

ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ ЛИМФОМ

Диагноз пациента с лимфопролиферативным заболеванием при первичном обследовании должен состоять из 3 неотъемлемых частей:

1. Диагноз опухоли, сформулированный в соответствии с действующей классификацией ВОЗ
2. Распространенность процесса - стадия (установленная в соответствии с принятыми классификационными системами)
3. Общее состояние больного (оцененное по международным критериям)

Диагноз опухоли

До биопсии лимфатического узла необходимо выполнять общий анализ крови с подсчетом лейкоцитарной формулы, чтобы исключить необходимость выполнения биопсии у больных хроническим лимфолейкозом, острыми лейкозами, при лимфоцитозе инфекционной (HIV, EBV, CMV-инфекции, коклюш, вирусные гепатиты, токсоплазмоз и др.) или другой этиологии (поствакцинальный, лекарственная реакция, курение, тимомы, «стрессорный» лимфоцитоз).

Диагноз опухоли (лимфомы) устанавливают на основании морфологического исследования биопсийного или операционного материала¹. Морфологическое исследование проводится с помощью цитологического, гистологического и иммуногистохимического методов. В части случаев необходимо проведение молекулярно-биологических и генетических тестов. Цитологическое исследование пунктатов или мазков-отпечатков лимфатических узлов или других опухолевых очагов не является достаточным основанием для нозологической верификации лимфом.

При первичном обследовании пациента во всех случаях проводится гистологическое и, как правило, иммуногистохимическое исследование инцизионной или эксцизионной биопсии патологического очага или операционного материала. Пунктировать лимфатические узлы для аспирации клеточной взвеси не следует. В исключительных случаях (локализация опухоли в труднодоступных анатомических зонах) при обосновании невозможности выполнения эксцизионной биопсии (отраженном в медицинской документации), объектом исследования может быть тканевой материал, полученный с помощью пистолетной («кор») биопсии. Пригодным для исследования является биоптат диаметром не менее 16 G, при длине опухолевого инфильтрата в ткани не менее 1,5 см. Объем иммуногистохимического исследования определяет врач-патологоанатом при гистологическом изучении материала. Разделение материала между различными лабораториями категорически недопустимо. Протокол морфологического исследования должен содержать:

¹ У больных с «лейкемическими» формами лимфопролиферативных заболеваний (острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфолейкоз, волосатоклеточный лейкоз, лейкемическая фаза лимфомы Беркитта) диагноз может устанавливаться при цитологическом исследовании крови/костного мозга, в таких случаях иммунофенотипирование проводится методом проточной цитометрии.

1. Макроскопическое описание материала, присланного для исследования; при исследовании готовых блоков и микропрепаратов в протоколе должны быть указаны количество и идентификационные номера всех присланных объектов.

2. Гистологическое описание лимфомы с указанием типа роста (диффузный, нодулярный и т.п.), характеристики клеточного состава (мелкие, крупные клетки, полиморфный состав, анапластическая, бластная морфология, наличие многоядерных форм, характеристика ядер), наличия реактивных и резидуальных компонентов.

3. Результаты иммуногистохимического исследования с указанием использованных антител и подробностей окрашивания, указывающих на специфический характер реакции (например, окрашивание ядер в реакциях с антителами к TdT, BCL-6, cyclin D1; цитоплазмы - в реакциях на CD79a, гранулярная цитоплазматическая реакция - цитотоксические молекулы; цитоплазмы или мембраны - в реакциях с антителами к CD3, тяжелым или легким цепям иммуноглобулинов; мембраны – в реакциях на CD20, CD10 и т.д.), интенсивность, особенности иммуногистоархитектоники. Представление результатов иммуногистохимических тестов только в виде «крестов» («плюсов») и перечня антител недопустимо.

4. Патоморфологическое заключение, сформулированное в соответствии с действующей классификацией ВОЗ.

Обязательным компонентом определения распространенности опухолевого процесса (стадии) является гистологическое исследование трепанобиоптата костного мозга. В процессе первичного обследования рекомендуется выполнять биопсию билатерально. У детей с лимфомой Ходжкина в продвинутой стадии проведение трепанобиопсии может быть отменено, при наличии инициальной ПЭТ-КТ.

Морфологическое исследование пунктата костного мозга (стернального или др.) не заменяет гистологическое исследование трепанобиоптата. Для детей с лимфобластными лимфомами, лимфомой Беркитта достаточным для стадирования является проведение костномозговой пункции из 4 точек – передние и задние гребни подвздошных костей; стеральная пункция не используется.

При наличии в общем анализе крови или миелограмме лимфоцитоза, независимо от числа лейкоцитов, а также при преобладании лимфоидных клеточных элементов, атипичных лимфоцитов или клеток с бластной морфологией в плевральной, асцитической или других биологических жидкостях необходимо выполнение иммунофенотипирования методом проточной цитометрии. Проточная цитометрия позволяет быстро провести дифференциальную диагностику опухолевого и реактивного лимфоцитоза, что важно для определения дальнейшей тактики обследования пациента. Материалом для анализа методом проточной цитометрии могут служить клетки крови, костного мозга, выпотных жидкостей, бронхоальвеолярного смыва, ликвора, гомогенизированные образцы тканей (селезенка, лимфатические узлы и т.д.), клеточная суспензия, полученная при аспирационной тонкоигльной пункции лимфатических узлов.

При определении стадии опухолевого процесса может потребоваться биопсия других очагов поражения, если нельзя исключить их опухолевую природу другими способами.

При рецидиве или прогрессировании заболевания обязательно выполнение повторной биопсии и морфологического исследования пораженных лимфатических узлов или очагов, расположенных экстранодально. Повторная биопсия также показана при наличии резидуальных очагов для подтверждения ремиссии, за исключением случаев ПЭТ-негативных резидуальных образований при лимфоме Ходжкина.

Повторно аспирация и трепанобиопсия костного мозга выполняются для плановой оценки результатов лечения и при появлении клинически немотивированных цитопении и лихорадки. Аспират костного мозга может быть информативен для оценки регенерации и диспластических изменений миелопоэза. У больных с поражением костного мозга цитологическое исследование пунктата для оценки изменений объема опухолевой инфильтрации не всегда информативно.

Лимфома Ходжкина

Лимфома Ходжкина – это В-клеточная лимфома с выраженным реактивным полиморфноклеточным микроокружением. К опухолевой популяции лимфомы Ходжкина относят клетки Ходжкина, клетки Березовского-Рид-Штернберга, лакунарные, мумифицированные, LP-клетки. Традиционно выделяют классическую лимфому Ходжкина и нодулярную лимфому Ходжкина с лимфоидным преобладанием.

