

Д.Ф. Глузман, д.м.н. профессор, Л.М. Склярченко, д.м.н., С.В. Коваль, к.б.н., Т.С. Ивановская, Н.И. Украинская, Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, г. Киев

# Принципы современной диагностики лимфоидных новообразований

Продолжение. Начало в № 1/2012.

После надлежащей апробации и внесения необходимых уточнений классификация REAL была включена в качестве одного из основных разделов в новую классификацию опухолевых заболеваний кроветворной и лимфоидной тканей ВОЗ, которая включает также миелоидные, гистиоцитарные новообразования и опухоли, возникающие из тучных клеток. В создании этой классификации принимали участие более 50 ведущих специалистов, представлявших Общество гематопатологов США и Европейскую ассоциацию гематопатологов, работавших в течение 7 лет в составе 10 комитетов. Оценка полезности классификации для практического применения проводилась 40 экспертами-патологами и онкогематологами из ряда стран, входившими в состав Клинического контрольного комитета. Основная задача классификации ВОЗ состояла в том, что в ней должны были быть заложены стандарты для распознавания патологами нозологических форм и вариантов опухолей, которые имели бы клиническую значимость. В большинстве типичных случаев лимфом диагноз может быть установлен опытным патологом, знающим основы и принципы классификации REAL и ВОЗ, на основе изучения гистологических срезов при использовании рутинных методов окраски. Иммуногистохимическое исследование оказывает помощь, когда диагностика серьезно затруднена, например, когда возникает необходимость отличить доброкачественные лимфоидные инфильтраты (при реактивной гиперплазии лимфатических узлов) от часто встречающихся фолликулярных лимфом. Так, реактивные фолликулы содержат клетки с высокой пролиферативной активностью (при окрашивании МкАТ Ki-67), не экспрессирующие bcl-2. Клетки фолликулярных лимфом, напротив, являются bcl-2-положительными и характеризуются низким индексом пролиферации. Иммуноморфологические исследования с использованием МкАТ к различным гистогенетическим маркерам (линейно-специфическим и дифференцировочным антигенам лимфоцитов, белкам цитоскелета, онкофетальным, ткане- и органоспецифическим антигенам и др.) дают также возможность дифференцировать лимфоидные и нелимфоидные новообразования (рак, меланому, саркому, герминогенные опухоли) и метастатические поражения лимфатических узлов; проводить более точную субклассификацию неходжкинских лимфом. В частности, на этой основе осуществляют выделение Т/ЕК- и В-клеточных лимфом, новообразований гистиоцитарной природы, возникающих из дендритных клеток; разграничение лимфоидных лимфом, возникающих из лимфоидных клеток-предшественников и новообразований из зрелых (периферических) Т- и В-лимфоцитов; уточненную дифференциальную диагностику лимфом из малых В-лимфоцитов (из клеток зародышевых центров лимфоидных фолликулов, клеток мантийной и маргинальной зоны) и т. д.

Классификация ВОЗ (2001) включала более 20 типов лимфоидных новообразований, среди которых выделяли В-клеточные опухоли; возникающие из Т-лимфоцитов и ЕК-клеток; различные гистологические варианты лимфомы Ходжкина. В- и Т/ЕК-клеточные новообразования

подразделялись на возникающие из клеток-предшественников (острые лимфобластные лейкозы и лимфобластные лимфомы) и зрелых В- и Т-лимфоцитов. Среди последних с учетом основных клинических проявлений выделяли следующие: с преимущественным поражением лимфатических узлов, первично экстранодальные и диссеминированные лейкоемические.

Классификация была издана под эгидой Международного агентства по изучению рака (IARC Press, Lyon, 2001) в виде отдельной книги Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues под редакцией E.S. Jaffe, N.L. Harris, H. Stein, J.W. Vardiman, которая сразу же стала настольной для широкого круга патологов, клиницистов и научных работников, занимающихся изучением лимфом.

