

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ КРИТЕРИИ ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ НЕХОДЖКИНСКИХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ЛИМФОМ ИЗ Т/НК-КЛЕТОК

И.Б. Ковынев¹, Т.И. Поспелова¹, Е.Н. Воропаева¹, Н.Ю. Дьячкова², Н.В. Скворцова¹,
А.С. Лямкина¹, И.Н. Нечунаева²

¹Кафедра гематологии и трансфузиологии Новосибирского государственного медицинского университета;

²Городской гематологический центр УЗ мэрии Новосибирска

Обследованы 896 пациентов с неходжкинскими злокачественными лимфомами (НХЗЛ). Т-клеточный иммунофенотип был установлен в 208 случаях. В соответствии с критериями ВОЗ был определен вариант каждого из них. Для подробной характеристики Т-клеточного иммунологического фенотипа НХЗЛ была использована панель из 15 моноклональных антител. У 115 больных диагностирована лимфобластная лимфома, у 93 — варианты периферических Т-НХЗЛ. Показано, что иммуноцитохимическое исследование с количественным подсчетом положительных клеток имеет определенную ценность для дифференциальной диагностики периферических Т-лимфом. Определены количественные критерии, дополнительные к классификации ВОЗ. Получены доказательства гетерогенности опухолевого субстрата, характерные для Т-НХЗЛ.

Ключевые слова: неходжкинские Т-клеточные лимфомы, классификация Т-клеточных опухолей, дополнительные количественные иммуноцитохимические критерии

ADDITIONAL DIAGNOSTIC IMMUNOCYTOCHEMICAL CRITERIA FOR T/NK-CELL LYMPHOMAS

I.B. Kovynev¹, T.I. Pospelova¹, E.N. Voropaeva¹, N.J. Djachkova², N.V. Skvortsova¹, A.S. Ljamkina¹, I.N. Nechunaeva²

¹Novosibirsk state medical university, ²City haematologic center of the mayoralty of Novosibirsk

896 patients (pts) with malignant non-Hodgkin's lymphomas were examined in this study. T-cell immunophenotype has been established in 208 cases. Diagnosis was established according to the WHO criteria. We used the panel from 15 monoclonal antibodies for the detailed characteristic of T-cell immunophenotype of non-Hodgkin's lymphomas. Lymphoblastic lymphomas was revealed in 115 pts and peripheral T-lymphomas in 93 pts. It was shown, that immunocytochemical research with quantitative calculation of antigen-positive cells has the certain value for differential diagnostics of peripheral T-cell lymphomas. We determined some quantitative diagnostics criteria in addition to WHO classification and proved their evidence in malignancy heterogeneity typical for T-cell lymphomas.

Key words: non-Hodgkin's T-cell lymphomas, classification of T-cell neoplasms, additional quantitative immunocytochemical criteria

Классификация Т- и НК-клеточных опухолей, предложенная ВОЗ, акцентирует внимание на множестве параметров, объединяя морфологию, иммунофенотип, генетику и клинические черты. Последние играют особенно важную роль в распознавании этих опухолей вследствие малой специфичности других параметров [1–4].

Для Т-клеточных лимфом характерно значительное морфологическое разнообразие, и даже внутри определенного заболевания может быть обнаружен целый спектр гистологических вариантов. В субстрате одной и той же опухоли возможно сочетание разных типов клеток — от малых лимфоцитов с минимальной атипией до крупных с анапластическими чертами [5]. Такая картина наблюдается в отдельных случаях при анапластической крупноклеточной лимфоме, Т-клеточной лимфоме/лейкемии взрослых, НК/Т-клеточной лимфоме назального типа. Более того, часто морфологическая характеристика нескольких вариантов неходжкинских злокачественных лимфом (НХЗЛ) может быть практически одинаковой. Множество экстра nodальных Т- и НК-клеточных лимфом имеют сходные гистологические черты, такие как выраженная апоптотическая активность, некроз и инвазия в сосуды [6].

В отличие от В-клеточных лимфом для большинства подклассов Т-НХЗЛ специфический иммунофенотипический профиль нехарактерен. Несмотря на то что часто антигены связаны с определенным вариантом опухоли, связь эта малоспецифична. Например, CD30 — универсальный маркер анапластической крупноклеточной лимфомы — также может экспрессироваться другими Т- и В-клеточными опухолями, хотя и в меньшей степени. CD30 экспрессируется даже при лимфоме Ходжкина.

