

Ю. А. Криволапов, Е. Е. Леенман

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ
ДИАГНОСТИКА ЛИМФОМ

Санкт-Петербург
КОСТА
2006

УДК 616-006.441
ББК 55.6

Ю. А. Криволапов, Е. Е. Леенман.

Морфологическая диагностика лимфом. — СПб.: «Издательско-полиграфическая компания «КОСТА», 2006. — 208 с.: ил.

ISBN 5-91258-007-5

Об авторах

Юрий Александрович Криволапов — заведующий отделом иммуногистохимических исследований Ленинградского областного патологоанатомического бюро, доктор медицинских наук.

Елена Ефремовна Леенман — ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногистохимии Центрального научно-исследовательского рентгенорадиологического института, кандидат медицинских наук.

ISBN 5-91258-007-5

© Ю. А. Криволапов, Е. Е. Леенман,
текст, 2006

© Ю. А. Криволапов, рисунки, 2006

*Посвящается памяти
И. А. Чалисова*

МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ЛИМФОМ

Морфологическая диагностика опухолей лимфоидной ткани является одним из наиболее сложных разделов частной онкоморфологии. Особенности этой группы новообразований (многообразие нозологических форм, близость гистологических проявлений отдельных вариантов лимфом, морфологическое сходство некоторых реактивных процессов и опухолей лимфоидной ткани и цитологическое сходство нормальных и опухолевых лимфоцитов, а также неоднозначный или aberrантный иммунофенотип опухолевых элементов) определяют способы получения и исследования биопсийного материала.

Материал для морфологического исследования лимфатического узла может быть получен с помощью аспирационной биопсии (взвесь клеток), пункционной биопсии (столбик ткани), открытой инцизионной биопсии (фрагмент лимфатического узла) и открытой эксцизионной биопсии (весь лимфатический узел или конгломерат лимфатических узлов).

Тонкоигольная аспирационная биопсия лимфатического узла позволяет провести цитологическую диагностику метастазов рака и получить материал для микробиологического исследования при инфекционных процессах. Исследование пунктата при лимфопрлиферативных заболеваниях не должно быть единственным методом морфологической диагностики. Значительное морфологическое сходство нормальных и опухолевых лимфоидных клеток, невозможность исследовать тканевую архитектуру не позволяют в подавляющем большинстве случаев с помощью цитологического исследования установить нозологический диагноз опухоли лимфоидной ткани.

При пункционной биопсии получают столбик ткани, размеры которого зависят от технических характеристик пункционной

иглы и навыков врача, выполняющего манипуляцию. Объем биоптата должен быть достаточным для проведения гистологического исследования. Пункционная биопсия, проводимая под контролем лучевых методов визуализации (УЗИ, рентгеновская компьютерная томография), в некоторых случаях бывает единственным способом получения фрагмента опухоли для гистологического исследования из труднодоступных мест (забрюшинное пространство и др.).

Морфологический диагноз опухоли лимфоидной ткани должен основываться на гистологическом и иммуногистохимическом исследовании биоптата, полученного при эксцизионной или инцизионной биопсии лимфатического узла.

Диагностика лимфом в первую очередь базируется на данных морфологии, поэтому правильная фиксация и проводка, изготовление тонких срезов, хорошее окрашивание являются обязательными условиями, значение которых нельзя недооценивать. Приведенные ниже рекомендации отражают многолетний опыт авторов. Предлагаемые методики могут быть легко внедрены в повседневную практику любой патологоанатомической лаборатории, ставящей перед собой задачи улучшения качества диагностики не только лимфом, но и любых других патологических процессов.

1. МЕТОДЫ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ БИОПСИЙНОГО И ОПЕРАЦИОННОГО МАТЕРИАЛА

Фиксация. Оптимальными фиксаторами являются цинк-формалин и нейтральный забуференный формалин, которые обеспечивают сохранение антигенных детерминант для проведения иммуногистохимических исследований. Объем фиксирующей жидкости должен в 10–20 раз превышать объем фиксируемого объекта. Если биоптат был разрезан на фрагменты толщиной более 5–6 мм, его оставляют в фиксаторе на 2–3 часа для уплотнения, после чего рассекают на пластины толщиной не более 2–3 мм и помещают в свежий раствор фиксатора. Общее время фиксации при комнатной температуре (около 20°C) должно быть не менее 24 часов, даже для объектов небольшого размера. Недостаточная или чрезмерная длительность фиксации приводит к разрушению антигенов и практически исключает возможность проведения иммуногистохимического анализа.