Наиболее распространенными нозологическими формами лимфоидных опухолей у взрослых являются диффузная лимфома из крупных В-клеток и фолликулярная лимфома, на долю которых в совокупности приходится около 60% случаев.

Частота основных форм злокачественных лимфом Т- и В-клеточного происхождения приведена в таблице 2. У детей преобладают агрессивные формы лимфоидных опухолей: лимфобластная лимфома (35% случаев), лимфома Беркитта спорадического типа (40% случаев), крупноклеточная лимфома (20% случаев).

При достаточном опыте и использовании критериев, указанных в классификациях REAL и ВОЗ, совпадение диагнозов при оценке препаратов различными патологами составляло около 85%. Необходимым условием является высокое качество гистологических препаратов: оптимальная фиксация и дегидратация, толщина срезов 2-5 мкм, хорошая окраска по Пимзе. Лишь при трех типах лимфом (беркиттоподобной, лимфоплазмочитарной и В-клеточной лимфоме маргинальной зоны) воспроизводимость диагностических заключений не превышает 53-63%.

При выделении тех или иных нозологических форм при поражении лимфатических узлов или экстранодальных злокачественных лимфомах необходимо установление характера пролиферации — нодулярной или диффузной — и определение размера клеток. Клетки лимфом могут быть малыми, среднего размера и крупными. В гистологических срезах крупными считаются клетки, диаметр ядер которых в 2-3 раза превышает таковой лимфоцитов. В клетках среднего размера ядра по диаметру сопоставимы с ядрами макрофагов. Учитываются цитоморфологические признаки клеток: размер и форма ядра, структура хроматина (в виде темных блоков или светлой дисперсной окраски), величина и количество ядрышек, размер, форма и окраска цитоплазмы.

Изучение иммунофенотипа важно для дифференциации В- и Т-клеточных лимфом и имеет прогностическое значение, так как последние почти всегда имеют неблагоприятное клиническое течение. Иммунофенотипирование иногда очень важно для более точной идентификации некоторых подтипов и вариантов опухолей, например возникающих из Т/ЕК-клеток или малых лимфоцитов. Знание характера пролиферации, морфологии и иммунофенотипических особенностей во многих случаях позволяет уточнить гистогенез новообразования.

Для уточнения диагноза и выбора оптимальной стратегии терапии в качестве

дополнительных критериев могут быть использованы результаты цитогенетических исследований (табл. 3).

Выделенные в классификациях REAL и ВОЗ типы лимфом имеют биологические и клинико-патологические особенности. Среди них опухоли, для которых характерно вялое, агрессивное и высокоагрессивное течение. В соответствии с рекомендациями авторов классификации ВОЗ прогноз при отдельных нозологических формах неходжкинских злокачественных лимфом определяется с учетом одного из четырех типов кривых 5-летней выживаемости больных, подвергшихся терапии с использованием стандартных программ. Согласно данным Armitage и соавт., к группе с наилучшим прогнозом, в которой 5-летняя выживаемость составляет более 70% случаев, должны быть отнесены более с фолликулярной, анапластической крупноклеточной и лимфомой MALT-типа; ко второй группе (5-летняя выживаемость — 50-70% случаев) — пациенты со злокачественными лимфомами из малых лимфоцитов, лимфоплазмочитарными опухолями из клеток маргинальной зоны. К злокачественным лимфомам, при которых 5-летняя выживаемость колеблется в пределах 30-50%, относятся лимфома Беркитта и В-крупноклеточная. В группу с худшим прогнозом входят лимфомы из клеток мантийной зоны, Т-лимфобластная и из зрелых (периферических) Т-клеток.