По аналогии экспрессия CD56 является характерной чертой НК/Т-клеточной лимфомы назального типа, но может быть обнаружена и при других Т-клеточных новообразованиях и даже при опухолях из плазматических клеток [7–9]. Кроме того, внутри одной нозологической формы может быть несколько иммунофенотипических вариантов. Например, Т-клеточная лимфома печени и селезенки обычно имеет γ/δ -Т-клеточный фенотип, но встречается и небольшое число случаев, происходящих из α/β -Т-клеток.

В целом следует отметить, что в отличие от В-клеточных лимфом у Т-НХЗЛ нередко отсутствуют достоверные иммунологические маркеры клональной природы опухоли, но иммунофенотипирование тем не менее является важной опорой в диагностике этих заболеваний. В целом вопросы клональности Т-НХЗЛ вызывают многочисленные дискуссии в литературе [10–13]. Клональный тип пролиферации Т-клеток при Т-лимфомах доказан молекулярно-генетическими исследованиями, преимущественно основанными на ПЦР-диагностике перестроек генов рецепторов Т-клеток [14, 15].

В настоящее время для большинства Т- и НК-клеточных опухолей не определено ни одной специфической хромосомной аномалии. Редкое исключение составляет Т-анапластическая крупноклеточная лимфома, которая часто демонстрирует t(2;5) и другие варианты цитогенетических аномалий [16].

Детальный молекулярный патогенез большинства Т- и НК-клеточных лимфом так и не выяснен [17]. В классификации этих заболеваний основными дифференциально-диагностическими признаками являются клинические. Категория периферических Т-клеточных лимфом включает множество подвариантов, которые в

совокупности составляют примерно 15% от всех НХЗЛ взрослых [3, 4, 18]. Среди них наиболее значимыми по распространенности группами являются периферическая Т-клеточная лимфома, анапластическая крупноклеточная лимфома (включая Т- и 0-клеточный подварианты) и ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома. Намного реже встречаются ангиоцентрическая Т/НК-клеточная НХЗЛ, панникулитоподобная подкожная Т-лимфома, Т-лимфома/энтеропатия и гепатоспленическая γ/σ Т-НХЗЛ.

Клинически периферическая Т-клеточная лимфома может проявляться преимущественно поражениями лимфатических узлов или экстранодальными пролиферациями в нелимфатических органах, что указывает на неоднородность группы [19]. Это выражается и в гетерогенности клеточного состава опухолевого субстрата: он может быть представлен мелкими, плеоморфными элементами, включать эозинофилы, эпителиоидные гистиоциты, плазматические клетки, гигантские клетки, подобные элементам Штернберга — Рид, или состоять сплошь из крупноклеточных элементов [20].

В отличие от экспрессии антигенов при В-клеточных лимфомах экспрессия поверхностных Т-клеточных маркеров отличается разнообразием и непостоянством. Опухоли часто положительны на CD2, CD3 и CD4, несколько реже — CD8+. Проблема интерпретации иммунологического фенотипа этих НХЗЛ усугубляется в большинстве случаев утратой одного или нескольких антигенов, чаще всего это CD5 или CD7 [18].

Таким образом, поиск дополнительных подходов к анализу иммунофенотипа сохраняет актуальность. Появление новых программ лечения и препаратов, имеющих конкретную молекулярно-биологическую мишень в опухолевой клетке, определяет повышение требований к точности диагностики отдельных вариантов Т-НХЗЛ.

Определенный ресурс для подобных поисков предоставляет иммуноцитохимический метод исследования клеточных маркеров, который в отличие от традиционной иммуногистохимии позволяет более тонко выявлять локализацию антигена и особенности морфологии внутриклеточных структур, экспрессирующих его. Кроме того, иммуноцитохимия дает возможность с большей частотой и достоверностью осуществлять численный подсчет положительных клеток, предлагая количественные критерии для дифференциальной диагностики. Этот подход часто используется для определения рецепторных гормональных индексов при раке молочной железы и некоторых других опухолях. В то же время в отношении лимфоидных опухолей данный метод проработан недостаточно [13].

Целью данного исследования явилось изучение значимости количественных иммуноцитохимических критериев для дифференциального диагноза периферических Т-НХЗЛ.

Материалы и методы

Обследовали 896 пациентов с НХЗЛ. Т-клеточный иммунофенотип был установлен в 208 случаях. В соответствии с критериями ВОЗ был установлен вариант каждого из них. У 115 больных диагностирована лимфобластная лимфома, у 93 — варианты периферических Т-НХЗЛ. Эти случаи были условно разделены

на группы крупноклеточных ($n=63$) и мелкоклеточных вариантов ($n=30$) по преобладанию в опухолевом субстрате соответствующего морфологического компонента. В данной работе анализировался лишь фенотип опухолевых клеток пациентов с периферическими Т-НХЗЛ.