Цинк-формалин:

| | |
|---|-------|
| Хлорид цинка | 500 г |
| Формалин (40%-ный водный раствор формальдегида) | 3 л |
| Ледяная уксусная кислота | 19 мл |
| Дистиллированная вода | 20 л |

Нейтральный забуференный формалин:

| | |
|---|--------|
| Формалин (40%-ный водный раствор формальдегида) | 100 мл |
| Фосфат натрия одноосновной, одноводный | 4 г |
| Фосфат натрия двуосновной, безводный | 6,5 г |
| Дистиллированная вода | до 1 л |

Обезвоживание и пропитывание парафином. Описанная ниже схема обработки тканей может быть использована как при работе с автоматическими процессорами, так и в ручной проводке. Обезвоживание осуществляется с помощью абсолютизированного изопропанола (изопропилового спирта, аИПА) 99,7%-ной концентрации, в который добавляется октилфеноксиполиэтоксизэтанол (Тритон X15, ТрХ15)[®] в соотношении 1 : 10 000 [1]. Для пропитывания обезвоженной ткани и приготовления блоков следует применять фильтрованный и пластифицированный парафин или готовые смеси импортного производства (парапласт):

| | | |
|--------------|------------|---------|
| аИПА + ТрХ15 | I смена | 1 час |
| аИПА + ТрХ15 | II смена | 2 час |
| аИПА + ТрХ15 | III смена | 3 час |
| аИПА + ТрХ15 | IV смена | 4 час |
| аИПА + ТрХ15 | V смена | 5 час |
| аИПА + ТрХ15 | VI смена | 5 час |
| аИПА + ТрХ15 | VII смена | 5 час |
| аИПА + ТрХ15 | VIII смена | 5 час |
| Парафин I | 60°C | 1,5 час |
| Парафин II | 60°C | 1 час |
| Парафин III | 60°C | 1 час |

Длительности обработки на каждом этапе, указанные выше, одинаковы как для проводки лимфатических узлов, так и для трепанобиопсий костного мозга.

Частота замены растворов зависит от объема обезвоживаемых тканей и подбирается эмпирически. Недостаточно частое обновление может привести к загрязнению изопропанола водой, что особенно опасно в последней смене (VIII), так как может препятствовать хорошему проникновению парафина в ткань, что приводит к резкому снижению качества гистологических срезов.

Указанный метод обезвоживания тканей абсолютизированным изопропанолом с добавкой Тритона X-15 позволяет добиться лучшего качества пропитывания тканей парафином, чем при использовании батареи этанола восходящей крепости, ксилола, бензола, ацетона, хлороформ-парафиновой «каши» и других жидкостей, растворяющих парафин, а также исключает контакт лаборантов с токсическими веществами.

Окраска срезов азур II–эозином (модификация Ю. А. Криволапова).

1. Срезы поместить на 30 мин в термостат при 56°С.
2. Удалить парафин с неостывших срезов инкубацией в двух сменах ксилола. Длительность одной инкубации 5–10 мин.
3. Гидратировать срезы в абсолютном этаноле, меняя его трижды, и поместить срезы в проточную воду.
4. Окрасить срезы гематоксилином Майера в течение 5 мин.
5. Дифференцировать окраску в соляно-кислом спирте до почти полного обесцвечивания ядер. Хроматин ядер должен быть при контроле препаратов под микроскопом слегка серым, а не буро-красным, как для обычной окраски гематоксисин-эозином.
6. Поместить срезы в проточную воду на 5–7 мин.
7. Поместить срезы в рабочий раствор азур II–эозина в сосуде Коплина или сосуде Хелендахела на 24 часа при комнатной температуре.
8. Поместить срезы в дистиллированную воду.
9. Дифференцировать окраску, помещая срезы по одному в слабый раствор уксусной кислоты (к 100 мл дистиллированной воды добавить 1–2 капли ледяной уксусной кислоты). Процесс дифференцировки проявляется отхождением синеватых облачков от срезов.
10. Процесс дифференцировки остановить, помещая срезы в водопроводную воду.
11. Очень быстро удалить воду со срезов абсолютизированным изопропанолом. Для этого достаточным количеством абсо-

лютизированного изопропанола с помощью объемной капельницы быстро смыть воду с каждого стекла по очереди.

12. Избыток изопропанола оставить на предметном стекле, поверх среза нанести несколько капель 1%-ного раствора эозина в 70%-ном этаноле (раствор, обычно используемый в методике окраски срезов гематоксилин-эозином).

13. Быстро покачивая стекло, перемешать изопропанол и раствор эозина над срезом. При этом со среза начнет отходить азур в виде синеватых струек, а в срез проникать эозин.

14. Когда срез станет синевато-сиреневым (но не розовым), быстро смыть смесь изопропанола и эозина несколькими порциями абсолютизированного изопропанола.

15. Смыть изопропанол достаточным количеством ксилола, заключить срезы в канадский бальзам.

Приготовление маточного раствора азур II–эозина:

7,5 г азура II растворить в 750 мл диметилсульфоксида.