Классическая лимфома Ходжкина включает следующие гистологические варианты: нодулярный склероз (NS I и II типа), смешанно-клеточный вариант, классический вариант с большим количеством лимфоцитов и редко встречающийся вариант с лимфоидным истощением.

Все варианты классической лимфомы Ходжкина характеризуются одинаковым иммунофенотипом: CD30 (dot-like, мембранная, цитоплазматическая реакция), CD15 (dot-like, мембранная, цитоплазматическая реакция), PAX-5 (слабая ядерная реакция по сравнению с В-клетками реактивного микроокружения). В опухолевых клетках может обнаруживаться вирус Эпштейна-Барр (LMP1/EBER).

Экспрессия CD15 отмечается примерно в 85% случаев ЛХ, PAX 5 - в 95% случаев. При отсутствии экспрессии CD30 диагноз лимфомы Ходжкина сомнителен и требует углубленного иммуногистохимического исследования.

Опухолевые клетки в части случаев экспрессируют пан-В-клеточный маркер CD20 (гетерогенная по интенсивности мембранная реакция); экспрессия опухолевыми клетками CD45 и CD3 отсутствует. Дополнительным маркером, позволяющим отличить лимфому Ходжкина от диффузной В-крупноклеточной лимфомы, является отсутствие экспрессии CD79a, BCL-6, В-клеточного транскрипционного фактора BoB.1 (или слабая ядерная реакция в отдельных опухолевых клетках).

При установлении диагноза классической лимфомы Ходжкина необходимо указать гистологический вариант и особенности иммунофенотипа (экспрессия CD20, EBV,) (см. табл. 1). Иммуногистохимической верификации подлежат все случаи лимфомы Ходжкина.

Нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоидным преобладанием отличается от классической лимфомы Ходжкина по клиническим и иммуноморфологическим характеристикам. Опухолевые LP-клетки одинаково интенсивно экспрессируют CD20, PAX5 и другие B-клеточные антигены, их окружают розетки из CD3+, CD57+, PD1+ T_H1-лимфоцитов. Экспрессия CD30 и CD15 на опухолевых клетках отсутствует.

Таблица 1

Морфологическая классификация лимфомы Ходжкина
ВОЗ, 2008 г.

Лимфома Ходжкина	Варианты	Иммунофенотип опухолевого субстрата
Классическая	<ul style="list-style-type: none"> • нодулярный склероз, типы I и II; • смешанно-клеточный; • богатый лимфоцитами; • лимфоидное истощение. 	CD30+, CD15+, CD20-/+(CD20+ около 20-40% случаев), CD45-, PAX5 (слабая ядерная экспрессия), BoB.1-
Нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоидным преобладанием		CD20+, CD45+, CD30-, CD15- (в единичных случаях позитивная экспрессия), BCL-6+/-, PU.1+, J-chain+, BoB.1+

Фолликулярная лимфома

Гистологическое заключение должно учитывать клеточный состав опухолевых инфильтратов и характер роста опухоли. Согласно классификации опухолей кроветворной и лимфоидной тканей ВОЗ (2008 г.) цитологические типы 1 и 2 (до 15 центробластов в поле зрения микроскопа ув. 400х) необходимо объединять. Реже (20%) встречается 3 цитологический тип, который, в свою очередь, подразделяется на 3А (с присутствием centrocytes) и 3В (массивные поля из центробластов с наличием фолликулоподобных/нодулярных структур, сформированных среднего размера и крупными клетками с округло-овальными и многодольчатыми ядрами с морфологией центробластов). В гистологическом заключении необходимо также описывать характер роста опухоли: фолликулярный/нодулярный (опухолевые фолликулы превышают 75% площади лимфатического узла), нодулярно-диффузный (25%-75%) и преимущественно диффузный тип роста (менее 25%). Если последний представлен центробластами, то при отсутствии нодулярных участков опухолевого роста устанавливается трансформация в диффузную В-клеточную крупноклеточную лимфому (ДВКЛ). В этом случае необходимо указывать долю площади опухоли, приходящуюся на фолликулярную лимфому и ДВКЛ (в процентах).

Фолликулярная лимфома – В-клеточная лимфома с иммунофенотипом CD20+, CD10+/-, BCL-2+, BCL-6+, CD3-, CD5-, CD23-/+, cyclin D1-. В редких случаях фолликулярная лимфома может быть BCL-2-негативна. При этом необходимо использование спектра клонов антител к BCL-2 (например, E17) и цитогенетическое исследование для выявления t(14;18) или реаранжировки BCL-2. При преобладании диффузного роста фолликулярной лимфомы 1-2 цитологического типа, а также при фолликулярной лимфоме 3 цитологического типа экспрессия CD10 часто отсутствует. В этих случаях можно дополнять диагностическую панель антител новым маркером герминальной (фолликулярной) дифференцировки HGAL (GCET2).

Пролиферативный индекс обычно не превышает 20%, Ki-67 > 30% ассоциируется с неблагоприятным прогнозом.

Для подтверждения диагноза целесообразно цитогенетическое/FISH исследование.

Фолликулярная лимфома «детского» типа представлена фолликулярной лимфомой 3 цитологического типа (чаще 3В) без экспрессии BCL-2 и реаранжировки BCL-2, встречается преимущественно у детей/подростков мужского пола/молодых мужчин с вовлечением кольца Вальдейера, яичек.

Фолликулярная лимфома 3В +/- диффузная В-клеточная лимфома характеризуется экспрессией или реаранжировкой MUM.1.

Лимфомы из клеток маргинальной зоны

Лимфома маргинальной зоны представляет собой В-клеточную лимфому с нодулярным, интрафолликулярным, маргинальным, диффузным, внутрисинусным типами роста. Клеточный состав полиморфный: встречаются клетки типа малых лимфоцитов, центроцитоподобные, лимфоидные клетки с признаками плазмочитарной дифференцировки, зрелые плазматические клетки, разрозненно расположенные крупные клетки с морфологией центробластов и иммунобластов; при экстранодальной локализации нередко присутствуют скопления опухолевых клеток с морфологией моноцитоподобных В-клеток.