Средний возраст пациентов составил $55,8 \pm 4,7$ года. Анализ распределения по возрастным группам выявил преобладание лиц 60–64 лет. Максимальная заболеваемость (51,5%) была определена между 5- и 7-м десятилетием жизни и носила монопиковый характер. 36,2% пациентов составили лица молодого и среднего возраста, а 5,9% — дети и подростки.

Давность заболевания составляла от нескольких месяцев до пяти лет. У 56,7% пациентов иммунофенотип опухоли изучали на этапе первичной диагностики, у 43,3% — при рецидиве процесса.

Пациентов обследовали с использованием стандартного набора клинических и инструментальных методов, включавших исследование показателей гемограммы, стерильного пунктата и трепанобиоптата с подсчетом миелограммы. При наличии лимфаденопатии или органных поражений проводилась обязательная биопсия опухоли с морфологическим исследованием ткани лимфоидной неоплазии.

В целях изучения распространенности НХЗЛ и верификации стадии заболевания использовали инвазивные (фиброгастродуоденоскопия, фиброколоноскопия и др.) и неинвазивные методы (УЗИ внутренних органов, рентгеновская компьютерная томография и магнитно-резонансная томография, по показаниям — с использованием спирального томографа). Исследовали основные биохимические показатели, в том числе активность общей лактатдегидрогеназы, уровень белков плазмы крови.

С целью подробной характеристики Т-клеточного иммунологического фенотипа неходжкинских лимфом была использована широкая панель моноклональных антител (MKA; DAKO, Novocastra, R&D и др.):

- TdT (терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза экспрессируется лимфобластами), использовался клон HT-1;
- CD1a (кортикальные тимоциты — M-T102);
- TCR- α/β (Т-клеточный рецептор основного класса Т-клеток — WT 31);
- TCR- δ/γ (Т-клеточный рецептор минорного класса Т-клеток — 11F2);
- CD2 (субпопуляция Т-клеток — MT910);
- CD3 (субпопуляция Т-клеток — UCHT1);
- CD4 (Т-хелперы-индукторы — MT310);
- CD5 (субпопуляция Т-клеток, В-клеточный хронический лимфолейкоз — В-ХЛЛ — DK23);
- CD7 (панТ-маркер — DK24);
- CD8 (Т-супрессоры — DK25);
- CD10 (антиген «общего» лимфобластного лейкоза, лимфобласты — SS2/36);
- CD45RO (панТ-маркер, субпопуляция В-клеток) — UCHL1;
- CD56 (NK-клетки) — МОС-1;
- CD103 (интраэпителиальные Т-клетки тонкой кишки, волосатоклеточный лейкоз) — HML-1;
- Ki-67 (MIB-1) — маркер пролиферативной активности.

Иммунологический фенотип опухолевых клеток исследовали с помощью систем визуализации (LSAB+, LSAB2; DAKO), основанных на стрептавидин-биотин-овой или полимерной (EnVision Systems; DAKO) методиках с использованием цитохимической метки щелочной фосфатазой (для иммуноцитохимического исследования) или пероксидазой (для иммуногистохимического исследования).

Основным материалом для работы являлся субстрат опухоли, полученный методом открытой или пункционной (при поражении костного мозга) биопсии. Всего исследовано более 100 биоптатов, в части случаев проводилось параллельное иммуноцито- и иммуногистоморфологическое исследование препаратов одного и того же пациента.

Вся информация была преобразована в формат электронных таблиц Excel. Сформированная база данных в последующем проходила математическую обработку с помощью пакета прикладных математических программ Statistica v. 6 (StatSoft Inc.), OriginPro v. 7.5 (OriginLab) и с использованием статистических возможностей Excel.

Результаты

Т-НХЗЛ преимущественно из крупных клеток были выявлены у 63 пациентов, среди них преобладала Т-анапластическая лимфома, она была выявлена у 35 (56%) обследованных этой группы (рис. 1). Реже встречались Т-плейоморфная лимфома (16%), Т-иммунобластная (17%) и Т-крупноклеточная с НК-фенотипом (у двух больных). Другие типы Т-лимфом этой группы диагностированы у 8% пациентов.

В комментариях к современной классификации ВОЗ лимфоидных неоплазий отмечается, что роль иммунофенотипирования опухолевых клеток при Т-НХЗЛ имеет целью констатацию их Т-клеточной принадлежности.