## Опухоли из зрелых В-, Т- и ЕК-клеток, представленные в классификации ВОЗ (2008)

Работа над усовершенствованием классификации ВОЗ продолжалась. Опубликованная в сентябре 2008 г. новая классификация лимфоидных новообразований ВОЗ, в создании которой принимали участие более 130 исследователей из 22 стран, базируется на достигнутых ранее результатах и одновременно содержит новые положения, открывающие пути к лучшему определению гетерогенных или неясных нозологических форм. Некоторые изменения касаются введения временных (предварительных) пограничных категорий; распознавания небольших клонов лимфоидных популяций; идентификации заболеваний, характеризующихся поражением специфических анатомических зон или другими клиническими признаками, включая возраст. Необходим поиск патогистологических прогностических факторов при наиболее часто встречающихся заболеваниях, таких как фолликулярная лимфома, диффузная В-крупноклеточная лимфома, периферическая Т-клеточная лимфома.

В последние годы уделялось большое внимание вопросам частичного сходства морфологических и иммунофенотипических признаков классической лимфомы Ходжкина и некоторых В-крупноклеточных неходжкинских лимфом (первичной медиастинальной В-крупноклеточной лимфомы и гистологического варианта нодулярного склероза с поражением средостения классической лимфомой Ходжкина). Оба заболевания с поражением средостения встречаются у пациентов в молодом возрасте и имеют сходные профили экспрессии ряда генов. Новая классификация ВОЗ 2008 г. включает временную категорию В-клеточных опухолей с признаками, промежуточными между диффузной В-крупноклеточной лимфомой и болезнью Ходжкина. Эти опухоли встречаются преимущественно у молодых мужчин и,



Д.Ф. Глузман

вероятно, являются более агрессивными, чем первичная В-крупноклеточная лимфома средостения или вариант нодулярного склероза при классической лимфоме Ходжкина.

К категории пограничных отнесена также В-клеточная лимфома неклассифицируемая, с признаками, которые являются промежуточными между лимфомой Беркитта и диффузной В-крупноклеточной лимфомой. В клетках лимфом этого типа, характеризующихся агрессивным клиническим течением, определяются транслокации генов С-МУС и BCL2.

В лимфоидной ткани не существует «доброкачественных опухолей». Ранние признаки лимфомогенеза трудно выявить. Возможно, это связано с функциональными особенностями лимфоидных клеток, способных к рециркуляции и обладающих «эффектом дома».

В классификации ВОЗ 2008 г. затрагивается тема клональной экспансии В-клеток и в меньшей степени Т-клеток и связанных с этим клинических проявлений. Например, почти у 70% взрослых людей в крови обнаруживается клон циркулирующих В-клеток памяти с t(14;18)(q32;q21), но эти клетки не имеют других генетических аберраций, необходимых для развития опухолевого процесса. У 3-5% здоровых взрослых людей и более чем у 10% лиц с лимфоцитозом в крови обнаруживается моноклональная популяция В-клеток с иммунофенотипом и генетическими аномалиями, характерными для клеток при хроническом лимфолейкозе (так называемый моноклональный В-лимфоцитоз). Но в этих случаях очень редко наблюдается развитие лейкоза. Имеются также сообщения о наличии у детей реактивной гиперплазии лимфоидных фолликулов, при которой в зародышевых центрах содержится клональная популяция CD10+ В-клеток, но при этом не происходит прогрессирование процесса с переходом в лимфому. Низкий риск прогрессирования отмечается также при лимфомах маргинальной зоны у детей, при опухолях с клональной пролиферацией Т-клеток (лимфоматоидном папулезе, системном CD30+ лимфолипролиферативном процессе с поражением кожи).

В классификации ВОЗ 2008 г. также подчеркивается важность учета анатомической локализации опухоли. Помимо MALT-лимфом, первичных В-крупноклеточных лимфом средостения, лимфом кожи, в качестве отдельных форм рассматриваются лимфомы центральной нервной системы и другие экстранодальные лимфоидные новообразования.