1,25 г эозина К (эозин водорастворимый, эозин желтоватый, эозин Y) растворить в 250 мл диметилсульфоксида.

Оба раствора профильтровать и смешать. Полученная смесь азур II–эозина в диметилсульфоксиде хранится при комнатной температуре, срок годности не ограничен.

Для приготовления рабочего раствора азур II–эозина (для п. 7 методики окраски) маточный раствор азур II–эозина развести свежeproкипяченной и остуженной дистиллированной водой в соотношении 1 : 50.

II. МЕТОДЫ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ БИОПСИЙНОГО И ОПЕРАЦИОННОГО МАТЕРИАЛА

Иммуногистохимия — это метод выявления и определения точной локализации того или иного клеточного или тканевого компонента (антигена) в тканях *in situ* с помощью иммунологических и гистохимических реакций, в основе которого лежит реакция антиген–антитело [76]. В качестве антигена выступают молекулы клеточных структур (поверхностные гликопротеины лимфоцитов, структурные белки клеток, онкопротеины, вирусные белки, химерные протеины, образующиеся в результате цитогенетических поломок, и т. д.) или межклеточного вещества ткани. Антитела получают из сыворотки крови животных, иммуни-

зированных интересующим антигеном, или от культуры ткани гибридомы. Уникальность «гибридомной» технологии состоит в том, что все клетки в культуре ткани являются потомками единственной клетки и поэтому синтезируют абсолютно идентичные молекулы антител. Эти антитела называют моноклональными. В результате иммунизации животных из сыворотки получают поликлональные антитела, полипептидные цепочки которых отличаются друг от друга. Задачей гистохимических реакций является сделать продукт связывания антигена и антитела видимым для глаза, для чего используются метки разного типа. Флюоресцентные краски, которые широко использовались на первых этапах развития иммуногистохимии, сейчас используются преимущественно при анализе цитологического материала, особенно при проведении проточной цитофотометрии, а также при изучении аутоиммунных и иммунокомплексных заболеваний. В настоящее время при работе с гистологическими срезами тканей, прошедшими фиксацию в формалине и парафиновую заливку, в том числе лимфатических узлов, используются ферментные метки. Вызываемое ферментом химическое преобразование хромогена на конечном этапе иммуногистохимического анализа приводит к отложению в местах образования иммунного комплекса окрашенного продукта. Наиболее распространенной меткой является пероксидаза хрена и в качестве субстрата-хромогена — 3,3'-диаминобензидинатетрахлорид (ДАБ). Продукт полимерной природы коричневого цвета, образующийся в ходе реакции, нерастворим в органических растворителях, что позволяет заключать окрашенные срезы в оптически прозрачные среды (канадский бальзам, синтетические полимеры) и получать постоянные препараты, пригодные для длительного хранения.

Для иммуногистохимического исследования выбирают блок, ориентируясь на результаты исследования препаратов, окрашенных гематоксилин-эозином и азури II-эозином. Срезы толщиной 3–4 мкм наклеивают на чистые тонкие предметные стекла, обработанные адгезивом, например L-полилизином, что значительно снижает риск повреждения ткани в ходе последующих этапов обработки. Также можно использовать готовые сialiнизированные или позитивно заряженные предметные стекла, предлагаемые различными производителями.

Иммуногистохимическое исследование включает в себя комбинацию нескольких обязательных этапов, содержание которых критически влияет на качество препаратов.

1. Ингибирование эндогенной пероксидазы.

Эта стадия обеспечивает специфичность гистохимической реакции с хромогеном, используемым для выявления меченного пероксидазой комплекса антител в месте локализации антигена. Используется раствор перекиси водорода в метаноле или дистиллированной воде, истощающий активность эндогенных тканевых пероксидаз и каталаз, чтобы реакция с хромогеном выявляла только пероксидазную метку комплекса антиген–антитело. Хотя обработка перекисью водорода не влияет на сохранность большинства антигенов, необходимо учитывать возможность разрушения отдельных эпитопов, поэтому, например, при использовании антител CD4 (клон 1F6) этот этап иммуногистохимического анализа следует пропустить. При использовании в качестве ферментной метки щелочной фосфатазы для блокирования активности эндогенного фермента используется левамизол.

2. Демаскирование антигенов.

Фиксация тканей в альдегидных фиксаторах (в частности, в формалине) вызывает образование множественных перекрестных сшивок между тканевыми белками, что обеспечивает сохранность антигенов, но делает многие эпитопы недоступными для антител. Заливка ткани горячим парафином также в различной степени изменяет пространственную структуру белков. Хотя некоторые антигены (эпитопы) устойчивы к фиксации формалином и заливке в парафин, большинство из них теряет иммунологическую реактивность при гистологической обработке тканей. Восстановление антигенных детерминант может быть достигнуто путем обработки ткани протеолитическими ферментами (трипсин, протеиназа К, проназа, пепсин) или нагреванием срезов в буферах различной кислотности. Оптимальный метод восстановления антигенных детерминант определяется особенностями исследуемого антигена и должен быть подобран индивидуально.