Этим диагностическая ценность исследования, по мнению Е. Jaffe и соавт. [3], исчерпывается, поскольку специфических маркеров для большинства вариантов Т-лимфом нет.

В целом этот тезис нами не оспаривается. Однако математический анализ данных выявил достоверные различия по количеству МКА-положительных клеток между отдельными типами Т-НХЗЛ из крупных клеток.

Различия средних значений иммунофенотипических показателей с учетом ошибки средних и определения уровня значимости доверительных интервалов признаков позволили выявить перечень антигенов, по уровню которых две группы анапластической (1-я группа) и

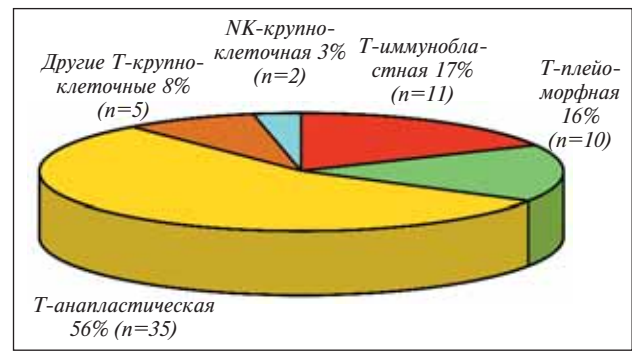


Рис. 1. Частота и структура Т-НХЗЛ с преобладанием крупных клеток

неанапластической (2-я группа) Т-крупноклеточных лимфом имели множественные отличия (табл. 1). В перечень признаков были включены маркеры CD3, CD4, CD7, CD8, CD10, CD30 и ALK.

Следующий этап исследования был направлен на выявление достоверности различия по содержанию МКА-положительных клеток между 1-й и 2-й группами.

Таблица 1.

Иммуноморфологическая характеристика опухолевого субстрата (среднее число положительных клеток в субстрате) при Т-крупноклеточных лимфомах

Маркер	Анапластическая Т-крупноклеточная лимфома	Неанапластические Т-крупноклеточные лимфомы
CD1a	13,4±6,3	29,9±9,3
CD2	40,0±6,6	41,3±1,3
CD3	52,1±3,4	43,9±9,4
CD4	58,2±6,9	22,2±8,2*
CD5	7,7±3,8	11,6±8,2
CD7	17,0±7,2	63,2±2,4**
CD8	81,8±5,6	32,9±4,0**
CD10	22,0±1,8	46,6±7,2*
CD19	6,7±3,2	4,3±2,0
CD20	2,4±1,4	2,7±1,1
CD23	0	8,4±5,6
CD30	67,0±2,7	22,0±2,1****
CD38	0	0
CD45RO	58,6±5,9	68,3±7,8
CD79α	7,6±3,4	10±4,3
CD95	0	35,0±10,0
CD103	0	0
κ-Цепи	0	0
TCR1	15,9±2,6	16,5±1,9
TCR2	23,3±1,9	28,8±7,5
Ki-67	65,4±5,0	74,5±7,1
ALK	67,9±2,2	22,7±1,2***
p53	37±8,1	24,6±7,2

Примечание. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,005$, **** – $p < 0,001$ по сравнению с анапластической Т-крупноклеточной лимфомой.

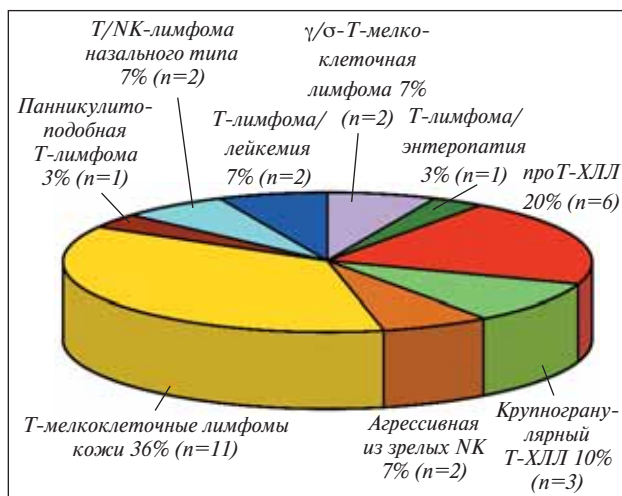


Рис. 2. Частота и структура Т-мелкоклеточных лимфом

С этой целью была проведена статистическая проверка различий средних с расчетом *t*-критерия Стьюдента и коэффициента корреляции Пирсона.

