

Д.Ф. Глузман  
В.А. Надгорная  
Л.М. Склярченко  
С.В. Коваль  
Т.С. Ивановская  
Л.Ю. Полудненко  
О.В. Балицкая  
Г.И. Климянок

Институт экспериментальной  
патологии, онкологии  
и радиобиологии  
им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины

Институт онкологии  
АМН Украины, Киев, Украина

#### Ключевые слова:

злокачественная лимфома,  
иммуноцитохимия,  
моноклональные антитела.

## ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ НЕХОДЖКИНСКИХ ЛИМФОМ У ДЕТЕЙ

**Резюме.** Уточненный диагноз на основе данных цитоморфологического, цитохимического и иммунофенотипического анализа необходим для установления происхождения злокачественных лимфом. Только после этого для каждого ребенка может быть определена оптимальная стратегия терапии.

Неходжкинские лимфомы — гетерогенная группа злокачественных новообразований, возникающих из различных по происхождению и уровню дифференцировки клеток лимфоидной ткани. Неходжкинские лимфомы составляют 7–10% общего числа злокачественных заболеваний у детей до 15 лет, занимая третье место по частоте после острых лейкозов и опухолей головного мозга [1, 2]. Пик заболеваемости приходится на возраст 5–9 лет, значительно реже опухоли этого типа обнаруживают у детей на 1–2-м году жизни [1, 2].

Первое место по частоте (30–45%) у детей занимают лимфомы брюшной полости с первичным поражением чаще всего илеоцекального отдела кишечника, мезентериальных и реже забрюшинных лимфатических узлов [1–4]. Заболевание длительное время может протекать бессимптомно, сопровождаться развитием асцита. Во многих случаях опухоль обнаруживается во время проведения экстренной операции по поводу кишечной непроходимости или при предположении наличия острого воспаления червеобразного отростка. При неходжкинских лимфомах с локализацией в брюшной полости примерно у 25% больных одновременно может обнаруживаться инфильтрация опухолевыми клетками костного мозга, а у 10% — поражение оболочек головного и спинного мозга [1, 4].

Нередко (у 25–35% пациентов) неходжкинские лимфомы локализуются в переднем средостении [1, 5]. В процесс вовлекаются лимфатические узлы и тимус — один из центральных органов лимфопоза. Опухоль может быть обнаружена случайно на начальном этапе при проведении рентгенографии. У многих же больных при поступлении в клинику отмечается компрессионный синдром и признаки дыхательной недостаточности, а при компьютерной томографии — наличие в средостении опухоли

значительных размеров. Почти у половины больных выявляют выпот в плевральной полости, реже в околосердечной сумке. При наличии у таких больных синдрома верхней полой вены и выраженных респираторных нарушений инвазивные диагностические исследования проводят после предлечения преднизолоном и циклофосфамидом и стабилизации общего состояния. Диагноз основывается на результатах исследования клеточного материала, полученного при трансторакальной тонкоигольной биопсии опухоли, цитоцентрифужных препаратов экссудативной жидкости и мазков костного мозга.

Первичное локальное или генерализованное поражение лимфатических узлов выявляют у 20% детей [1, 2]. В процесс чаще всего вовлекаются шейные, подчелюстные, надключичные лимфатические узлы, значительно реже — подмышечные и паховые [1, 2].

Четвертое место по частоте (у 10–15% пациентов) занимают поражения лимфоидной ткани глоточного (Вальдейерова) кольца [1, 2]. У некоторых детей, особенно младшего возраста, выявляют поражения кожи, мягких тканей с локализацией на волосистой части головы, передней стенке брюшной полости, костей, яичка, яичника, с одновременным распространением процесса на регионарные лимфатические узлы [4, 6].

Комплексная диагностика, играющая решающую роль в выборе адекватной программы терапии и проводимая в максимально короткие сроки до начала лечения, должна включать изучение гистологических препаратов с использованием современных классификаций, оценку цитоморфологических и цитохимических признаков клеток в отпечатках опухоли, иммунофенотипирование, при необходимости — проведение молекулярно-гене-

тического анализа, определение клинической стадии заболевания и прогноза.