Иммуногистохимически диагноз В-клеточной лимфомы из клеток маргинальной зоны устанавливается путем исключения других вариантов мелкоклеточных В-клеточных лимфом и требует использования широкой панели антител. Иммунофенотип опухоли характеризуется экспрессией пан-В-клеточных антигенов, в частности CD20 (интенсивная мембранная экспрессия). В целом иммунофенотип нодальных и экстранодальных В-клеточных лимфом из клеток маргинальной зоны идентичен: CD19+, CD20+, CD22+, CD5-, CD10-, CD23-, BCL-2+/-, BCL-6-, MUM.1 - +/- (слабая ядерная экспрессия в лимфоидных клетках опухолевого инфильтрата). В сложных случаях при преобладании диффузного роста рекомендуется дополнительное исследование экспрессии CD38(-) и CD44(+). Резидуальные зародышевые центры фолликулов с признаками колонизации визуализируются с помощью антител к CD10, BCL-6, CD23 (сеть фолликулярных дендритических клеток). При В-клеточной лимфоме селезенки из клеток маргинальной зоны коэкспрессия CD5 может присутствовать до 20% наблюдений. «Уникальный» диагностический маркер для В-клеточной лимфомы из клеток маргинальной зоны отсутствует.

При большом количестве крупных клеток без формирования кластеров, с учетом соответствующей морфологической и иммуногистохимической картины, характеризующей лимфому маргинальной зоны, диагностируется «В-клеточная лимфома из клеток маргинальной зоны с большим количеством бластов» (blast-rich). Трансформация в диффузную В-клеточную крупноклеточную лимфому устанавливается при наличии крупноочаговых скоплений клеток с морфологией центробластов/иммунобластов.

Диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома (ДВКЛ)

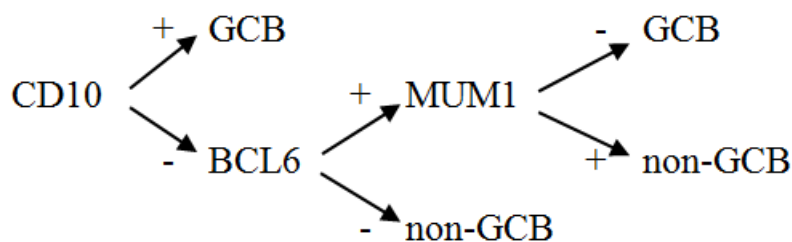
Диагноз ДВКЛ устанавливается на основании морфологического и иммуногистохимического исследования опухолевой ткани. Необходимые диагностические процедуры описаны в разделе, посвященном общим вопросам диагностики лимфом.

Морфологический субстрат представлен центробластами, иммунобластами, клетками с многодольчатыми ядрами, клетками с полиморфными/анаплазированными ядрами в различных количественных соотношениях, что определяет морфологический вариант опухоли: центробластный, иммунобластный (>90% опухолевых клеток с морфологией иммунобластов), анапластический.

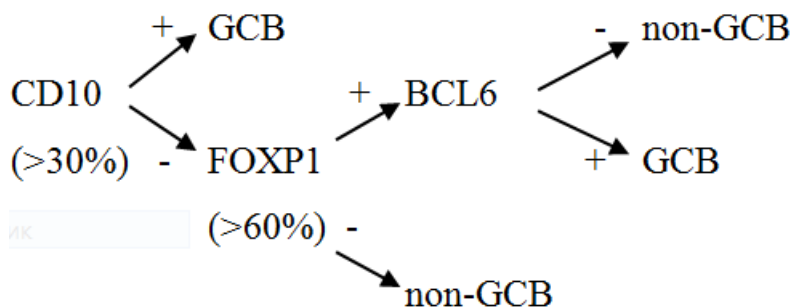
Иммунофенотип опухоли характеризуется экспрессией пан-В-клеточных антигенов CD19, CD20, CD79a, PAX 5 (мономорфная интенсивная ядерная экспрессия), CD45 и отсутствием экспрессии CD3. CD30 (мембранная +/- dot-like реакция) может быть экспрессирован частью опухолевых клеток. CD5-позитивная диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома встречается примерно в 10% наблюдений. В этих случаях необходимо иммуногистохимическое исследование с антителами к cyclin D1 для исключения полиморфноклеточного/бластоидного варианта лимфомы из клеток мантии. Вместе с тем, до 20% ДВКЛ могут экспрессировать cyclin D1 (часть опухолевых клеток, слабая по интенсивности ядерная реакция).

Диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома, как правило, характеризуется высокой митотической и пролиферативной активностью. Ki-67 экспрессируется в широком диапазоне: 40-90%, в отдельных наблюдениях превышает 90%.

Изучение профиля экспрессии генов (GEP) позволяет идентифицировать молекулярные подтипы ДВКЛ, что имеет важное прогностическое значение: благоприятным признается GCB, неблагоприятным ABC тип. С помощью иммуногистохимического алгоритма с использованием суррогатных маркеров CD10, BCL-6, MUM.1 (алгоритм Hans, 2004) или CD10, BCL-6, FOXP1 (алгоритм Visco-Young, 2012) могут быть выделены иммуногистохимические подгруппы ДВКЛ (GCB и non-GCB типы), коррелирующие с профилем экспрессии генов (GEP).



Диагностический алгоритм Hans (2004)



Диагностический алгоритм Visco-Young, 2012

Для выявления случаев с неблагоприятным прогнозом, требующих интенсификации терапии, при ДВКЛ рекомендуется исследовать наличие/отсутствие коэкспрессии с-МYC (клон Y69/EP121) и BCL-2.

В диагностический алгоритм целесообразно включить определение перестройки гена MYC (ДВКЛ с реаранжировкой MYC встречается до 10% случаев). В ряде исследований при ДВКЛ, наряду с перестройкой гена MYC, одновременно могут обнаруживаться транслокация t(14;18)(q32;q21) и/или перестройка гена BCL6. Эти варианты заболевания обозначаются терминами ДН (double-hit) или ТН (triple-hit) лимфома и включены в группу В-клеточных лимфом, неклассифицируемых. В классификации опухолей кроветворной и лимфоидной тканей ВОЗ (2008 г.) впервые выделена группа В-клеточных лимфом, неклассифицируемых, которые по морфологической, иммуногистохимической и молекулярно-генетической характеристикам занимают промежуточное положение между ДВКЛ и лимфомой Беркитта. Все эти случаи, а также ДН или ТН лимфомы, наряду с MYC+ ДВКЛ, имеют крайне неблагоприятное течение – медиана выживаемости больных составляет от 2 до 18 месяцев.

Если морфологический субстрат, характерный для диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы, содержит очаги некроза, участки ангиоцентрического роста, крупные одно-, двоядерные клетки с крупными ядрышками, напоминающие клетки Ходжкина и Березовского-Рид-Штернберга, необходимо использовать панель маркеров: CD20, CD30, EBER (ISH) для выделения диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы, EBV-ассоциированной.