Ниже приводятся результаты анализа парного двухвыборочного *t*-теста числовых рядов, включавших количество CD-положительных клеток в двух группах Т-крупноклеточных лимфом.

Первым исследуемым показателем было содержание элементов, экспрессирующих CD2. Фактическое значение *t*-критерия для CD2+ клеток при уровне статистической значимости $p < 0,05$ не превышало *t*-критическое двустороннее и составило -0,19 против 2,2. При значении индекса линейной корреляции Пирсона для маркера на уровне 0,8 (свидетельство сильной прямой связи) принадлежность числовых рядов к разным выборкам и, следовательно, диагностическая ценность признака были отвергнуты. Тот же вывод следовал и о CD3-маркере: -0,5 против 2,2.

Маркеры CD4 и CD10 с трудом преодолели планку критического уровня *t*-критерия: фактические значения критерия Стьюдента в 1-й группе у них были равны 2,8 и -2,3 при расчетном 2,2 в обоих случаях. Индекс Пирсона указывал на слабую связь — 0,28 и 0,06 соответственно. Следовательно, число CD4- и CD10-положительных опухолевых клеток в субстрате может иметь ограниченное значение для дифференциальной диагностики двух групп Т-клеточных опухолей: количество CD4+ элементов более $58,2 \pm 6,9\%$ и CD8+ менее $46,6 \pm 7,2\%$ с достаточной вероятностью ($p < 0,05$) указывает на Т-анпластическую лимфому.

CD10 проявил сомнительную ценность: фактическое значение *t*-критерия в 1-й группе было вдвое больше *t*-критического — 4,6 против *t*-расчетного 2,2.

Более весомыми для дифференциального диагноза оказались маркеры CD7 и CD30. В 1-й группе для CD7 фактическое значение критерия Стьюдента составило -10,6, для CD30 — 6,1, что без учета знака значительно превышало критический 2,2. Таким образом, выявленные в опухоли количество CD7-положительных лимфомных клеток менее $17,0 \pm 7,2\%$ и CD30 более $67,0 \pm 2,7\%$ делают более вероятным (при $p < 0,05$) диагноз Т-крупноклеточной лимфомы анапластического типа.

Как и ожидалось, наиболее информативным показателем для дифференциального диагноза Т-НХЗЛ ока-

залось количество ALK-положительных клеток. *t*-Критерий в 6 раз превышал расчетный — 13,7 против 2,2 при индексе Пирсона -0,1. Последнее означает, что при уровне ALK выше $67,9 \pm 2,2\%$ диагноз Т-анпластической лимфомы можно считать доказанным.

Таким образом, наибольшей ценностью для распознавания Т-анпластической лимфомы обладали маркеры ALK, CD30 и CD7, дополнительное значение может иметь определение CD4 и CD8.

Т-НХЗЛ преимущественно из мелких клеток оказались самыми малочисленными ($n=30$). Однако именно в этой группе встретились наибольшие трудности в диагностике, поскольку в ней преобладали экстранодальные поражения, а лимфоаденопатия в большинстве случаев отсутствовала.

Среди Т-мелкоклеточных НХЗЛ самой представительной была группа лимфом кожных типов — 36% ($n=11$) от общего числа пациентов с этими опухолями (рис. 2).

Кроме того, кластер Т-мелкоклеточных неходжкинских лимфом включал пациентов с Т-лимфомой/лейкемией ($n=2$), γ/δ-Т-клеточной гепатоспленической лимфомой ($n=2$), Т-лимфомой/энтеропатией ($n=1$), Т-клеточным пролимфоцитарным хроническим лимфолейкозом ($n=6$), Т-клеточным лейкозом с большими гранулярными лимфоцитами ($n=3$), NK-агрессивной лимфомой/лейкемией ($n=2$), подкожной панникулитоподобной Т-лимфомой ($n=1$) и Т/NK-лимфомой назального типа, ранее относимой к болезни Вегенера ($n=2$) [21, 22].

Наиболее частыми вариантами Т-мелкоклеточных НХЗЛ были Т-мелкоклеточные лимфомы/лейкемии, кожные лимфомы CD4+ Сезари и несезари CD4- типов, агрессивные лимфомы из NK-клеток.

К особым редко диагностируемым формам относились Т-мелкоклеточная лимфома/энтеропатия, γ/σ-Т-гепатоспленомегалическая лимфома и панникулитоподобная Т-мелкоклеточная лимфома. Пациенты с некоторыми из этих опухолей были обследованы и получали лечение в нашей клинике.