Неходжкинские лимфомы у детей, как правило, возникают из клеток — предшественников Т- и В-лимфоцитов, отличаются диффузным характером роста (в 95% случаев), тенденцией к ранней диссеминации и лейкоемизации [1, 2, 5]. Все это определяет высокую степень злокачественности большинства лимфом в детском возрасте. Общепринятой гистологической классификации неходжкинских лимфом у детей, которая имела бы прогностическое значение и служила бы основой для рациональной терапии больных, пока не существует. В связи с этим до недавнего времени при установлении гистологического диагноза приходилось ориентироваться на наиболее известные классификации лимфоидных опухолей у взрослых (Кильскую и Рабочую классификацию). В соответствии с первой к группе высокозлокачественных были отнесены практически все диагностирующиеся у детей формы неходжкинских лимфом (лимфобластная типа Беркитта и другие лимфобластные; лимфобластная со скрученными, или конволютными, ядрами; лимфобластная неклассифицированная; иммунобластная; центробластная). В Рабочей классификации к категории опухолей с высокой степенью злокачественности были отнесены лимфома из малых клеток с нерасщепленным ядром, лимфобластная и крупноклеточная иммунобластная, а к группе новообразований с умеренной степенью злокачественности — диффузная крупноклеточная [1, 2, 5, 6].

Учитывая диффузный характер поражения и отнительно мономорфный клеточный состав неходжкинских лимфом у детей предпринимались попытки создания их цитологической классификации. Такой подход при наличии гистологического подтверждения диагноза и при использовании результатов цитохимических и иммуноцитологических исследований для установления происхождения и уровня дифференцировки патологических клеток, безусловно, можно считать вполне оправданным. Неходжкинским лимфомам у детей, в отличие от новообразований у взрослых, не свойственно большое цитологическое разнообразие [2, 3, 7]. Преобладающими у детей являются лимфома Беркитта спорадического типа (у 40–50%), лимфобластная лимфома (Т- и реже В-типа) (у 20–25%), крупноклеточная лимфома (у 10–15%) [2, 3, 6, 8]. Последняя группа представляется наиболее гетерогенной в гистогенетическом плане, так как включает анапластическую крупноклеточную лимфому Т- или нуль-типа, лимфому средостения (тимуса) из крупных В-клеток.

**Лимфома Беркитта.** Предполагается, что лимфома Беркитта возникает из трансформированных В-клеток зародышевых центров лимфоидных фолликулов. Это высокоагрессивная лимфома, характеризующаяся наличием экстранодальных очагов поражения и ранним поражением костного мозга. В последнем случае при выявлении в костном

мозге более 25% субстратных клеток можно говорить о В-клеточном остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ L3 по ФАБ-классификации) или, что равнозначно по смыслу, о лимфоме Беркитта в стадии лейкоемизации.

**Цитология и цитохимия.** Лимфома Беркитта в цитологических препаратах (мазках из тонкоигольных пунктатов или отпечатках опухоли), окрашенных по Паппенгейму или Романовскому — Гимзе, представлена мономорфной популяцией лимфоидных бластов среднего размера с интенсивно базофильной и вакуолизированной цитоплазмой. Ядра клеток овальной или округлой формы с достаточно грубой структурой хроматина. Ядрышки в клетках, как правило, не контурируются. Определяется много фигур митоза. Митотический индекс колеблется в пределах 10–35% [6, 9, 10]. Среди бластов разбросаны функционально активные макрофаги со светлой цитоплазмой, что создает при просмотре гистологических препаратов при малом увеличении микроскопа впечатление картины «звездного неба».

Следует упомянуть ряд синонимов лимфомы Беркитта, которыми обозначают опухоли этого типа в различных патогистологических и морфофункциональных классификациях: недифференцированная лимфома типа Беркитта — в классификации Rappaport; лимфома из малых клеток центров фолликулов с нерасщепленными ядрами — в схеме Lukes-Collins; из малых клеток с нерасщепленными ядрами, типа Беркитта — в Рабочей классификации; лимфома Беркитта — в REAL и ОЛЛ L3 — в ФАБ-классификации [10].

Большинство исследователей признает существование трех клинических разновидностей, или вариантов, лимфомы Беркитта: лимфома Беркитта эндемическая, выявляемая у детей (возрастной пик 4–7 лет) в Экваториальной Африке, Папуа и Новой Гвинее; лимфома Беркитта спорадического типа, доля которой составляет 1–2% всех лимфом в странах Западной Европы и США; лимфома Беркитта, ассоциированная с ВИЧ-инфекцией и развитием синдрома приобретенного иммунодефицита [10].

Основное внимание, естественно, должно быть уделено лимфоме Беркитта спорадического типа, диагностируемой у жителей Украины и других стран СНГ. Классические цитоморфологические признаки, описанные выше, сходны при всех разновидностях лимфом Беркитта. Наряду с этим в новой классификации ВОЗ выделены редкие морфологические варианты указанных опухолей: лимфома Беркитта с плазмочитоидной дифференцировкой и атипичная лимфома Беркитта (беркиттоподобная). Первый из них отмечается при иммунодефицитных состояниях, а для второго характерен больший полиморфизм размера и формы ядер патологических клеток, высокий митотический индекс и более высокая степень апоптоза [10].