Выбор конкретного фермента, концентрации, температурного режима и продолжительность обработки зависят от длительности фиксации ткани, природы антигена и подбираются в каждом случае опытным путем. Чрезмерно долгая инкубация с протеазами может привести к разрушению ткани.

Наиболее эффективным и воспроизводимым методом восстановления антигенной иммунореактивности является высокотемпературная обработка. Она может быть осуществлена в водяной бане, микроволновой печи или кастрюле-скороварке. Для стандартизации методики рекомендуется использовать такие модели водяных бань или скороварок, которые позволяют устанавливать и контролировать необходимые параметры обработки, которыми являются температура (для водяной бани) и температура и давление (для скороварки). При недоступности такой лабораторной техники возможно применение бытовой кастрюли-скороварки из нержавеющей стали, имеющей несколько режимов работы. Продолжительность обработки зависит от максимальной температуры, которая воздействует на ткани. Длительность экспозиции при использовании водяной бани (температура не ниже 95° С) колеблется от 30 до 40 мин, в микроволновой печи (100° С) она равна 20–25 мин, а в скороварке (120° С) – 3–4 мин при максимальном давлении. При использовании водяной бани следует иметь в виду, что погружение срезов в контейнер с буфером обычно приводит к снижению температуры, поэтому отсчет времени начинается только после того, как температура в контейнере вернется к 95° С. По окончании обработки срезы рекомендуется охлаждать при комнатной температуре в течение 15 мин, не вынимая из контейнера (скороварки) с буфером, в котором находились ткани.

При обработке в микроволновой печи необходимо заполнить термоустойчивый контейнер буфером (250 мл), погрузить в него стеклодержатель с тестируемыми срезами. Независимо от числа рабочих срезов необходимо заполнить стеклодержатель полностью, оставшиеся «пустые» места заполняются чистыми стеклами. Контейнер устанавливается в центр микроволновой печи, при использовании нескольких контейнеров они располагаются симметрично. На предварительном этапе работы с микроволновой печью нужно установить время, необходимое для достижения температуры кипения при максимальной мощности (обычно 760 Вт) в зависимости от числа контейнеров. В среднем оно может быть 3 мин при наличии 1 контейнера, 6 мин – для 2 и 9 мин для 3 контейнеров. При достижении температуры кипения мощность микроволновой печи уменьшают до 150–350 Вт, чтобы предотвратить избыточное испарение буфера, и цикл продолжается

еще 15 мин. По окончании обработки срезы охлаждают при комнатной температуре в течение 15 мин, а затем продолжают реакции согласно протоколу.

Важным моментом является выбор буфера, который будет воздействовать на ткани в ходе высокотемпературной обработки. Наиболее существенной характеристикой буфера является его кислотность. В работе иммуногистохимических лабораторий наибольшее распространение получили 10мМ цитратный буфер (рН 6,0), эффективный для восстановления большинства антигенов, и 0,01М TRIS/EDTA (рН 8,0 или 9,0). Применение буферов с высоким значением рН является методом выбора при работе с отдельными клонами антител, например, BCL-6 (P1F6), CD2 (NCL-CD2-271), CD4 (1F6), CD5 (4C7), CD15 (ММА). Их использование также может заметно усилить интенсивность иммуногистохимической реакции по сравнению с окрашиванием, полученным после обработки в буферах с низким значением рН, но нередко сопровождается ухудшением морфологии тканей, что особенно типично в случае их неоптимальной фиксации.

3. Обработка нормальной (неспецифической) сывороткой.

Основной причиной неспецифического фонового окрашивания является связывание первичных антител с компонентами ткани за счет гидрофобных и электростатических взаимодействий. При этом возникает равномерное фоновое окрашивание, которого удастся избежать предварительной обработкой срезов неиммунной сывороткой животного, донора вторых антител. Сыворотка блокирует большинство участков неспецифического связывания, не мешая специфическому взаимодействию первичных антител с антигеном. Вместо сыворотки в некоторых случаях используют раствор бычьего сывороточного альбумина (БСА). В этих же целях рабочие растворы антител готовят на 1%-ном растворе БСА или нормальной сыворотки. Перед нанесением первичных антител избыток сыворотки удаляют, но срезы не промывают. Обработка нормальной сывороткой особенно важна при применении поликлональных антител.

4. Выбор и разведение антител.