Лимфома из клеток мантии

Лимфома из клеток мантии (син.: из мантийных клеток) – это В-клеточная лимфома из мелких клеток с, как правило, агрессивным течением. При гистологическом исследовании необходимо учитывать клеточный состав и характер роста опухоли. При «классическом» цитологическом варианте (>80% случаев) опухолевый субстрат представлен клетками мелких и средних размеров с узкой цитоплазмой и ядрами неправильной формы. По форме ядер и структуре хроматина клетки близки к центроцитам. Крупные клетки отсутствуют. Реже встречается полиморфный/бластоидный вариант, в этом случае клетки имеют различные, в т.ч. крупные, размеры или напоминают лимфобласты.

Различают нодулярный (в т.ч. мантийный), диффузно-нодулярный и диффузный типы роста опухоли. При мантийном росте опухоль замещает мантийную зону фолликулов, центр которых представлен реактивной популяцией клеток.

Иммунофенотип лимфомы из клеток мантии в большинстве случаев характеризуется интенсивной экспрессией В-линейных антигенов (в т.ч. CD20), CD5, CD43, отсутствием CD10 и CD23. В части случаев наблюдается экспрессия CD38. При проточной цитометрии обнаруживается экспрессия FMC7, а CD200 отсутствует (дифференциальный диагноз с ХЛЛ); кроме того, в ряде случаев клетки слабо экспрессируют CD23. Опухоль характеризуется транслокацией t(11;14), которая имеет патогенетическое значение, т.к. обуславливает экспрессию циклина D1 (ядерная реакция). В редких случаях лимфомы из мантийных клеток указанная транслокация отсутствует, тем не менее, опухоли имеют характерный для ЛКМ профиль экспрессии генов. Основным диагностическим маркером, позволяющим циклин D1-негативные варианты отнести к лимфоме из клеток мантии, является гиперэкспрессия SOX11 в опухолевых клетках (клон MRQ-58, ядерная реакция).

В 85-90% случаев опухоль имеет агрессивное течение с обширным вовлечением в опухолевый процесс лимфатических узлов и экстранодальных тканей. В 10-15% случаев течение опухоли индолентное, в таких наблюдениях обычно отсутствует экспрессия SOX11, но обнаруживаются соматические мутации в генах *IgVH*. Часто отмечается спленомегалия и умеренный лейкоцитоз. По клиническому течению индолентный вариант ЛКМ напоминает В-клеточный хронический лимфолейкоз без выраженной лимфаденопатии и вовлечения экстранодальных органов («лейкемическая ненодальная ЛКМ»).

Во всех иммунологически сомнительных случаях (например, отсутствие CD5, наличие CD23 или слабая экспрессия CD20) целесообразно выполнять цитогенетическое исследование для определения t(11;14). Прогноз зависит от цитологического варианта опухоли (хуже при плеоморфном/бластоидном типе) и пролиферативного индекса (по Ki-67, пороговое значение – 30%).

Лимфома Беркитта

Лимфома Беркитта представляет собой В-клеточную лимфому с диффузным ростом мономорфных клеток среднего размера с округлыми ядрами, высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, выраженными морфологическими признаками апоптоза. Типична картина «звездного неба» (макрофаги с фрагментами апоптотических телец в цитоплазме).

Опухоль имеет иммунофенотип CD20+, CD10+, CD38+, BCL-6+, BCL-2-, CD44-, TdT-, CD3-, EBER (ISH)-/+. Индекс пролиферативной активности опухолевых клеток Ki-67 приближается к 100%. В редких случаях часть опухолевых клеток слабо экспрессирует BCL-2 (цитоплазматическая реакция). Экспрессия MUM.1 (ядерная реакция) часто ассоциирована с EBER+, HIV+.

Диагноз лимфомы Беркитта требует обязательного проведения цитогенетического/FISH исследования для выявления транслокации *c-myc/IgH*, и исключения реаранжировок генов *BCL-2*, *BCL-6*.

Признаком, свидетельствующим о высокой вероятности реаранжировки гена *c-MYC*, является экспрессия белка *c-MYC* (клон Y69/EP121) в 100% опухолевых клеток с интенсивным ядерным окрашиванием.

Лимфома с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неуточненная (ТКЛПн)

ТКЛПн представляет собой группу неходжкинских лимфом различного гистологического строения, не обладающих специфическими признаками, которые позволили бы отнести эти опухоли к любой иной из форм Т-клеточных лимфом, перечисленных в классификации ВОЗ. Эпитет «неуточненная» подчеркивает отсутствие специфических гистологических и иммунофенотипических характеристик. Этот диагноз используется тогда, когда все другие формы ТКЛП были исключены. Морфологическое строение ТКЛПн довольно разнообразно. Цитологически описано множество вариантов. Чаще всего преобладают клетки среднего и крупного размера с неправильной формой ядер, хроматин бывает мелкодисперсным или гиперхромным, в крупных клетках прослеживаются ядрышки. В части наблюдений основную массу составляют клетки мелкого размера. Полиморфный инфильтрат включает реактивные элементы (эозинофильные гранулоциты, плазматические клетки, эпителиоидные гистиоциты). Если в опухолевом инфильтрате присутствуют многочисленные эпителиоидные гистиоциты, образующие кластеры, то такая морфологическая картина соответствует так называемому лимфоэпителиоидному типу ТКЛПн - лимфоме Леннерта. Выделяется и другой морфологический вариант – лимфома Т-зоны, гистологической особенностью которого является межфолликулярный тип роста на фоне сохраненных или даже гиперплазированных лимфоидных фолликулов. В подавляющем большинстве случаев ТКЛПн имеет иммунофенотип CD4+/CD8-, вариант CD4-/CD8+ встречается приблизительно - в 6-12% случаев. Часто отмечается aberrантная утрата одного или нескольких пан-Т-клеточных антигенов (CD2, CD3, CD5, CD7).

Ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома (АИТЛ)

Неопухолевым аналогом АИТЛ считается субпопуляция Т-лимфоцитов – Т-хелперы фолликулярного центра (Т_{ФН}). Они имеют уникальный фенотип, экспрессируя наряду с Т-клеточными антигенами, маркеры, характерные для В-лимфоцитов герминального центра - BCL6 и CD10. Их биологическая роль заключается в выработке хемокинов (CXCR5 и CXCL13), индуцирующих пролиферацию фолликулярных дендритических клеток и миграцию В-лимфоцитов в лимфатический узел за счет усиления их адгезии к эндотелию венул, что облегчает прохождение В-

лимфоцитов через сосудистую стенку. Таким образом, АИТЛ является лимфомой с фенотипом T_{FH} , ассоциированной с В-клеточной пролиферацией.