Во время цитохимического исследования при выявлении активности кислой фосфатазы и кислой неспецифической эстеразы в опухолевых клетках отмечается слабая диффузная окраска. При PAS-реакции происходит слабое диффузное окрашивание цитоплазмы клеток. Результаты указанных цитохимических реакций могут быть использованы в практической работе для дифференциальной диагностики лимфомы Беркитта в стадии лейкемизации (В-ОЛЛ) и других цитологических вариантов ОЛЛ при наличии вакуолизации цитоплазмы бластов типа L1 или L2. В цитоплазме последних при PAS-реакции отмечается отложение конечных продуктов в виде крупных гранул и блоков.

**Иммунофенотип.** При иммуноцитохимическом исследовании лимфомы Беркитта спорадического типа на поверхностных мембранах клеток определяется экспрессия IgM с или без сопутствующей экспрессии IgD. Моноклональный характер пролиферации подтверждается преобладанием одного типа легких цепей Ig ( $\kappa$  или  $\lambda$ ) [6, 10, 11]. На поверхностных мембранах клеток экспрессируются ассоциированные с В-лимфоцитами антигены CD19, CD20, CD22, CD79a, а также иногда антигены CD10 и BCL6 [10–12]. Экспрессия двух последних антигенов свидетельствует о том, что клетки лимфомы возникают из клеток зародышевых центров лимфоидных фолликулов. На опухолевых клетках при лимфоме Беркитта не выявляют антигены CD5, CD23 и ядерный фермент терминальную дезоксирибонуклеотидилтрансферазу (TdT). Антиген CD21, служащий рецептором для ВЭБ и С3d, С3dg и iC3b компонентов комплемента, экспрессируется на клетках при эндемическом варианте лимфомы Беркитта и не определяется при лимфоме Беркитта спорадического типа [3]. Почти в 100% клеток определяют ядерный антиген пролиферирующих клеток Ki-67 [10, 11].

**Результаты цитогенетического и молекулярно-генетического анализа.** При лимфоме Беркитта в клетках обнаруживается клональная перестройка генов тяжелых и легких цепей Ig [12, 13]. Устойчивым постоянным признаком является транслокация гена MYC с участка q24 хромосомы 8 к региону тяжелой цепи Ig участка q32 хромосомы 14 — t(8;14). Менее часто отмечается транслокация локуса легкой цепи на 2q11 — t(2;8) или 22q11 — t(8;22) [8].

**Лимфобластная лимфома.** В соответствии с новой классификацией ВОЗ (2001) среди лимфобластных лимфом выделяют две основные группы опухолей, возникающих из В- и Т-клеток-предшественников. Крайне редко у детей диагностируют лимфомы, в основе развития которых лежит трансформация клеток-предшественников естественных киллеров (ЕК-клеток) [11].

В отличие от острых лимфобластных лейкозов, большинство (85–90%) лимфобластных лимфом у детей имеют иммунофенотипические признаки клеток Т-ряда. Лимфомы, возникающие из В-клеток-

предшественников, составляют не более 10% опухолей этого типа.

По цитоморфологическим признакам Т- и В-клеточные лимфобластные лимфомы у детей практически неразличимы. Т- и В-клеточные лимфомы у детей имеют диффузный характер роста и отличаются относительно мономорфным клеточным составом. В мазках из пунктатов или в отпечатках из опухолей обнаруживают бластные клетки лимфоидного типа округлой или овальной формы с узким ободком умеренно базофильной цитоплазмы, не содержащей зернистости. Ядерный хроматин мелкогранулярный или имеет более плотную структуру. В ядрах обнаруживают одно-два довольно крупных ядрышка. По диаметру клеток выделяют микрогенерации лимфобластов (8–12 мкм), сходные с клетками типа L1 при соответствующем варианте острого лимфобластного лейкоза (по ФАБ-классификации), и мезогенерации (диаметр 12–15 мкм), аналогичные клеткам типа L2. Частота этих двух цитологических вариантов составляет соответственно 18 и 43%. В препаратах у 39% детей выявляют оба типа клеток, но с преобладанием в отдельных случаях микролимфобластов или более крупных клеток.

**Лимфобластная лимфома Т-клеточного происхождения.** При этой категории опухолей первичный очаг поражения нередко локализуется в переднем средостении. У части больных при поступлении в клинику бласты в пунктатах костного мозга не обнаруживают или их содержание значительно ниже 25%. В случаях когда уровень бластных клеток в костном мозге превышает 25% и они содержатся в крови, предпочитают говорить о Т-клеточном лейкозе/лимфоме детского возраста.