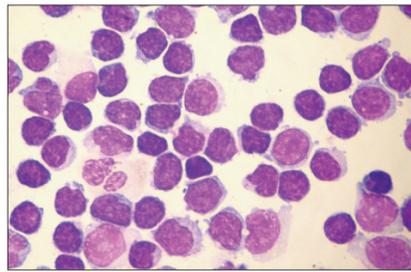
Возраст также является важным фактором при определении природы опухоли. Описаны встречающиеся у детей локализованные лимфома маргинальной зоны и фолликулярная лимфома, имеющие благоприятный прогноз. По патогенезу они отличаются от морфологически сходных лимфом у взрослых. Так, в клетках фолликулярных лимфом у детей не обнаруживается транслокация t(14;18)(q32;q21) и не экспрессируется белок BCL2. Другие лимфомы, например, EBV+ диффузная В-крупноклеточная лимфома, напротив, чаще диагностируются у людей пожилого возраста.

Много внимания уделялось поиску патогистологических признаков, которые могли бы использоваться в качестве прогностических и определяющих реакцию на терапию при двух наиболее частых формах лимфом – фолликулярной и диффузной В-крупноклеточной. При фолликулярных лимфомах с учетом процентного содержания центробластов традиционно выделялись опухоли с 1, 2 и 3 степенью злокачественности. В соответствии с классификацией ВОЗ 2008 г. предлагается объединить новообразования 1 и 2 степени злокачественности в одну группу – лимфом с низкой степенью (low grade) злокачественности. Среди фолликулярных лимфом 3 степени злокачественности с учетом наличия или отсутствия резидуальных центроцитов выделяют два подтипа (3А и 3В), между которыми рядом исследователей установлены биологические отличия. Во многих случаях фолликулярные лимфомы подтипа 3В, как показано при молекулярно-генетических исследованиях, тесно связаны с диффузными В-крупноклеточными лимфомами. После выделения специфических новых подтипов диффузных В-крупноклеточных лимфом все еще остается достаточно большая группа опухолей этого типа, при которых одних только морфологических признаков недостаточно для установления возможного прогноза и реакции на терапию. Большие надежды возлагаются на поиск дополнительных иммунофенотипических или цитогенетических маркеров.

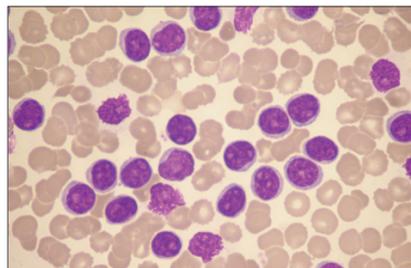
Авторы классификации ВОЗ 2008 г. обращают внимание патологов и врачей-онкогематологов на полученные в последнее время новые данные по установлению линейной пластичности гемопоэтических клеток и возникающих из них новообразований. В нормальных В-клетках нарушения в обратной регуляции, происходящие при участии регуляторного фактора PAX-5, могут приводить к репрограммированию незрелых и зрелых В-клеток в моноциты и даже Т-клетки. Описаны лимфоидные новообразования Т- и В-клеточного типа, при которых развивались клонально связанные с ними гистиоцитарные опухоли. Сообщено о подобном феномене при фолликулярных лимфомах. В ряде случаев у детей при рецидиве мы наблюдали трансформацию острого лимфобластного лейкоза из В-клеток-предшественников в острый монобластный лейкоз. Эти данные свидетельствуют о необходимости осторожнее подходить к интерпретации значения реаранжировки генов рецепторов антигенов в установлении линейного происхождения клеток новообразований.