Выбор наиболее специфичного и чувствительного первичного антитела является одной из наиболее ответственных задач, стоящей перед патологоанатомом. Неверный выбор не только сопровождается дополнительными затратами, связанными

с приобретением новых реагентов, но, главное, может привести к постановке ошибочного диагноза. Информация о наиболее хорошо зарекомендовавших себя клонах и оптимальных протоколах в настоящее время доступна в Интернете.

Для получения оптимального окрашивания и предотвращения неспецифического связывания первичных антител с тканевыми структурами необходимо использовать адекватные концентрации. Оптимальные рабочие разведения, при которых достигается сильное специфическое окрашивание при минимальном окрашивании фона, определяют для каждого антитела в серии пробных титрований. Неадекватные разведения могут давать ложнопозитивные и ложнонегативные результаты. Альтернативным подходом является использование реактивов, готовых к употреблению. При приготовлении рабочих разведений большинства антител используется стандартный раствор в 1%-ном растворе БСА или нормальной сыворотки (рН 7,6), но для разведения отдельных реактивов (например, CD4, клон 1F6) рекомендуется использовать буфер с рН 6,0.

5. Инкубация срезов с антителами.

Во время инкубации растворы антител не должны испаряться со срезов, что достигается путем помещения стекол во влажную камеру.

6. Промывания.

Перед инкубацией в новом иммунном слое важно удалить все следы несвязавшихся антител путем тщательного промывания срезов между инкубациями в буферных растворах. Контейнеры со стеклами можно поместить на платформу лабораторного шейкера. После обработки адгезивом покровные стекла могут приобрести отрицательный электрический заряд, что препятствует равномерному распределению реагентов (капли антител «отталкиваются» от покровного стекла по окружности среза, что приводит к высыханию ткани и атрефактам окрашивания). Для избежания такого эффекта рекомендуется добавлять в промывочный буфер 0,05%-ный раствор Tween 20.

7. Визуализация результатов реакции с помощью хромогена.

Комплекс антиген–антитело выявляется гистохимической реакцией, включающей хромоген. Чем больше молекул пероксидазы вступает в реакцию, тем выше эффективность системы детекции. Широкое распространение получил стрептавидин-био-

тиновый метод, в настоящее время наиболее чувствительными являются полимерные системы визуализации. Более чувствительные системы позволяют увеличить титры разведения первичных антител и значительно сократить время, требуемое для постановки иммуногистохимических реакций. Выбор вторичного реактива для конкретной реакции определяется индивидуально в зависимости от чувствительности первичных антител, концентрации исследуемого антигена в тканях и типа исследуемой ткани. Активность эндогенного биотина, как правило, не создает существенных проблем, так как практически отсутствует в лимфоидной ткани. Однако это необходимо учитывать при диагностике экстранодальных лимфом и работе с такими органами, как щитовидная железа, почка или печень, имеющими высокую эндогенную активность биотина. Применение полимерных систем детекции в этих случаях является методом выбора. При выявлении экспрессии антигенов, которые присутствуют в избыточном количестве, например, внутрицитоплазматических иммуноглобулинов, применение сверхчувствительных реагентов нецелесообразно, так как может вызвать появление фонового окрашивания.

8. Контрольные реакции.

Каждое иммуногистохимическое исследование должно проводиться с постановкой положительного и отрицательного контролей, чтобы исключить вероятность получения ложнонегативных и ложнопозитивных результатов.

Отрицательный контроль исключает неспецифическое окрашивание. При этом на контрольный (параллельный) срез наносится либо неиммунная сыворотка, полученная от того же донора, что и первичные антитела, либо буфер (без первичного антитела).

Положительный контроль подтверждает специфичность поставленной иммуногистохимической реакции с данным антителом. Чаще всего в качестве положительного контроля используются структуры самой исследуемой ткани («внутренний» контроль), которые содержат исследуемый антиген, при этом исключается вариабельность обработки, фиксации и окрашивания ткани. Если в ткани биоптата исследуемый антиген отсутствует, то необходимо использовать «внешний» контроль — срез ткани, в котором интересующий антиген заведомо есть. Содержание антигена в контрольной ткани должно быть низким или средним,

чтобы можно было оценить чувствительность метода. Контрольный срез обрабатывают точно так же, как и экспериментальный, одновременно с ним.

Протоколы проведения иммуногистохимических исследований, реактивы и оборудование.

1. Приготовленные гистологические срезы толщиной 4 мкм нанести на чистые предметные стекла. Для предотвращения отслаивания и повреждения срезов во время тепловой или протеазной обработки и серии промываний поверхность вымытых предметных стекол обработать L-полилизин и высушить.

Адгезив: L- полилизин (молекулярная масса 150 кДа);
1 мг/мл дистиллированной воды.