АИТЛ характеризуется стиранием рисунка строения лимфатического узла, однако могут быть видны небольшие сохранившиеся фолликулы. Опухолевый диффузный инфильтрат имеет полиморфный характер и состоит из Т-лимфоидных клеток мелкого и среднего размера, обычно имеющих светлоокрашенную или оптически пустую цитоплазму с четкими границами клеток. Опухолевые лимфоидные клетки перемешаны с мелкими реактивными Т-лимфоцитами, эозинофильными гранулоцитами, гистиоцитами, плазматическими клетками, отмечается пролиферация фолликулярных дендритических клеток (хорошо визуализируется с помощью антитела к CD21, иногда следует дополнительно использовать антитела к CD23 или CD35), встречаются малочисленные иммунобласты. Типичным гистологическим признаком является пролиферация посткапиллярных венул, которые образуют разветвленную сеть. Опухолевые клетки экспрессируют CD3, CD4, CD10, BCL-6, CD279 (PD-1), CXCL13, CD278 (ICOS), т.е. имеют иммунофенотип, характерный для T_{FH} . Крупные активированные клетки с морфологией центробластов/иммунобластов, входящие в состав реактивного микроокружения опухоли, имеют В-клеточный фенотип и содержат вирус Эпштейна-Барр. В редких случаях эти клетки могут быть источником трансформации в В-клеточную крупноклеточную лимфому. Как правило, выражена В-клеточная CD20+ популяция в виде разного размера дезорганизованных предсуществующих фолликулов.

Анапластическая крупноклеточная лимфома (АККЛ)

АККЛ представляет собой две различные нозологические формы – АККЛ, ALK+ и АККЛ, ALK-, ключевое различие между которыми заключается в наличии или отсутствии экспрессии ALK протеина. Экспрессия ALK происходит чаще всего (более 75% ALK+ АККЛ) в составе химерного белка ALK-NPM - продукта химерного гена, который образуется в результате транслокации между хромосомами 2 и 5. Лocus p23 на хромосоме 2 кодирует киназу анапластической лимфомы (ALK), а locus q35 5-й хромосомы содержит ген нуклеофосмина (NPM), кодирующий кислый фосфопротеин, который локализуется в ядре и в зоне расположения ядрышковых организаторов. Белок ALK в норме выявляется только в нервной ткани, и обнаружение его при лимфоме свидетельствует об aberrантной экспрессии гена, в большинстве случаев обусловленной транслокацией t(2;5).

Основной морфологической чертой АККЛ является наличие «диагностических» клеток – клеток с эксцентрично расположенным ядром подковообразной или почкообразной формы и эозинофильно окрашенной зоной в парануклеарной области цитоплазмы. На ранних стадиях заболевания опухоль поражает лимфатический узел частично, нередко отмечается рост опухолевых клеток в синусах, что имитирует метастатический рак.

Важнейшим критерием диагностики АККЛ (ALK+ или ALK-) является яркая – практически мономорфная – экспрессия CD30. В опухолевых клетках выявляется один или более Т-клеточных антигенов – CD2, CD3, CD5, CD7, CD8, CD4, CD43, хотя возможна утрата части или даже всех из них. Это приводит к тому, что до 30-50% опухолей, по данным иммуногистохимического исследования, имеет «нулевой» фенотип. В клетках опухоли обнаруживается экспрессия цитотоксических молекул - TIA-1, гранзима В и перфорины.

Экстранодальная НК/Т-клеточная лимфома, назальный тип

НК/Т-клеточная лимфома, назальный тип – опухоль, аналогом которой считают активированные НК-клетки или цитотоксические Т-лимфоциты. Название «назальный тип» обусловлено частой первичной локализацией опухоли в срединных структурах лицевого черепа (устаревшее название: «летальная срединная гранулема»). Опухоль также часто поражает кожу, легкие, тонкую кишку, почки. Лимфома характеризуется диффузным ростом, нередко в сочетании с ангиоцентрическим (инфильтрация сосудистой стенки) и ангиодеструктивным (разрушение сосудов) компонентами. Поражение кровеносных сосудов приводит к массивным ишемическим некрозам ткани опухоли. Эти морфологические особенности могут привести к ошибочной диагностике гранулематоза Вегенера. Опухоль характеризуется экспрессией CD2, CD3 (цитоплазматическая), CD56+/-, TIA-1; отсутствует экспрессия CD4, CD5, CD8, CD16, CD57. Для этой опухоли типична ассоциация с вирусом Эпштейна-Барр, выявление которого методом гибридизации in situ (CISH EBER) необходимо для диагностики этой лимфомы.

Т-клеточная лимфома, ассоциированная с энтеропатией (EATL)

EATL определяется как опухоль из интраэпителиальных Т-лимфоцитов с преимущественным поражением тонкой кишки, агрессивным течением и плохим прогнозом. При макроскопическом исследовании обычно обнаруживаются множественные участки утолщения слизистой оболочки (позже – других слоев стенки кишки) с изъязвлением. В классификации ВОЗ 2008 г. были выделены два типа EATL. Первый («классическая» EATL) представляет собой полиморфный пролиферат с большим количеством крупных клеток с округлыми или неправильной формы ядрами, хроматином везикулярного типа и четкими ядрышками. Цитоплазма опухолевых клеток довольно широкая. Характерны наличие полей некроза и значительная примесь клеток реактивного инфильтрата (гистиоцитов, эозинофильных лейкоцитов и т.п.). EATL типа II, напротив, представляет собой мономорфный пролиферат из клеток мелких и средних размеров, с округлыми ядрами, содержащими конденсированный хроматин, без ядрышек. Цитоплазма узкая, светлая.

В новой редакции классификации ВОЗ 2016 г. термин «Т-клеточная лимфома, ассоциированная с энтеропатией» сохранен только за «классическим» вариантом EATL, а EATL II типа выделена в качестве самостоятельной нозологической формы и обозначена как «мономорфная эпителиотропная интестинальная Т-клеточная лимфома (MEITL)».

Обе опухоли развиваются из интраэпителиальных Т- (Т/NK-) лимфоцитов кишки (CD103+), но имеют существенные различия. Так, EATL встречается значительно чаще, преобладает в Европе, клинически и патогенетически ассоциирована с целиакией; MEITL преобладает в Азии, не связана с целиакией, как правило, не сопровождается картиной энтеропатии. Иммунофенотип обеих опухолей соответствует активированным цитотоксическим клеткам с утратой CD5, однако коэкспрессия CD8 и CD56 наблюдается в более 85% MEITL и не характерна для EATL. При EATL на опухолевых клетках часто наблюдают гетерогенную экспрессию CD30. Спектр генетических aberrаций при EATL и MEITL сопоставим, однако частота отдельных мутаций различается.