**Классификация ВОЗ (2008) опухолей из зрелых В-, Т- и ЕК-клеток**  
**Опухоли из зрелых В-клеток**

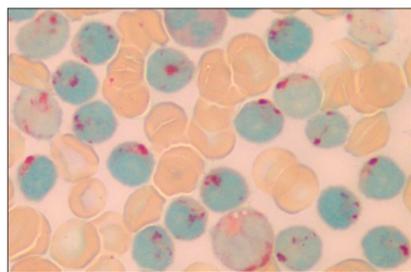
- Хронический лимфолейкоз / лимфома из малых лимфоцитов
- В-клеточный пролимфоцитарный лейкоз
- Лимфома маргинальной зоны селезенки (рис. 1)
- Волосатоклеточный лейкоз
- Селезеночная лимфома / лейкоз, неклассифицируемая\*
- Диффузная лимфома красной пульпы селезенки из малых В-клеток\*
- Волосатоклеточный лейкоз, вариант\*
- Лимфома маргинальной зоны селезенки
- Макроглобулинемия Вальденстрема
- Болезни тяжелых цепей
  - Болезнь α-тяжелых цепей
  - Болезнь γ-тяжелых цепей
  - Болезнь μ-тяжелых цепей
- Плазмноклеточная миелома
- Солитарная плазмцитомы кости
- Внекостная плазмцитомы
- Экстранодальная лимфома из клеток маргинальной зоны лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой оболочкой (MALT-лимфома)
- Лимфома маргинальной зоны лимфатических узлов



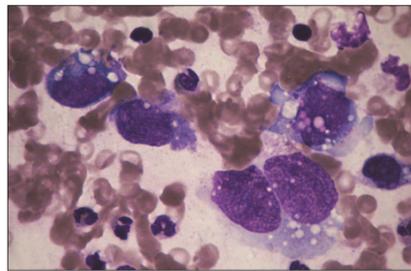
**Рис. 1. Морфология клеток при лимфоме маргинальной зоны селезенки в цитоцентрифужных препаратах из периферической крови**



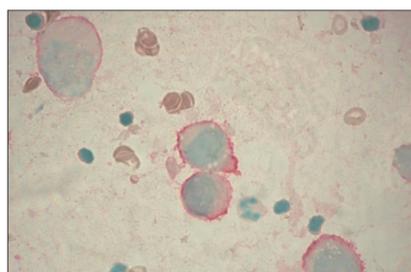
**Рис. 2. Морфология клеток при Т-пролимфоцитарном лейкозе**



**Рис. 3. Активность кислой фосфатазы в пролимфоцитах при Т-пролимфоцитарном лейкозе**



**Рис. 4. Крупные клетки в костном мозге при анапластической крупноклеточной лимфоме, ALK-положительной**



**Рис. 5. Иммуноцитохимическая реакция анапластических клеток при выявлении антигена CD20**

- Лимфома маргинальной зоны лимфатических узлов детского возраста
- Фолликулярная лимфома
- Фолликулярная лимфома детского возраста\*
- Первичная кожная лимфома из клеток центров фолликулов
- Лимфома из клеток мантийной зоны
- Диффузная В-крупноклеточная лимфома, неспецифицированная иным образом
  - В-крупноклеточная лимфома, богатая Т-клетками/гистиоцитами
  - Первичная диффузная В-крупноклеточная лимфома ЦНС
  - Первичная кожная диффузная В-крупноклеточная лимфома нижних конечностей
  - EBV+ диффузная В-крупноклеточная лимфома пожилых\*

\* Условные (предварительные) нозологические формы, для распознавания которых в качестве отдельных заболеваний, по мнению рабочей группы ВОЗ, данных пока недостаточно.

\*\* Эти поражения классифицируются согласно тем формам лейкозов и лимфом, которым они соответствуют.

Вид лимфомы	Частота, %
<b>В-клеточные лимфомы</b>	85
Фолликулярная лимфома	35
Диффузная лимфома из крупных В-клеток	30
Мантийноклеточная лимфома	5
В-ХЛЛ / лимфома из малых лимфоцитов	5
Лимфома маргинальной зоны	1-2
Лимфома маргинальной зоны	1-2
Другие	Менее 10
<b>Т-клеточные лимфомы</b>	15
Периферическая Т-клеточная лимфома	5
Анапластическая крупноклеточная лимфома	5
Ангиоиммуобластная лимфома	2
Другие	Менее 3