Следует особо подчеркнуть необходимость и важность проведения стерильной пункции костного мозга у всех детей и больных молодого возраста с предположением наличия опухоли или опухолевидного образования в переднем средостении. Пренебрежение этой процедурой может привести к неблагоприятным последствиям. К сожалению, после хирургического удаления опухоли средостения (тимомы) у больных неоднократно отмечали лейкемизацию процесса, сопровождавшуюся появлением лимфоидных бластов в периферической крови.

Т-клеточные лимфобластные лимфомы с локализацией в брюшной полости выявляют редко. Чаще отмечается поражение различных групп периферических лимфатических узлов, иногда селезенки и печени [14].

В ходе цитохимического исследования Т-клеточных лимфобластных лимфом при выявлении активности кислой фосфатазы обнаруживают характерную реакцию с локализацией конечных продуктов в виде одной крупной гранулы или нескольких гранул в одной из участков цитоплазмы. В этом отношении Т-лимфобластные неходжкинские лимфомы не отличаются от соответствующих вариантов ОЛЛ. Реакция при определении активности кислой неспецифической

эстеразы при такой же топографии конечных продуктов в одних случаях слабая, а в других — умеренная, что, по нашим данным и наблюдениям других авторов, зависит от того, какой стадии дифференцировки нормальных Т-клеток-аналогов соответствует фенотип злокачественно трансформированных клеток. Активность дипептидиламинотрансферазы IV — выраженная в отличие от слабой или умеренной при цитологических вариантах Т-клеточного ОЛЛ [4]. Реакция на  $\beta$ -глюкуронидазу положительная, характер окраски напоминает таковую при выявлении активности кислой фосфатазы. В клетках Т- и В-лимфобластных лимфом, как и при других формах лимфоидных новообразований и ОЛЛ, не выявляется активность пероксидазы, нафтол-AS-D-хлорацетатэстеразы, щелочной фосфатазы и лейцинаминопептидазы. В части клеток при Т-клеточной лимфобластной лимфоме, как и при многих других формах лимфопролиферативных заболеваний, определяется гранулярная PAS-реакция.

В ходе **иммуноцитохимического исследования** в ядрах клеток при лимфобластных лимфомах Т-клеточного происхождения, как и при Т-ОЛЛ, выявляется TdT [5, 11]. Этот фермент, как известно, обнаруживается в клетках наименее дифференцированных опухолей, позволяя отличить их от других категорий злокачественных лимфом [5]. В клетках большинства Т-клеточных лимфобластных лимфом экспрессируются антигены CD7 и CD5 и считающийся Т-линейноспецифическим антиген CD3, обнаруживаемый в цитоплазме клеток [11]. На поверхностных мембранах клеток определяется варьирующая экспрессия антигенов CD1a, CD2. Часто на бластных клетках обнаруживается коэкспрессия антигенов CD4 и CD8. Изредка отмечается экспрессия одного или двух миелоидных антигенов (CD13, CD33) и редко — антигена CD117. Набор антигенов, экспрессируемых на клетках Т-лимфобластных лимфом, в основном соответствует иммунофенотипу их нормальных аналогов на промежуточных или поздних этапах внутритимической дифференцировки. В то же время на поверхностных мембранах бластов при про-Т- и пре-Т-ОЛЛ в большинстве случаев экспрессируются маркеры ранних тимоцитов и отсутствуют антигены CD1a, CD3, CD4 и CD8.

Четкие иммунофенотипические различия между вариантами Т-ОЛЛ из более дифференцированных бластов (кортикальных и зрелоклеточных) и Т-клеточными неходжкинскими лимфомами отсутствуют. Большее значение для разграничения Т-лимфобластных лимфом в стадии лейкемизации и Т-ОЛЛ имеет характер поражения костного мозга. В первом случае во время установления диагноза лимфоидные бласты в костном мозге могут не определяться или их содержание не превышает условной границы в 25%, во втором — уже в ранний период отмечается выраженная инфильтрация бластами (от 25 до 90% и более).

При **цитогенетическом исследовании** у части больных с Т-клеточной лимфобластной лимфомой вы-

являют транслокации генов Т-клеточного рецептора (*TCR*), особенно генов *TCR $\alpha$*  и *TCR $\delta$* , размещающихся на хромосоме 14q11.2, локуса *TCR $\beta$*  на 7q35 и *TCR $\gamma$*  на 7p14-15, с рядом генов-партнеров [8].