Ввиду небольшого числа больных все варианты были объединены в три кластера: первично лейкоэмические Т-мелкоклеточные НХЗЛ ($n=13$), алейкемические Т-мелкоклеточные НХЗЛ ($n=6$) и Т-мелкоклеточные с первичным поражением кожи ($n=11$).

В целях выявления дополнительных иммуноцитохимических критериев для дифференциальной диагностики был проведен подробный анализ их фенотипа.

При наличии большинства панТ-клеточных маркеров во всех трех группах их иммунофенотипический профиль различался (табл. 2). CD2 экспрессировался с разной частотой — $45,3 \pm 5,3$; $26,3 \pm 1$ и $89,3 \pm 16,6\%$ в 1, 2 и 3-й группах соответственно ($p < 0,05$). CD3+ клетки у больных лейкоэмическими вариантами выявлялись в $69,9 \pm 9,2\%$ случаев, при двух других вариантах несколько чаще: $71,7 \pm 4,3$ и $78,8 \pm 4,8\%$, однако разница была недостоверной.

CD4 — маркер Т-хелперов/индукторов — присутствовал в фенотипе всех Т-мелкоклеточных лимфом, однако экспрессия была максимальной при кожной лимфоме Сезари ($p < 0,05$).

Количество CD5+ и CD7+ клеток колебалось от 27,4 до 85,9% ($p < 0,05$), что, вероятно, свидетельствует о некоторой вариабельности экспрессии этих маркеров различными типами Т-лимфом.

Число CD8-положительных случаев (антиген Т-супрессоров) было невелико и во всех трех вариантах достоверно не различалось ($17,6 \pm 7,9$; $18,7 \pm 1,9$ и $14,9 \pm 2,3\%$ соответственно), что отражает редкую встречаемость Т-супрессорного профиля при Т-НХЗЛ и, возможно, постоянное присутствие среди опухолевых клеток нормального клона Т-клеток с соответствующей функциональной активностью.

Количество клеток, экспрессирующих антиген CD10, коррелировало с числом крупноклеточных и анаплазированных элементов в субстрате опухоли, а также с ее пролиферативной активностью.

Заслуживает внимания, на наш взгляд, наличие CyclinD1-положительных клеток в $54,3 \pm 1,7\%$ случаев алейкемических вариантов Т-НХЗЛ ($p < 0,01$). Вероятно, это связано с вовлечением этого протеина пролиферативного цикла клетки в какие-либо генетические аномалии с его амплификацией и гиперэкспрессией его гена.

Дополнительным доказательством этому является число Ki-67+ клеток, отражающих значительно более высокую пролиферативную активность в сравнении с В-мелкоклеточными лимфомами.

Зрелые В-лимфоциты, обнаруживаемые благодаря экспрессии панВ-клеточных маркеров, стабильно присутствовали при всех вариантах и группах Т-зрелоклеточных НХЗЛ. Вероятно, это отражает наличие в субстрате опухоли реактивных клеток гуморального звена иммунитета и иммунобиологического надзора.

В целом результаты работы доказывают, что иммуноцитохимическое исследование с количественным подсчетом положительных клеток имеет определенную ценность для дифференциальной диагностики периферических Т-лимфом из крупных клеток. Группа Т-лимфом из мелких клеток была слишком малочисленной, чтобы выявить какую-либо закономерность, что требует продолжения исследований и дополнительного набора материала.

Кроме того, получены дополнительные доказательства гетерогенности опухолевого субстрата, характерные для Т-НХЗЛ. Клетки периферических Т-лимфом анапластического и неанапластического типов демонстрируют экспрессию панТ-клеточных антигенов только на уровне 60%, при этом реактивные В-клетки составляют не более 10%. Таким образом, около 30% клеток неоплазии утратили часть Т-антигенов или экспрессируют их в низких концентрациях, что также отражает неоднородность субстрата Т-НХЗЛ. Аналогичные изменения были выявлены и в группе мелкоклеточных В- и Т-лимфом.

Эти факты, по-видимому, отражают иммунофенотипический и, главное, генетический «химеризм»

Таблица 2. Иммуноморфологическая характеристика опухолевого субстрата (число положительных клеток) при лейкоемических, алейкемических и первично кожных вариантах Т-мелкоклеточных лимфом