Дифференциальная диагностика Т-клеточных (гастро-)интестинальных лимфом исключительно сложна. Необходим комплексный подход, включающий оценку особенностей структуры клеток, гистоархитектоники, определение иммунофенотипа и молекулярно-генетические данные. Определяющее значение имеет клиническая картина (темпы прогрессии заболевания, ответ на терапию): в частности, мономорфная пролиферация клеток с фенотипом Т- или Т/НК-клеток, ограниченная собственной пластинкой слизистой оболочки, может быть субстратом индолентных Т- и НК-клеточных лимфопролиферативных заболеваний, не требующих интенсивного лечения.

Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз.

Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз – это опухоль с фенотипом зрелых посттимических Т-лимфоцитов, с агрессивным течением и плохим прогнозом.

Субстратом опухоли являются клетки мелких и средних размеров с неширокой негранулированной базофильной цитоплазмой и ядрами различной, в т. ч. неправильной, формы, содержащими ядрышко. Опухолевые клетки обнаруживаются в костном мозге и периферической крови, характерен высокий лейкоцитоз ($>100 \times 10^9/\text{л}$, более 90% составляют пролимфоциты). Наблюдаются гепатоспленомегалия, умеренная лимфаденопатия, иногда поражение кожи. Иммунофенотипирование проводится с помощью проточной цитометрии и иммуногистохимического исследования. Опухолевые клетки экспрессируют CD3 (иногда отсутствует), CD2, CD5, CD7, TCL-1, экспрессии TdT и CD1a нет. Клетки чаще CD4-позитивны, однако возможна экспрессия CD8 и коэкспрессия CD4 и CD8. Обязательным является молекулярно-генетическое исследование с целью оценки статуса генов *TCR* и выявления Т-клеточной клональности.

Лимфоцитарная лимфома

Гистологический диагноз лимфоцитарной лимфомы устанавливается при наличии диффузного лимфоидного пролиферата из мономорфных клеток небольшого размера с округлыми ядрами, комковатым хроматином, в зависимости от условий фиксации – без/с неотчетливыми ядрышками, с тонкостенными сосудами капиллярного/венулярного типа; обычно разрозненно расположены крупные клетки с морфологией параиммунобластов, иногда присутствуют псевдофолликулы (пролиферативные центры).

При иммуногистохимическом исследовании лимфоидный пролиферат характеризуется экспрессией CD20 (гетерогенная по интенсивности, преимущественно слабая мембранная реакция), CD79a, IgM, ядерной экспрессией PAX 5, LEF1 (ядерная реакция), коэкспрессией CD5 (мембранная реакция) и CD23 (мембранная реакция), CD43 при отсутствии экспрессии CD10, BCL-6, Cyclin D1. Экспрессия LEF1 (ядерная экспрессия) более интенсивно выражена в клетках пролиферативных центров, в клетках с морфологией пролимфоцитов. Для клеток пролиферативных центров характерна более интенсивная экспрессия CD20, IgM, LEF1, иногда часть клеток псевдофолликулов (пролиферативных центров) экспрессирует cyclin D1 – слабая ядерная реакция, без t(11;14). Индекс пролиферативной активности Ki-67 – невысокий, обычно составляет 5-15% позитивных клеток в зонах диффузного мелкоклеточного инфильтрата. При

иммуногистохимическом исследовании на парафиновом материале может отсутствовать экспрессия CD5 (до 20-25% случаев). Экспрессией BCL-2 характеризуются все варианты мелкоклеточных В-клеточных лимфом, коэкспрессия IgM и IgD характерна для лимфоцитарной лимфомы и лимфомы из клеток мантии.

Экспрессия LEF1 характерна для лимфоцитарной лимфомы с трансформацией в диффузную В-клеточную крупноклеточную лимфому (синдром Рихтера) и позволяет провести дифференциальную диагностику с CD5+ диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой.

Лимфоплазмочитарная лимфома/ макроглобулинемия Вальденстрема (МВ)

Лимфоплазмочитарная лимфома – это В-клеточная опухоль, образованная мелкими лимфоцитоподобными клетками, лимфоидными клетками с плазмочитарной дифференцировкой, плазматическими клетками, нередко с вовлечением костного мозга. Морфологически лимфоплазмочитарная лимфома и МВ имеют идентичный опухолевый субстрат. Макроглобулинемия Вальденстрема характеризуется лимфоплазмочитарной инфильтрацией костного мозга, лимфоидной ткани с моноклональной секрецией IgM. Решающее значение в дифференциальной диагностике имеют клиническая картина (в частности, отсутствие выраженной лимфаденопатии при верифицированном поражении костного мозга), наличие и уровень М-парапротеина. При установлении диагноза МВ должны присутствовать следующие признаки:

1. моноклональный IgM (независимо от уровня парапротеина);
2. инфильтрация костного мозга малыми лимфоцитами, лимфоплазмочитоидными клетками и плазматическими клетками (диффузная, интерстициальная или нодулярная).

Иммунофенотип опухолевых клеток при лимфоплазмочитарной лимфоме/МВ идентичен иммунофенотипу клеток В-клеточной лимфомы из клеток маргинальной зоны: CD19+, CD20+, CD22+, sIgM+/IgA/IgG. При лимфоплазмочитарной лимфоме в ЛУ чаще, чем при В-клеточной лимфоме из клеток маргинальной зоны, можно иммуногистохимически выявить рестрикцию легких цепей, экспрессию IgM, IgA (цитоплазматическая, мембранная реакция), редко - IgG. В 10-20% случаев может быть экспрессия CD5, CD10, CD23, что не исключает диагноза лимфоплазмочитарной лимфомы/МВ. Для проведения дифференциальной диагностики с В-клеточной лимфомой из клеток маргинальной зоны с секрецией М-парапротеина, имеющей сходный иммунофенотип, дополнительно рекомендуется молекулярное исследование для выявления mutMYD88. Отсутствие мутации исключает диагноз лимфоплазмочитарной лимфомы/МВ.

Стадирование, формулирование диагноза

Распространенность процесса

Определение стадии у больных лимфомами (за исключением указанных особо) осуществляется на основании классификации Ann Arbor в модификации Cotswold (табл. 2).

Формулирование диагноза

При формулировании диагноза необходимо указать:

- название болезни в соответствии с морфологической классификацией ВОЗ 2016 г., вариант заболевания при его наличии (морфологический или цитологический вариант, тип и т.д.)²;
- стадию заболевания с учетом В-симптомов и других факторов риска, с указанием всех зон поражения. При поражении парных органов указывается, какой из них поражен;
- Группу риска и/или прогностическую группу с указанием используемого прогностического индекса (IPI, FLIPI и т.д. – см. разделы, посвященные соответствующему заболеванию);
- Осложнения, обусловленные заболеванием.