2. Высушить препараты при 37°C в течение 18 ч или при 56–60°C в течение 30 мин. Во избежание повреждения антигенов срезы держать при повышенной температуре не более указанного времени. Готовые срезы можно хранить при комнатной температуре в месте, недоступном для солнечного света, в течение нескольких месяцев, что обычно не сопровождается разрушением антигенов (более чувствительны к длительному хранению антигены, локализирующиеся внутриядерно).

Протокол иммуногистохимического окрашивания парафиновых срезов (стрептавидин-биотиновый метод).

1. Срезы поместить на 30 мин в термостат при 56°C.
2. Парафин удалить с неостывших срезов инкубацией в двух сменах ксилола. Длительность одной инкубации 5–10 мин.
3. Срезы гидратировать в 3 сменах абсолютного этанола по 3 мин и поместить срезы в проточную воду. При обработке 200 срезов провести смену реактивов в батарее. Неполное удаление парафина или ксилола может значительно ухудшить результат иммуногистохимического анализа.
4. Эндогенную пероксидазную активность блокировать в 3%-ном растворе перекиси водорода, разведенной в фосфатно-солевом буфере или в дистиллированной воде, в течение 5 мин при комнатной температуре.
5. Срезы ополоснуть в промывном буфере в течение 5 мин, используя шейкер.
6. В зависимости от исследуемых антигенов срезы обработать в скороварке (на водяной бане, в микроволновой печи) или провести протеазную обработку (в соответствии с протоколами).

7. Срезы промыть в буфере дважды по 2 мин.
8. Избыток жидкости удалить с предметного стекла вокруг срезов при помощи салфетки и срезы обвести специальным гидрофобным карандашом. Предметные стекла расположить горизонтально во влажной камере и нанести на каждый срез каплю 10%-ного раствора нормальной сыворотки животного-донора вторых антител. Инкубировать 20 мин при комнатной температуре.
9. Избыток сыворотки удалить со срезов с помощью салфетки.
10. Нанести раствор первичного антитела в 1%-ном растворе БСА в рабочем разведении. На срезы отрицательного контрольного исследования первичные антитела не наносить.
11. Инкубировать в течение ночи при 4°C.
12. Ополоснуть срезы в промывном буфере трижды по 3 мин. Излишки буфера со стекол удалить.
13. На срезы нанести раствор вторых биотинилированных антител. Рабочее разведение антител в 1%-ном растворе БСА определить заранее в сериях контрольных титрований. Инкубировать в течение 35 мин при комнатной температуре. При работе с моноклональными антителами использовать кроличьи антимышечные антитела; при работе с поликлональными кроличьими антителами нанести антитела козы к иммуноглобулинам кролика.
14. Ополоснуть срезы в промывном буфере трижды по 1 мин. Излишки буфера со стекол удалить.
15. На срез нанести конъюгат стрептавидинбиотинилированной пероксидазы хрена (ПХ-sABC). Инкубировать 30 мин. sABC-комплекс готовить не позднее чем за 30 мин до использования и использовать в течение 3 суток.
16. Промыть срезы в буфере трижды по 3 мин.
17. Срезы инкубировать в свежеприготовленном буферном растворе 3,3'-диаминобензидинтетрахлорида (ДАБ)/H₂O₂. Окрашивание под контролем микроскопа: если 5-минутная инкубация не дает необходимой интенсивности окраски, продолжить инкубацию с ДАБ от 1 до 5 мин.
18. Промыть срезы водой.
19. Окрасить ядра гематоксилином (слабо), при необходимости дифференцировать окраску в соляно-кислом спирте, промыть проточной водой до получения синей окраски ядер.
20. Препараты обезводить в спиртах и ксилоле и заключить срезы в канадский бальзам.

Протокол иммуногистохимического окрашивания парафиновых срезов с использованием полимерных систем детекции.