**Лимфобластная лимфома из В-клеток-предшественников.** При этом виде лимфоидных новообразований у детей первично поражается кожа (иногда отмечается наличие множественных очагов), кости и лимфатические узлы. Бластные клетки могут обнаруживаться в костном мозге, но их содержание не достигает 25% от общего числа миелокариоцитов, и в периферической крови [15]. В мазках из пунктатов и отпечатках удаленной при биопсии опухоли в одних случаях определяют лимфоидные бласты небольшого размера с узким ободком цитоплазмы, конденсированным хроматином ядра, нечетко различимыми нуклеолами. В других — более крупные клетки со светло-голубой цитоплазмой, овальным или округлой формы ядром с нежной структурой хроматина, в котором видны одно или несколько ядрышек. Довольно часто определяются фигуры митоза.

При **цитохимическом исследовании** в клетках лимфом из В-клеток-предшественников определяется слабая диффузная окраска при выявлении активности кислой фосфатазы и кислой неспецифической эстеразы, более часто, чем при Т-лимфобластном варианте, при PAS-реакции обнаруживается отложение крупных гранул конечного продукта в цитоплазме клеток.

При **иммунофенотипировании** (непрямой иммунофлуоресцентный метод, проточная цитофлуориметрия, иммуноферментный цитохимический анализ) в ядрах клеток выявляют TdT, на поверхностных мембранах клеток — антигены HLA-DR, CD19, в цитоплазме — CD79a. В большинстве случаев определяется варьирующая экспрессия антигенов CD20 и CD22. Иммуноглобулины на поверхностных мембранах клеток при лимфобластной лимфоме из В-клеток-предшественников, как правило, не выявляются. Иногда отмечается коэкспрессия миелоидных антигенов CD13 и CD33.

Четких **цитогенетических аномалий** при этом типе лимфом у детей, в отличие от цитологических вариантов ОЛЛ из разных категорий В-клеток-предшественников, не отмечается. Возможны транслокации типа t(1;19)(q23;p13.3), редко t(9;22)(q34;q11.2), имеющие неблагоприятное прогностическое значение, и некоторые другие [8].

**Лимфобластная лимфома из предшественников ЕК-клеток** относится к числу редко развивающихся у детей. Могут выявляться множественные очаги поражения (лимфатические узлы, кожа, мягкие ткани, костный мозг). При цитологическом исследовании отмечают мономорфную популяцию среднего размера лимфоидных клеток с нежной структурой ядерного хроматина. В цитоплазме клеток при окраске препаратов по Романовскому — Гимзе или Паппенгейму определяют азурофильные гранулы

[16]. При иммунофенотипировании на поверхностных мембранах опухолевых клеток обнаруживается экспрессия антигенов CD56 и CD4, в ряде случаев — антигена CD34 и TdT [30]. Клетки при этой форме неходжкинских лимфом не взаимодействуют с моноклональными антителами (мкАТ) к антигенам CD3, CD33 и миелопероксидазе. Лимфомы этого типа характеризуются агрессивным клиническим течением.

**Дифференциальный диагноз** Т-, ЕК- и В-клеточных лимфобластных лимфом проводится с соответствующими цитологическими вариантами ОЛЛ, с вариантами острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) с минимальными признаками дифференцировки бластных клеток (M0 и ОМЛ M1), с лимфомой Беркитта, с метастатическими поражениями костного мозга при часто развивающихся у детей опухолях из малых округлых клеток (нейробластома, саркома Юинга, эмбриональная рабдомиосаркома и т.д.).

**Анапластическая крупноклеточная лимфома**, представленная крупными полиморфными клетками с обширной, чаще светлой цитоплазмой и уродливыми ядрами, составляет 10–30% всех неходжкинских лимфом у детей и около 3% лимфоидных опухолей у взрослых [17, 18]. Эту форму лимфом ранее нередко объединяли с другими крупноклеточными опухолями из Т- и В-клеток с анапластическими признаками и экспрессией антигена CD30. В прежних классификационных схемах подобные опухоли выделялись как Т-иммунобластная саркома (классификация Lukes-Collins), крупноклеточная анапластическая лимфома (Кильская классификация), в Рабочей классификации эти новообразования входили в разные категории (диффузная крупноклеточная и иммунобластная), в REAL-классификации они были обозначены как анапластическая крупноклеточная лимфома (Т-/нуль-клеточного типа) [9].

Отличительным признаком лимфоидных новообразований этого типа является положительная реакция при выявлении белка ALK (киназы клеток анапластической лимфомы), но в эту категорию входят и редкие варианты лимфом, клетки которых не экспрессируют указанный белок.