Таблица 2

Классификация лимфом Ann Arbor, модификация Cotswold

Стадия I	<ul style="list-style-type: none"> • Поражение одной лимфатической зоны (рис. 1) или структуры³ • Локализованное поражение одного экстралимфатического органа или ткани в пределах одного сегмента
Стадия II	<ul style="list-style-type: none"> • Поражение двух или более⁴ лимфатических зон по одну сторону диафрагмы • Локализованное в пределах одного сегмента поражение одного экстралимфатического органа или ткани и его регионарных лимфатических узлов с или без поражения других лимфатических областей по ту же сторону диафрагмы
Стадия III	<ul style="list-style-type: none"> • Поражение лимфатических узлов или структур по обе стороны диафрагмы⁵ • Локализованное в пределах одного сегмента поражение одного экстралимфатического органа или ткани и его регионарных лимфатических узлов с поражением других лимфатических областей по обе стороны диафрагмы
Стадия IV	<ul style="list-style-type: none"> • Диссеминированное (многофокусное) поражение одного или нескольких экстралимфатических органов с или без поражения лимфатических узлов • Изолированное поражение экстралимфатического органа с поражением отдаленных (не регионарных) лимфатических узлов • Поражение печени и/или костного мозга
Для всех стадий	
A	<ul style="list-style-type: none"> • Отсутствие признаков В-стадии
В ⁶	Один или более из следующих симптомов: <ul style="list-style-type: none"> • Лихорадка выше 38°C не менее трех дней подряд без признаков воспаления • Ночные профузные поты

² Указание на редко диагностируемые первичные экстранодальные варианты, нетипичные иммунофенотипические и молекулярные варианты, обуславливающие изменение терапевтической стратегии, также могут быть включены в диагноз.

³ К лимфатическим структурам относят лимфатические узлы, селезенку, вилочковую железу, кольцо Вальдейера, червеобразный отросток, пейеровы бляшки.

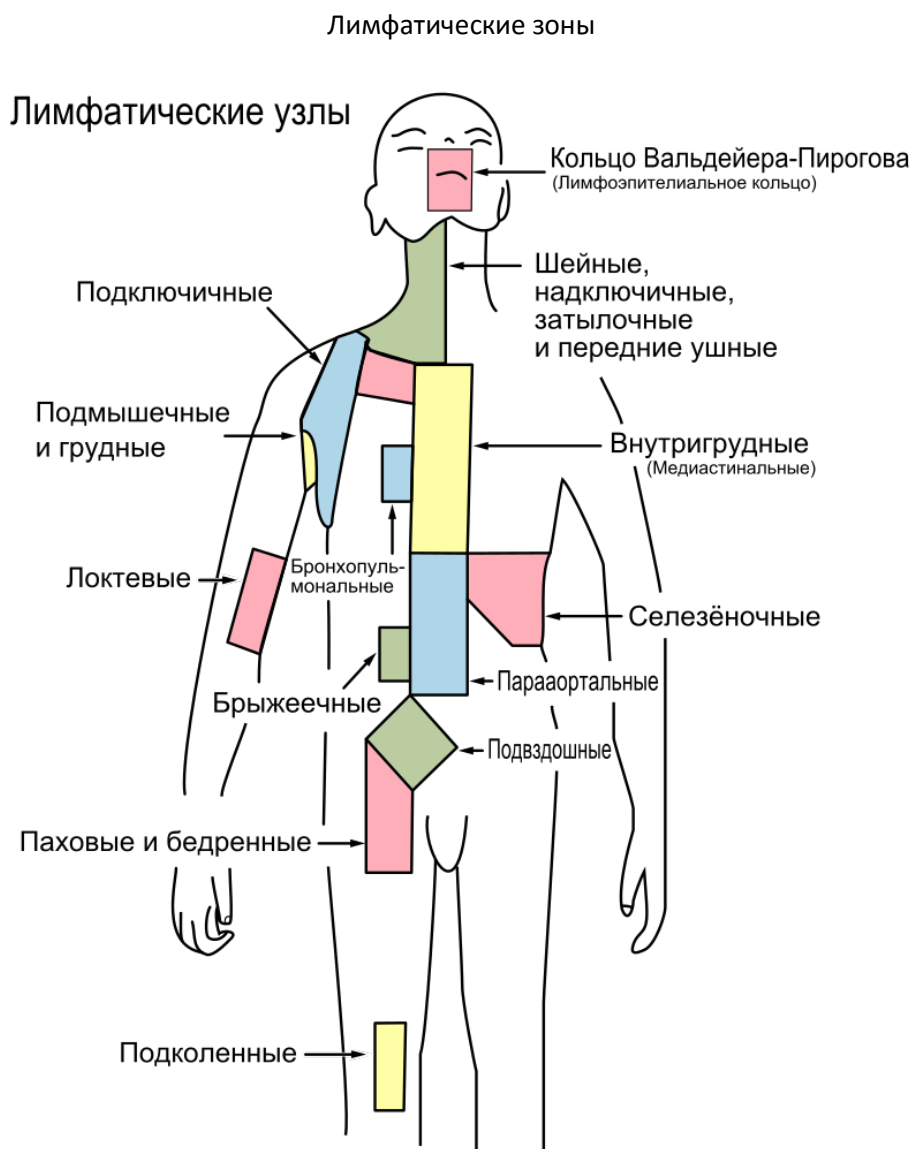
⁴ При лимфоме Ходжкина для второй стадии необходимо дополнительно арабской цифрой указывать количество пораженных лимфатических зон (рис. 1) (например, стадия II₄).

⁵ Рекомендуется различать стадию III₁, с поражением верхних абдоминальных лимфатических узлов (ворота печени, селезенки, чревные л/у), и стадию III₂, с поражением забрюшинных лимфузлов.

⁶ Кожный зуд исключен из симптомов интоксикации.

	<ul style="list-style-type: none"> Похудание на 10% массы тела за последние 6 месяцев
E	<ul style="list-style-type: none"> Локализованное экстранодальное поражение (при I-III стадиях)
S	<ul style="list-style-type: none"> Поражение селезенки (при I-III стадиях)
X	<ul style="list-style-type: none"> Массивное (bulky) опухолевое поражение – очаг более 10 см в диаметре или медиастинально-торакальный индекс⁷ более 1/3

Рисунок 1



План обследования больного

- Клиническое обследование

⁷ Медиастинально-торакальный индекс – отношение ширины срединной тени в самом широком месте к диаметру грудной клетки в самом широком ее месте – на уровне Th5-6 на стандартных прямых рентгенограммах.