Маркер	Лейкемические Т-мелкоклеточные НХЗЛ (n=13)	Алейкемические Т-мелкоклеточные НХЗЛ (n=6)	Т-мелкоклеточные с первичным поражением кожи (n=11)
CD1a	10,3±7,8	45,7±2,3*	22,3±2,3*+
CD2	45,3±5,3	26,3±10,8*	89,3±16,6*+
CD3	69,9±9,2	71,7±14,3	78,8±4,8
CD4	32,5±6,3	36±8,3	80,6±5,2*+
CD5	27,4±5,2	42,3±2,1*	75,6±4,3*+
CD7	65±4,9	61±8	85,9±7,6
CD8	17,6±7,9	18,7±1,9	14,9±2,3
CD10	8,6±4,2	15,3±8,2	18,1±4,3
CD19	14±5,6	13,7±5,9	3,2±1,2*+
CD20	8,4±2,7	2,7±1,4*	0
CD23	12±5,1	7,3±3,9	0
CD30	13,3±2,2	10±4,2	22,7±6,5*+
CD38	13±12,4	1±0,6*	12,2±7,3+
CD45RO	59,7±5,9	55,7±9,9	88,4±2,3*+
CD79	7,75±2,6	10,3±2,6	9,2±2,3
CD103	30,8±14,9	12,5±4,1*	0
Ki-67	15,4±3,4	10,2±5,2	6,1±2,4*+
CyclinD1	8,3±6,4	54,3±1,7**	0

Примечание. $p < 0,5$: * — по сравнению с лейкоемическими Т-мелкоклеточными НХЗЛ, + — по сравнению с алейкемическими Т-мелкоклеточными НХЗЛ; ** — $p < 0,01$ по сравнению с лейкоемическими Т-мелкоклеточными НХЗЛ.

клеток лейкоемических клонов. Жестко определенный фенотипический репертуар поверхностных, цитоплазматических и внутриядерных протеинов, характерный для неопуховых аналогов лимфомы, имеет своей основой четкую генетическую детерминацию. Нарушение спектра белков, экспрессируемых опухолевой клеткой, свидетельствует о нестабильности генетического аппарата опухолевых клонов. Кроме того, утрата антигенов иммунофенотипического профиля частью клеток субстрата опухоли отражает его генетическую гетерогенность и наличие среди элементов доминирующего клона клеточных сообществ, имеющих модифицированный геном.

Гетерогенность опухолевого субстрата отражается на морфологической и, особенно, на клинической характеристике опухоли. Из этого следует, что разнообразие клинических проявлений Т/НК-НХЗЛ отражает их клональное разнообразие, приобретаемое на этапах опухолевой прогрессии. Появление модифицированных сообществ клеток позволяет лимфоме осуществлять клеточную экспансию в различные ткани и органы, отличающиеся друг от друга по типу метаболизма, кровоснабжению и другим важным биохимическим и анатомическим характеристикам. Непрерывный процесс клональной селекции приводит к отбору минорных клеточных сообществ, приобретающих способность пролиферировать в условиях, отличающихся от условий первичного очага.