При первично системной анапластической лимфоме в процесс вовлекаются лимфатические узлы и другие ткани. Наиболее часто экстранодальные очаги поражения выявляют в коже, костях, мягких тканях (15–20%), легких и печени (8–10%) [19, 20]. Поражение органов желудочно-кишечного тракта и ЦНС отмечается редко. Значительно реже, чем при нодулярном варианте лимфомы Ходжкина, в процесс вовлекаются лимфатические узлы переднего средостения. При тщательном исследовании мазков из пунктата костного мозга могут выявляться изолированные крупные лимфоидные клетки. При исследовании трепанобиоптатов костного мозга при использовании рутинных методов окраски частота его поражения не превышает 10%. Значительно чаще небольшие очаги инфильтрации, состоящие

из нескольких клеток, обнаруживаются при иммуногистохимическом исследовании с применением моноклональных антител к антигену CD30, ALK и антигену эпителиальных мембран (ЕМА) [21]. Большинство больных поступают в клинику с III–IV стадией заболевания и генерализацией процесса (поражение различных групп лимфатических узлов, в том числе и брюшной полости, костного мозга, наличие экстранодальных инфильтратов).

**Цитоморфология и цитохимия.** Анапластическая крупноклеточная лимфома, как уже упоминалось, представлена крупными бластными клетками с эксцентрично расположенными ядрами, нередко подковообразной формы, содержащими многочисленные ядрышки. Цитоплазма клеток при исследовании гистологических срезов может быть светлой, базофильной или слегка эозинофильной. В составе опухоли могут обнаруживаться многоядерные клетки, напоминающие клетки Березовского — Штернберга при лимфогранулематозе. Клетки лимфомы растут в виде пластов, заполняя синусы лимфатических узлов и инфильтрируя паракортикальную зону. Нередко по характеру роста анапластическая крупноклеточная лимфома имитирует метастатическое поражение лимфатических узлов. Помимо преобладающего классического варианта с крупными анаплазированными клетками, выделяют более редкие — лимфогистиоцитарный, при котором опухолевые клетки образуют своеобразные кластеры вокруг сосудов, содержащие значительное количество гистиоцитов, иногда с признаками эритрофагоцитоза, и вариант, представленный малыми или среднего размера клетками, при использовании обычных методов нередко диагностируемый как периферическая Т-клеточная лимфома.

При **цитохимическом исследовании** в клетках анапластической крупноклеточной лимфомы обнаруживается положительная реакция при определении кислой фосфатазы, неспецифической  $\alpha$ -нафтилацетатэстеразы и кислой неспецифической эстеразы. Однако интенсивность реакции не является столь выраженной, как в гистиоцитах/макрофагах. Окрашенные конечные продукты откладываются преимущественно в перинуклеарной зоне. При PAS-реакции в цитологических препаратах отмечается слабое диффузное окрашивание цитоплазмы опухолевых клеток.

При **иммуноцитохимическом исследовании** на поверхностных мембранах и в цитоплазме (зоне пластинчатого комплекса) опухолевых клеток определяется экспрессия антигена CD30. Наиболее выраженная реакция отмечается в крупных бластных клетках [22]. Это касается всех цитологических вариантов анапластической крупноклеточной лимфомы [22]. Экспрессия белка ALK обнаруживается у 60–85% больных с данным типом лимфом. При выявлении ALK отмечается окрашивание цитоплазмы или ядра опухолевых клеток. Ядро и структуры цитоплазмы одновременно окрашиваются при на-

личии транслокации t(2;5)/NPM-ALK. Это является следствием слияния участка трансмембранного белка ALK с ядерным транспортным белком нуклеофосмином (NPM). Следует отметить, что экспрессия белка ALK, по-видимому, является специфической для клеток крупноклеточной анапластической лимфомы. В постнатальный период в норме она не обнаруживается в клетках всех изученных тканей, за исключением редких клеток головного мозга. Белок ALK отсутствует также в клетках большинства опухолей человека. Исключения составляют редкие случаи диффузных В-крупноклеточных лимфом с цитоморфологическими признаками иммунобластных/плазмобластных, в цитоплазме которых содержится IgA [23], и новообразования типа рабдомиосаркомы [24]. Клетки крупноклеточных анапластических лимфом в большинстве случаев взаимодействуют с мкАТ к антигену ЕМА. На большинстве клеток экспрессируются один или несколько Т-клеточных антигенов [22]. Наиболее часто положительная реакция отмечается при выявлении антигенов CD2 и CD4. Реакция с мкАТ к антигену CD8, как правило, отрицательная. В опухолевых клетках лишь у 25% больных определяется экспрессия пан-Т-клеточного антигена CD3 [22]. Реакция при выявлении антигенов CD5 и CD7 в большинстве случаев отрицательная. В опухолевых клетках при анапластической крупноклеточной лимфоме определяются антигены CD45 и CD45RO, CD25 (в замороженных срезах) [23], связанные с цитотоксичностью антигены TIA-1, гранзим В и перфорин [25].