- Сбор анамнеза (в т. ч. семейного)
- Физикальный осмотр, в т. ч. пальпация всех доступных пальпации групп периферических лимфатических узлов, печени, селезенки, осмотр миндалин и полости рта
- Определение наличия В-симптомов
- Определение статуса по ECOG:
 0. полностью активен, способен переносить нагрузки в том же объеме, что и до начала заболевания;
 1. ограничен в выполнении интенсивных физических нагрузок, но свободно передвигается и может выполнять легкую или сидячую работу – легкую работу по дому, работу в офисе;
 2. свободно передвигается и в состоянии себя обслуживать, но не может выполнять какую-либо работу. Проводит в постели меньше половины светлого времени суток;
 3. возможность себя обслуживать ограничена. Проводит в постели большую часть светлого времени суток;
 4. не в состоянии себя обслуживать. Прикован к постели или креслу.
- Лабораторные методы исследования
 - Развернутый клинический анализ крови с подсчетом лейкоцитарной формулы и количества ретикулоцитов
 - Общий анализ мочи
 - Биохимический анализ крови (ЛДГ, мочева кислота, мочевины, креатинин, общий белок, альбумин, билирубин, АСТ, АЛТ, щелочная фосфатаза, электролиты, кальций)
 - Коагулограмма
 - Электрофорез белков сыворотки крови
 - Определение группы крови, резус-фактора
 - Определение маркеров вирусных гепатитов В и С, ВИЧ
 - У женщин детородного возраста – тест на беременность
- Методы лучевой диагностики
 - Рентгенография органов грудной клетки (при невозможности выполнения КТ – в двух проекциях)
 - КТ шеи, грудной клетки, органов брюшной полости и малого таза с контрастированием
 - УЗИ периферических лимфатических, внутрибрюшных и забрюшинных узлов и органов брюшной полости может использоваться для контроля за лечением, но не является стандартом при установлении стадии заболевания и при оценке эффективности лечения
- Цитологическое и гистологическое исследование костного мозга
- ЭКГ и Эхо-КГ
- Эндоскопическое исследование желудка

При наличии показаний также могут выполняться:

- Лабораторные методы исследования
 - Исследование β -2 микроглобулина
 - Прямая проба Кумбса
- Методы лучевой диагностики
 - Рентгенография костей скелета, сцинтиграфия костей скелета

- КТ или МРТ головного мозга
- ПЭТ

Так как химиотерапия и облучение области таза могут привести к необратимой стерильности пациента, со всеми больными детородного возраста обоих полов целесообразно обсуждать вопрос о возможности криоконсервации спермы или ткани яичника перед началом терапии.

С женщинами детородного возраста следует обсуждать вопрос о необходимости гормональной защиты от беременности, а также о методах возможной гормональной защиты яичников при проведении интенсивных программ лечения.

Определение эффективности лечения

Оценку эффективности лечения следует проводить в середине (после 2-3 цикла химиотерапии) и после индукционного курса лечения, а также после завершения всей программы лечения (химио- или химиолучевой терапии, поддерживающей терапии и т. д.)⁸. Обследование пациента должно обязательно включать тщательный осмотр, клинические анализы, полное исследование методами лучевой диагностики, применявшимися до начала лечения.

Полная ремиссия (ПР):

1. Полное исчезновение всех проявлений заболевания, в том числе выявляемых при помощи лабораторных и лучевых методов диагностики, а также клинических симптомов, если они имели место до начала лечения.
2. Размеры лимфатических узлов:
 - a. $\leq 1,5$ см по наибольшему диаметру, если до начала лечения размеры лимфатических узлов были больше 1,5 см
 - b. $\leq 1,0$ см по наибольшему диаметру, если до начала лечения размеры лимфатических узлов были 1,5 – 1,1 см
3. Печень, селезенка, если были увеличены до начала лечения, не пальпируются, по данным лучевых методов объемные образования в них не выявляются.
4. Костный мозг без признаков опухолевого поражения. Если результат морфологического исследования костного мозга неоднозначный, наличие или отсутствие поражения должно определяться иммуногистохимически.

ПР считается подтвержденной, если достигнутый эффект сохраняется не менее 2 недель или констатируется дальнейшее улучшение.

Неуверенная полная ремиссия (ПРН):

1. Остаточные изменения, выявляемые только при помощи лучевых методов исследования (особенно это касается остаточных объемных образований в месте массивного опухолевого

⁸ Дополнительное обследование в процессе индукционного курса для оценки эффекта терапии проводится при наличии показаний – подозрении на недостаточную эффективность или при выраженном эффекте – в случаях возможного сокращения объемов лечения.

поражения, чаще всего в средостении), в случае сокращения опухоли более чем на 75% от исходных размеров по сумме двух наибольших её диаметров. Эти остаточные изменения не должны увеличиваться в течение более чем 3 месяцев.

2. По другим показателям – соответствие критериям полной ремиссии.

Частичная ремиссия (ЧР):

1. Уменьшение суммы диаметров всех измеряемых очагов (лимфоузлов и/или очагов экстранодального поражения) не менее чем на 50%. Если размеры пораженных очагов менее 3 см по наибольшему диаметру, то 2 наибольших очага должны уменьшиться не менее, чем на 50% по наибольшему диаметру. При наличии более чем 6 очагов поражения более 3 см, достаточна оценка 6 наибольших очагов, доступных четкому измерению в двух перпендикулярных направлениях. При наличии медиастинальных и/или ретроперитонеальных очагов поражения, они обязательно должны учитываться при измерении.
2. Отсутствие новых очагов поражения, отсутствие признаков увеличения какого-либо из ранее диагностированных очагов поражения.
3. В случае исходного поражения костного мозга, статус костного мозга для определения ЧР не значим. Однако при сохранении поражения костного мозга в процессе и/или после завершения лечения, обязательно уточнение характеристики опухолевых клеток. Больные с исходным поражением костного мозга, у которых после завершения лечения клинически диагностируется ПР, но при этом сохраняется поражение костного мозга или костный мозг не может быть оценен, относятся к ЧР.

Стабилизация (Ст)

Показатели опухоли не соответствуют ни критериям ПР или ЧР, ни критериям прогрессирования.

Рецидив (после ПР) или прогрессирование (после ЧР или Ст)

1. Появление новых очагов (увеличение лимфатических узлов или объемных образований экстранодальных локализаций) более 1,5 см в наибольшем измерении в процессе или после завершения лечения, вне зависимости от изменения размеров других очагов поражения.
2. Увеличение как минимум одного уже известного очага более чем на 25% от минимального. Для очагов менее 1 см в наибольшем измерении – увеличение до 1,5 см и более.