemotherapy with and without rituximab. *Int J Hematol* 2009; **90** (1): 74–8.
23. **Costa LJ, Feldman AL, Micallef IN, et al.** Germinal center B (GCB) and non-GCB cell-like diffuse large B cell lymphomas have similar outcomes following autologous haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2008; **142** (3): 404–12.
24. **Lin P, Medeiros LJ.** High-grade B-cell lymphoma/leukemia associated with t(14;18) and 8q24/MYC rearrangement: a neoplasm of germinal center immunophenotype with poor prognosis. *Haematologica* 2007; **92** (10): 1297–301.
25. **Aukema SM, Siebert R, Schuurin E, et al.** Double-hit B-cell lymphomas. *Blood* 2011; **117** (8): 2319–31.
26. **Nyman H, Adde M, Karjalainen-Lindsberg ML, et al.** Prognostic impact of immunohistochemically defined germinal center phenotype in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with immunochemotherapy. *Blood* 2007; **109** (11): 4930–5.
27. **van Imhoff GW, Boerma EG, van der Holt B, et al.** Prognostic impact of germinal center-associated proteins and chromosomal breakpoints in poor-risk diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2006; **24**: 4135–42.
28. **Berglund M, Thunberg U, Amini RM, et al.** Evaluation of immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its impact on prognosis. *Mod Pathol* 2005; **18**: 1113–20.
29. **Colomo L, López-Guillermo A, Perales M.** Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2003; **101** (1): 78–84.
30. **Iida S, Rao PH, Butler M, et al.** Deregulation of MUM1/IRF4 by chromosomal translocation in multiple myeloma. *Nat Genet* 1997; **17**: 226–30.
31. **Chang KC, Huang GC, Jones D, et al.** Distribution and prognosis of WHO lymphoma subtypes in Taiwan reveals a low incidence of germinal-center derived tumors. *Leuk Lymphoma* 2004; **45** (7): 1375–84.
32. **Fabiani B, Delmer A, Lepage E.** CD10 expression in diffuse large B-cell lymphomas does not influence survival. *Virchows Arch* 2004; **445** (6): 545–51.
33. **Ohshima K, Kawasaki C, Muta H, et al.** CD10 and Bcl10 expression in diffuse large B-cell lymphoma: CD10 is a marker of improved prognosis. *Histopathology* 2001; **39** (2): 156–62.
34. **Winter JN, Weller EA, Horning SJ.** Prognostic significance of Bcl-6 protein expression in DLBCL treated with CHOP or R-CHOP: a prospective correlative study. *Blood* 2006; **107** (11): 4207–13.
35. **Tsujimoto Y, Gorham J, Cossman J, et al.** The t(14;18) chromosome translocations involved in B-cell neoplasms result from mistakes in VDJ joining. *Science* 1985; **229**: 1390–3.
36. **Gascoyne RD, Adomat SA, Krajewski S, et al.** Prognostic significance of Bcl-2 protein expression and Bcl-2 gene rearrangement in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; **90**: 244–51.
37. **Wilson WH, Grossbard ML, Pittaluga S, et al.** Dose-adjusted EPOCH chemotherapy for untreated large B-cell lymphomas: a pharmacodynamic approach with high efficacy. *Blood* 2002; **99**: 2685–93.
38. **Wilson WH, Dunleavy K, Pittaluga S, et al.** Phase II study of dose-adjusted EPOCH and rituximab in untreated diffuse large B-cell lymphoma with analysis of germinal center and post germinal center biomarkers. *J Clin Oncol* 2008; **26**: 2717–24.
39. **Mounier N, Briere J, Gisselbrecht C, et al.** Rituximab plus CHOP (R-CHOP) overcomes bcl-2-associated resistance to chemotherapy in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *Blood* 2003; **101**: 4279–84.
40. **Iqbal J, Meyer PN, Smith L, et al.** BCL2 predicts survival in germinal center B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma



treated with CHOP-like therapy and rituximab. Clin Cancer Res 2011; **17**: 7785–95.

41. **Hu S, Xu-Monette ZY, Balasubramanyam A, Manyam GC.** CD30 expression defines a novel subgroup of diffuse large B-cell lymphoma with favorable prognosis and distinct gene expression signature: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. Blood 2013; **121** (14): 2715–24.

42. **Hinds P, Finlay C, Levine AJ.** Mutation is required to activate the p53 gene for cooperation with the ras oncogene and transformation. J Virol 1989; **63** (2): 739–46.

43. **Lane DP.** Cancer. p53, guardian of the genome. Nature 1992; **358** (6381): 15–6.

44. **Hermeking H, Lengauer C, Polyak K, et al.** 14–3–3 sigma is a p53-regulated inhibitor of G2/M progression. Mol Cell 1997; **1** (1): 3–11.

45. **Kerbauf FR, Colleoni GW, Saad ST, et al.** Detection and possible prognostic relevance of p53 gene mutations in diffuse large B-cell lymphoma. An analysis of 51 cases and review of the literature. Leuk Lymphoma 2004; **45** (10): 2071–8.

46. **Leroy K, Haioun C, Lepage E, et al.** p53 gene mutations are associated with poor survival in low and low-intermediate risk diffuse large B-cell lymphomas. Ann Oncol 2002; **13** (7): 1108–15.

47. **Young KH, Leroy K, Møller MB, et al.** Structural profiles of TP53 gene mutations predict clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma: an international collaborative study. Blood 2008; **112** (8): 3088–98.

48. **Zainuddin N, Berglund M, Wanders A, et al.** TP53 mutations predict for poor survival in *de novo* diffuse large B-cell lymphoma of germinal center subtype. Leuk Res 2009; **33** (1): 60–6.

49. **Barrans SL, Carter I, Owen RG, et al.** Germinal center phenotype and bcl-2 expression combined with the International Prognostic Index improves patient risk stratification in diffuse large B-cell lymphoma. Blood 2002; **99** (4): 1136–43.

50. **Xie Y, Bulbul MA, Ji L, et al.** p53 expression is a strong marker of inferior survival in *de novo* diffuse large B-cell lymphoma and may have enhanced negative effect with MYC coexpres-

sion: a single institutional clinicopathologic study. Am J Clin Pathol 2014; **141** (4): 593–604.

## HISTORICAL ASPECTS OF NON-HODGKIN'S LYMPHOMA CLASSIFICATION AND UP-TO-DATE ISSUES OF PROGNOSIS IN DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMAS

*I.A. Kriachok, A.V. Martynchyk, K.S. Filonenko, O.M. Aleksik, E.V. Kuscheviy, I.B. Tytorenko*

**Summary.** *Historical issues of past non-Hodgkin's lymphoma classifications and specific features of the latest diffuse large B-cell lymphoma classifications are presented in the article. There is a review of risk group stratification, changes of prognostic factors depending on improving of therapy and grounding of imperfection of current prognostic models. A history of discovering of molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma and prognostic significance of main immunohistochemistry markers are also presented in the article.*

**Key Words:** non-Hodgkin's diffuse large B-cell lymphomas, classification, risk groups, molecular subtypes, immunohistochemistry prognostic markers.

### Адреса для листування:

Мартинчик А.В.

03022, Київ, вул. Ломоносова, 33/43

Національний інститут раку

E-mail: [hematology@unci.org.ua](mailto:hematology@unci.org.ua)

Одержано: 24.02.2016