Л и т е р а т у р а

1. Криволапов Ю.А., Леенман У.У. Морфологическая диагностика лимфом. С.-Пб., КОСТА; 2006. с. 85–117.
2. Мазуров В.И., Криволапов Ю.А. Классификация лимфом. Морфология, иммунофенотип, молекулярная генетика неходжкинских лимфом. Практ онкогематол 2004;5(3): 166–75.
3. Jaffe E.S., Krenacs L., Raffeld M. Classification of T-cell and NK-cell neoplasms based on the REAL classification. Ann Oncol 1997;8(2):17–24.
4. Jaffe E.S. Classification of natural killer (NK) cell and NK-like T-cell malignancies. Blood 1996;87:1207–10.
5. Jaffe E.S., Harris N.L., Stein H., Vardiman J.W. Tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. World Health Organization Classification of Tumors (WHO OMS). Lyon, IARS-Press; 2001. p. 340–5.
6. Jaffe E.S., Krenacs L., Kingma D.W. et al. Extranodal peripheral T-cell and NK-cell neoplasms. Am J Clin Pathol 1999;111:46–55.
7. Perniciaro C., Wincelmann R.K., Daoud M.S. et al. Malignant angioendotheliomatosis is an angiotropic intravascular lymphoma. Immunohistochemical, ultrastructural, and molecular genetics studies. Am J Dermatopatol 1995;17:242–8.
8. Chan J.K., Sin V.C., Wong K.F. et al. Nonnasal lymphoma expressing the natural killer cell marker CD56: a clinicopathologic study of 49 cases of an uncommon aggressive neoplasm. Blood 1997; 89:4501–13.
9. Kumar S., Krenacs L., Medeiros J. et al. Subcutaneous panniculitic T-cell lymphoma is a tumor of cytotoxic T lymphocytes. Hum Pathol 1998;29:397–403.
10. Ковынев И.Б., Лосева М.И., Поспелова Т.И. и др. Особенности иммуноморфологической диагностики лимфобластных неходжкинских лимфом. Вестн НГУ 2006;4(3):15–22.
11. Петров С.В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. Под ред. С.И. Петрова и Н.Т. Райхлина. Казань; 2004. с. 456.
12. Пробатова Н.А. Морфологические критерии диагностики злокачественных лимфом. В кн.: Клиническая онкогематология: руководство для врачей. Под ред. М.А. Волковой. М., Медицина; 2001. с. 301–12.
13. Воробьев И.А., Худолева О.А., Рощупкина Т.Д. и др. Иммунофенотипирование опухолей системы крови и лимфатических опухолей. Часть I. Зрелоклеточные лимфомы и лимфосаркомы. Гематол и трансфузиол 2005;(1):7–13.
14. Greiner T.C., Raffeld M., Lutz C. et al. Analysis of T cell receptor-gamma gene rearrangements by denaturing gradient gel electrophoresis of GC-clamped polymerase chain reaction products. Correlation with tumor-specific sequences. Am J Pathol 1995;146:46–55.
15. Krafft A.E., Taubenberger J.K., Sheng Z.M. et al. Enhanced sensitivity with a novel TCRgamma PCR assay for clonality studies in 569 formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) cases. Mol Diagn 1999;4:119–33.
16. Jaffe E.S. Anaplastic large cell lymphoma: the shifting of diagnostic hematopathology. Mod Pathol 2001;14:219–28.
17. Kluin P.M., Feller A., Gaulard P. et al. Peripheral T/NK-cell lymphoma: a report of the IXth Workshop of the European Association for Haematopathology Conference report. Histopathology 2001;38:250–70.
18. Armitage J., Weisenburger D.J. New approach to classifying Non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. Clin Oncol 1998;16:2780–95.
19. Harris N., Jaffe E., Stein H. et al. A revised European American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. Blood 1994;84:1361–92.
20. Gascoyne R.D., Aoun P., Wu D. et al. Prognostic significance of anaplastic lymphoma kinase (ALK) protein expression in adults with anaplastic large cell lymphoma. Blood 1999;93:3913–21.
21. Gonzalez C., Medeiros L., Brazier R. et al. T-cell lymphoma involving subcutaneous tissue: a clinicopathologic entity commonly associated with hemophagocytic syndrome. Am J Surg Pathol 1991;15:17–27.
22. Farcet J., Gaulard P., Marolleau J. et al. Hepatosplenic T-cell lymphoma: sinusoidal localization of malignant cells expressing the T-cell receptor α/δ . Blood 1990;75:2213–9.

Дискуссия по статье И.Б. Ковынева, Т.И. Поспеловой, Е.Н. Воропаевой и соавт. «Дополнительные критерии иммунофенотипической диагностики неходжкинских злокачественных лимфом из Т/НК-клеток»

Статья И.Б. Ковынева и соавт., посвященная Т/НК-клеточным лимфомам, безусловно, вызывает повышенный интерес ввиду редкости и сложности исследуемых вариантов неходжкинских лимфом. Диагностика Т-клеточных лимфом связана со значительными трудностями на морфологическом, иммунофенотипическом, молекулярном уровнях. Известно, что определение клональной реаранжировки генов Т-клеточного рецептора не является доказательством наличия лимфомного поражения. Так, до 50% лимфоидных инфильтратов кожи являются клональными по результатам исследования TCR γ , однако это не доказывает наличия истинной Т-клеточной лимфомы кожи, и данные пациенты подлежат только динамическому наблюдению. Помимо клональной реаранжировки генов TCR необходим морфологический субстрат лимфомы с иммунофенотипом, соответствующим тому или иному варианту лимфомы кожи;

крайне важны клинические данные. Авторы статьи справедливо подчеркивают значимость клинической картины и необходимость учета всего комплекса диагностических признаков.

Хотелось бы обсудить некоторые положения статьи, которые принципиально важны в диагностике зрелых Т/НК-клеточных лимфом.

1. Периферические Т-клеточные лимфомы характеризуются достаточно высокой «специфичностью» иммунофенотипа ряда вариантов Т/НК-клеточных лимфом. Например, диагноз экстранодальной Т/НК-клеточной лимфомы назального типа подразумевает экспрессию CD2, CD3 (клон ϵ), CD56, экспрессию цитолитических молекул Perforin, Granzyme B и отсутствие каких-либо других панТ-клеточных маркеров. В случае CD56-положительной лимфомы, как правило, присутствует экспрессия опухолевыми клетками вируса Эпштейна