1. Срезы поместить на 30 мин в термостат при 56°С.
2. Парафин удалить с неостывших срезов инкубацией в двух сменах ксилола. Длительность одной инкубации 5–10 мин.
3. Срезы гидратировать в 3 сменах абсолютного этанола по 3 мин и поместить срезы в проточную воду.
4. Эндогенную пероксидазную активность блокировать в 3%-ном растворе перекиси водорода в дистиллированной воде в течение 5 мин при комнатной температуре.
5. Срезы ополоснуть в промывном буфере в течение 5 мин.
6. В зависимости от исследуемых антигенов срезы обработать в скороварке (на водяной бане, в микроволновой печи) или провести протеазную обработку (в соответствии с протоколами).
7. Срезы промыть в буфере дважды по 2 мин.
8. Избыток жидкости удалить с предметного стекла вокруг срезов при помощи салфетки и срезы обвести специальным гидрофобным карандашом. Предметные стекла расположить горизонтально во влажной камере и нанести на каждый срез каплю 10%-ного раствора нормальной сыворотки животного-донора вторых антител. Инкубировать 20 мин при комнатной температуре.
9. Избыток сыворотки удалить со срезов с помощью салфетки.
10. Нанести раствор первичного антитела в 1%-ном растворе БСА в рабочем разведении. На срезы отрицательного контрольного исследования первичные антитела не наносить.
11. Инкубировать в течение 30–60 мин при 37°С.
12. Ополоснуть срезы в промывном буфере трижды по 1 мин. Излишки буфера со стекол удалить.
13. На срезы нанести полимерную систему с учетом типа антител (моно- или поликлональные). Инкубировать 30 мин при комнатной температуре.
14. Промыть срезы в буфере трижды по 3 мин.
15. Срезы инкубировать в свежеприготовленном буферном растворе 3,3'-диаминобензидинтетрахлорида (ДАБ)/H₂O₂. Окрашивание под контролем микроскопа: если 5-минутная инкубация не дает необходимой интенсивности окраски, продолжить инкубацию с ДАБ от 1 до 5 мин.
16. Промыть срезы водой.

17. Окрасить ядра гематоксилином (слабо), при необходимости дифференцировать окраску в соляно-кислом спирте, промыть проточной водой до получения синей окраски ядер.

18. Препараты обезводить в спиртах и ксилоле и заключить срезы в канадский бальзам.

Обработка парафиновых срезов ткани, фиксированной формалином, в кастрюле-скороварке.

1. Скороварку, наполненную на две трети ее объема соответствующим буфером, довести до кипения на лабораторной электроплитке, не закрывая крышку на защелку.

2. Предметные стекла с депарафинированными срезами поместить в держатель из химически инертного материала и погрузить держатель в кипящий буфер. При появлении струи пара из клапана с установленным низким уровнем давления (режим 1) засечь время начала обработки.

3. По истечении 4 мин скороварку быстро поместить в холодную воду и после снижения давления открыть крышку кастрюли. Извлечь стекла из буфера сразу или после охлаждения в течение 15 мин при комнатной температуре.

4. Стекла промыть в воде (1–3 мин) и поместить в промывной буфер, следя за тем, чтобы стекла не высохли.

5. Выполнить основной протокол ИГХ окрашивания с пункта 7.

Обработка парафиновых срезов ткани, фиксированной формалином, протеолитическими ферментами.

1. Срезы депарафинировать; одновременно приготовить и нагреть до 37°C растворы ферментов, кроме протеиназы К (трипсин, пропаза, пепсин).

2. Прогреть срезы в дистиллированной воде при 37°C в течение 10 мин.

3. Инкубировать срезы в растворе фермента в течение 5–20 мин при 37°C или при комнатной температуре. Оптимальные условия реакции подобрать в предварительной серии опытов.

4. Остановить протеолиз, погружая стекла со срезами в проточную воду на 10 мин.

5. Следовать протоколу ИГХ окрашивания с п. 7.

Трипсин: приготовить 0,1%-ный (в/о) раствор CaCl_2 в воде или буфере 0,05М трис-НСl (рН 7,8) и прогреть его до 37°C в термостате.

Ex tempore приготовить 0,1%-ный раствор трипсина в растворе CaCl_2 . До нанесения на срезы держать раствор трипсина при 37°С.

Проназа: 0,05%-ный (в/о) рабочий раствор проназы в буфере 0,05 М трис-НСl, 0,1 М NaCl (рН 7,2) (TBS) при 37° С.

Протеиназа К: приготовить раствор 10 мг/мл в 0,05 М TRIS/НСl.

Приведенные описания и даваемые рекомендации основаны на личном опыте авторов и данных литературы. Подбор наиболее оптимальных и удобных для индивидуального исполнителя методов тем не менее является необходимым условием работы каждой иммуногистохимической лаборатории.

III. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ ЛИМФОМ

При диагностике лимфом более, чем в других разделах гематопатологии, особенно важно определение иммунофенотипа клеток опухоли, осуществляемое различными методами (проточная цитофотометрия, иммуноцитохимическое или иммуногистохимическое (ИГХ) исследование). Иммунные реакции не только позволяют определить тип лимфоцитов — В или Т, но также стадию дифференцировки опухолевой клетки, и во многих случаях выделение того или иного типа лимфом базируется именно на специфическом иммунном профиле.

Для лейкоцитарных антигенов, выявляемых различными антителами, разработана CD-классификация (CD-cluster of differentiation, кластер дифференцировки). Кластер дифференцировки включает группу антител, реагирующих с одним или разными эпитопами определенного антигена. К настоящему времени получены данные по 247 кластерам. Лейкоцитарные антигены приведены согласно их принадлежности к кластеру дифференцировки, в скобках указаны клоны соответствующих антител, пригодных для применения на парафиновых срезах.