**Результаты цитогенетических и молекулярно-генетических исследований.** Почти в 90% крупноклеточных анапластических лимфом обнаруживается клональная перестройка генов Т-клеточного рецептора независимо от того, экспрессируются или не выявляются в них Т-клеточные антигены [25]. Последовательности ВЭВ в геноме клеток не определяются, что позволяет проводить дифференциальную диагностику анапластических крупноклеточных лимфом и CD30-положительных, экспрессирующих антигены ВЭВ В-клеточных лимфом [26].

Наиболее часто при анапластических крупноклеточных лимфомах выявляется транслокация t(2;5)(p23;q35) между геном *ALK* на хромосоме 2 и геном *NPM* на хромосоме 5 [26–28]. У некоторых больных с ALK-положительными анапластическими крупноклеточными лимфомами определяется транслокация t(1;2)(q25;p23) с вовлечением гена *TPM3* на хромосоме 1, сопровождающаяся экспрессией белка TPM3-ALK с молекулярной массой 104 кД. В клетках анапластических крупноклеточных лимфом, помимо этого, обнаруживаются и другие цитогенетические аномалии — t(2;3)(p23;q35) и inv (2)(p23;q35) [29].

Гистогенетическая неоднородность лимфом, связанные с этим особенности клинического течения и прогноза обуславливают важность уточненной диагностики различных форм этой группы опухолей

с использованием цитохимических методов, иммунофенотипирования и молекулярно-генетического анализа. Следует согласиться с мнением ряда исследователей [3, 30] о важной роли верификации цитологических вариантов неходжкинских лимфом у детей для повышения эффективности терапии по современным протоколам.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Киселев АВ, Махонина ЛА, Петерсон ИС, Гордина ГА. Неходжкинские лимфомы. В: Злокачественные новообразования кроветворной и лимфоидной ткани у детей. М: Медицина, 2001: 187–203.
2. Patte C. Non-Hodgkin's lymphoma. In: Paediatric oncology. Clinical practice and controversies. London etc: Chapman and Hall Medical 1997. 278.
3. Самочатова ЕВ, Островская АВ, Карачунский АИ и др. Значение верификации варианта неходжкинских лимфом у детей для эффективности лечения по современным протоколам. Гематол трансфузиол 2000; 45 (5): 9–14.
4. Pinkerton CR. Non-Hodgkin's lymphoma. In: Clinical challenges in paediatric oncology. Oxford: Isis Medical Media Ltd 1999. 43.
5. Magrath J. Malignant non-Hodgkin's lymphomas in children. In: Principles and practice of pediatric oncology, 2<sup>nd</sup> ed. Ed by PA Pizzo, DG Poplack 1992. 537.
6. Глузман ДФ, Скляренко ЛМ, Надгорная ВА, Климоник ГИ. Иммуноцитохимическая диагностика опухолей кроветворной и лимфоидной ткани у детей. К: ДИА, 2005. 200 с.
7. Петерсон ИС. Цитологические варианты лимфосаркомы у детей. Гематол трансфузиол 1986; 31 (1): 29–33.
8. Cullinane CJ, Burchill SA, Squire JA, et al. Molecular biology and pathology of paediatric cancer. Oxford: Univ Press 2003. 332 p.
9. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from International Lymphoma Study Group. Blood 1994; 84: 1361–92.
10. Diebold J, Jaffe ES, Raphael M, Warnke RA. Burkitt lymphoma. In: Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Ed by ES Jaffe, NL Harris, H Stein, JW Vardiman. Lyon: IARC Press 2001: 181–4.
11. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press 2001. 352 p.
12. Klein E, Klein G, Ehlin-Henriksson B, et al. Burkitt's lymphoma is a malignancy of mature B cells expressing mutated V region genes. Mol Med 1995; 1: 495–505.
13. Kees UR. Gene expression signatures in lymphoid tumours. Immunol Cell Biol 2004; 82: 154–60.
14. Saha V, Eden OB, Hann I, et al. Primary extrathoracic T-cell non-Hodgkin's lymphoma of childhood. Leukemia 1995; 9: 40–3.
15. Lin P, Jones D, Dorfman DM, Medeiros LJ. Precursor B-cell lymphoblastic lymphoma: a predominantly extranodal tumor with low propensity for leukemic involvement. Am J Surg Pathol 2000; 24: 1480–90.
16. Liu XY, Atkins RC, Feusner JH, Rowland YM. Blastic NK-cell-like lymphoma with T-cell receptor gene rearrangement. Am J Hematol 2004; 75: 251–3.
17. Williams DM, Hobson R, Imeson J, et al. Anaplastic large cell lymphoma in childhood: analysis of 72 patients treated on The United Kingdom Children's Cancer Study Group chemotherapy regimens. Br J Haematol 2002; 117: 812–20.
18. Cairo MS, Sposto R, Hoover-Regan M, et al. Childhood and adolescent large cell lymphoma (LCL): a reviews of the Children's Cancer Group experience. Br J Haematol 2003; 72: 53–63.