Нозологическая форма	Специфические транслокации хромосом	Онкогены и гены-супрессоры
Фолликулярная лимфома	t(14;18)(q32;q21)	BCL2
Лимфома Беркитта	t(8;14)(q24;q32) t(2;8)(p12;q24)	C-MYC
Диффузная лимфома из крупных В-клеток	Транслокация с вовлечением 3q27	BCL6
Лимфома Беркитта	t(1;14)(p32-34;q11)	TAL1
Анапластическая крупноклеточная лимфома первично системного типа	t(2;5)(p23;q35) Варианты транслокаций с вовлечением 2p23, в т.ч. t(1;2), t(2;3) inv(2)(p23;q35)	NPM, ALK ALK и другие гены-партнеры

- Диффузная В-крупноклеточная лимфома, ассоциированная с хроническим воспалением
- Лимфоматоидный гранулематоз
- Первичная В-крупноклеточная лимфома средостения (тимуса)
- Внутрисосудистая В-крупноклеточная лимфома
- ALK+ В-крупноклеточная лимфома
- Плазмобластная лимфома
- В-крупноклеточная лимфома, возникающая при ассоциированной с HHV-8 мультицентрической болезни Кастанеллана
- Первичная лимфома экссудатов
- Лимфома Беркитта
- В-клеточная лимфома неклассифицируемая, с признаками, которые являются промежуточными между диффузной В-крупноклеточной лимфомой и лимфомой Беркитта
- В-клеточная лимфома неклассифицируемая, с признаками, которые являются промежуточными между В-крупноклеточной лимфомой и классической лимфомой Ходжкина.

**Опухоли из зрелых Т-клеток и ЕК-клеток**

- Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз (рис. 2, 3)
- Лимфоцитарный лейкоз из больших гранулосодержащих Т-клеток
- Хронический лимфолифферативный процесс из ЕК\*
- Агрессивный ЕК-клеточный лейкоз
- Системное EBV+ Т-клеточное лимфолифферативное заболевание детского возраста
- Лимфома с водянистыми везикулами, напоминающими везикулы при коревой оспе
- Т-клеточный лейкоз / лимфома взрослых
- Экстранодальная ЕК-/Т-клеточная лимфома, назальный тип
- Т-клеточная лимфома, ассоциированная с энтеропатией
- Гепатоспленическая Т-клеточная лимфома
- Подкожная панникулитоподобная Т-клеточная лимфома
- Грибовидный микоз

- Синдром Сезари
- Первичные кожные CD30+ Т-клеточные лимфолифферативные заболевания – Лимфоматоидный папулез – Первичная кожная анапластическая крупноклеточная лимфома (рис. 4, 5)
- Первичная кожная γ/δ Т-клеточная лимфома
- Первичная кожная агрессивная эпидермотропная лимфома из цитотоксических CD8+ Т-клеток
- Первичная кожная лимфома из малых/средних CD4+ Т-клеток
- Периферическая Т-клеточная лимфома, неспецифицированная иным образом
- Ангиоиммуобластная Т-клеточная лимфома
- Анапластическая крупноклеточная лимфома, ALK+
- Анапластическая крупноклеточная лимфома, ALK-

**Лимфома Ходжкина**

- Нодулярная лимфома с преобладанием лимфоцитов
- Классическая лимфома Ходжкина (гистологические варианты)
  - Нодулярный склероз
  - Богатая лимфоцитами
  - Смешанноклеточная
  - Лимфоидное истощение.

**Лимфолифферативные заболевания, ассоциированные с иммунодефицитом**

- Лимфолифферативные заболевания, ассоциированные с первичными нарушениями
- Лимфомы, ассоциированные с ВИЧ-инфекцией
- Посттрансплантационные лимфолифферативные заболевания (ПТЛПЗ)
  - Плазмноклеточная гиперплазия и ПТЛПЗ, подобное инфекционному мононуклеозу
  - Полиморфные ПТЛПЗ
  - Мономорфные ПТЛПЗ
  - ПТЛПЗ по типу классической лимфомы Ходжкина\*\*
- Другие ятрогенные, ассоциированные с иммунодефицитом лимфолифферативные заболевания.