19. **Brugieres L, Deley MC, Pacquement H, et al.** CD30 (+) anaplastic large cell lymphoma in children: analysis of 82 patients enrolled in two consecutive studies of the French Society of Pediatric Oncology. *Blood* 1998; **92**: 3591–8.

20. **Alessandri AJ, Pritchard SL, Schultz KR, Massing BG.** A population-based study of pediatric anaplastic large cell lymphoma. *Cancer* 2002; **94**: 1830–5.

21. **Fraga M, Brousset P, Schlaifer D, et al.** Bone marrow involvement in anaplastic large cell lymphoma. Immunohistochemical detection of minimal disease and its prognostic significance. *Am J Clin Pathol* 1995; **103**: 82–9.

22. **Benharroch D, Meguerian-Bedoyan Z, Lamant L, et al.** ALK-positive lymphoma: a single disease with a broad spectrum of morphology. *Blood* 1998; **91**: 2076–84.

23. **Delsol G, Lamant L, Mariame B, et al.** A new subtype of large B-cell lymphoma expressing the ALK kinase and lacking the 2; 5 translocation. *Blood* 1997; **89**: 1483–90.

24. **Falini B, Bigerna B, Fizzotti M, et al.** ALK expression defines a distinct group of T/null lymphomas («ALK lymphomas») with a wide morphological spectrum. *Am J Pathol* 1998; **153**: 875–86.

25. **Foss HD, Anagnostopoulos I, Araujo I, et al.** Anaplastic large cell lymphomas of T-cell and null-phenotype express cytotoxic molecules. *Blood* 1996; **88**: 4005–11.

26. **Morris SW, Xue L, Ma Z, Kinney MC.** ALK<sup>+</sup>CD30<sup>+</sup> lymphomas: a distinct molecular genetic subtype of non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 2001; **113** (2): 275–81.

27. **Mason DY, Bastard C, Rimokh R, et al.** CD30-positive large cell lymphomas («Ki-1 lymphoma») are associated with a chromosomal translocation involving 5q35. *Br J Hematol* 1990; **74**: 161–8.

28. **Onciu M, Behm FG, Downing JR, et al.** ALK-positive plasmablastic B-cell lymphoma with expression of the NPM-ALK fusion transcript: report of 2 cases. *Blood* 2003; **102**: 2642–4.

29. **Trinei M, Lanfrancone L, Campo E, et al.** A new variant neoplastic lymphoma kinase (ALK)-fusion protein (ATIC-ALK) in a case of ALK-positive anaplastic large cell lymphoma. *Cancer Res* 2000; **60**: 793–8.

30. **Reiter A, Schrappe M, Parwaresch R, et al.** Non-Hodgkin's lymphoma of childhood and adolescence: results of treatment stratified for biologic subtypes and stage. A report of Berlin-Frankfurt-Munster Group. *J Clin Oncol* 1995; **13**: 359–72.

## CYTOLOGICAL VARIANTS OF NON-HODGKIN LYMPHOMAS IN CHILDREN

*D.F. Gluzman, V.A. Nadgornaya, L.M. Sklyarenko, S.V. Koval, T.S. Ivanovskaya, L.Y. Poludnenko, O.V. Balitskaya, G.I. Klimnyuk*

**Summary.** *In order to define the origin of malignant lymphomas, the diagnostics need to be extended to include data of cytomorphologic, cytochemical, and immunophenotype analysis. This is an essential basis on which an optimum treatment strategy can be established for every child.*

**Key Words:** malignant lymphoma, immunocytochemistry, monoclonal antibodies.

### Адрес для переписки:

Глузман Д.Ф.

03022, Киев, ул. Васильковская, 45

Институт экспериментальной патологии,

онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого

НАН Украины, отдел иммуноцитохимии