CD1 (010). Антиген кортикальных тимоцитов (CD4+CD8+), исчезает на поздних стадиях созревания Т-клеток. CD1 антиген представляет группу из трех полипептидных цепей, соответственно обозначенных CD1a, CD1b и CD1c. CD1a функционально представляет собой трансмембранный гликопротеин, который участвует в процессах развития тимоцитов, рестрикции Т-клеточного ответа, активации лимфоцитов. Молекулы CD1 в норме

обнаруживаются на клетках Лангерганса и других дендритических клетках и не экспрессируются интердигитирующими ретикулярными клетками и зрелыми Т-клетками в состоянии покоя. Экспрессия CD1 отмечена в цитоплазме активированных Т-клеток и на активированных моноцитах.

Антитела к CD1 используют для диагностики Т-лимфобластной лимфомы/лейкоза и гистиоцитоза из клеток Лангерганса. При лимфомах из зрелых Т-клеток экспрессия CD1 отсутствует. Окрашивание имеет мембранную локализацию.

CD2 (NCL-CD2-271). Пан-Т-клеточный антиген, рецептор E-розеток. CD2 экспрессируется всеми тимоцитами, Т-лимфоцитами, субпопуляцией естественных киллеров (NK-клеток), некоторыми В-клетками тимуса, незрелыми клетками миелоидного ряда, гистиоцитами. Выявляется при Т-лимфобластной лимфоме/лейкозе, в большинстве периферических Т-клеточных лимфом, экстранодальной НК/Т-клеточной лимфоме назального типа, Т-клеточной лимфоме/лейкемии взрослых, Т-клеточном пролимфоцитарном лейкозе, Т-клеточном лейкозе из крупногранулярных лимфоцитов, грибовидном микозе/синдроме Сезари; может экспрессироваться бластными клетками при остром миелоидном лейкозе.

Для улучшения результатов ИГХ окрашивания необходимо использовать высокочувствительные системы визуализации и высокотемпературную обработку в буфере с высоким значением pH. Экспрессия мембранная с точечным усилением в одном из участков цитоплазмы, внутренний позитивный контроль — неопухолевые Т-лимфоциты.

CD3 (поликлональные антитела, PS-1). Пан-Т-клеточный антиген. CD3-антигенный комплекс состоит из 5 полипептидных цепей (гамма, дельта, эпсилон, зета и эта), ковалентно связанных с Т-клеточным рецептором (TCR), вместе с которым он отвечает за передачу внутриклеточного сигнала при активации Т-клеток.

CD3-антиген появляется на более поздней стадии Т-клеточной дифференцировки, чем CD2 или CD7, и у кортикальных тимоцитов обнаруживается в цитоплазме. Мембранное расположение CD3-антигена возникает на стадии медуллярных тимоцитов и сохраняется у зрелых Т-клеток. CD3-антиген является высокоспецифичным маркером Т-лимфоцитов: на других клетках он не обнаружен, за исключением, возможно, клеток Пуркинье

в мозжечке. Практически все Т-клеточные лимфомы экспрессируют CD3, кроме редко встречающихся опухолей, которые утрачивают данный антиген в процессе малигнизации. Экспрессия цитоплазматическая в кортикальных тимоцитах и опухолевых Т-лимфобластах, мембранная — в клетках с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов. CD3 выявляется в отдельных случаях злокачественного гистиоцитоза и лимфомы Ходжкина, но не экспрессируется НК-клеточными лимфомами/лейкозами. Внутренний позитивный контроль — неопухолевые Т-лимфоциты.

Большинство моноклональных антител к CD3 реагируют с цитоплазматическим доменом эpsilon-цепи CD3/TCR-антигенного комплекса. Для парафиновых гистологических срезов наиболее чувствительным является поликлональное анти-CD3 антитело.

CD4 (1F6, 4B12). Антиген Т-лимфоцитов-хелперов и индукторов. Этот гликопротеин экспрессируется большинством Т-клеток периферической крови и 80—90% кортикальных тимоцитов. Слабая экспрессия обнаружена на моноцитах, тканевых макрофагах и гранулоцитах. Моноклональное антитело 1F6, которое реагирует с CD4 в парафиновых срезах, является необходимым дополнением диагностической панели для Т-клеточных опухолей, так как экспрессия CD4-антигена характерна для неопластических клеток большинства лимфом с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов и Т-лимфобластной лимфоме/лейкозе. Не экспрессируется НК-клеточными опухолями, $\gamma\delta$ -гепатолиенальной Т-клеточной лимфомой, Т-клеточной лимфомой типа энтеропатии, панникулитоподобной Т-клеточной лимфомой подкожной жировой клетчатки.

Для получения удовлетворительных результатов ИГХ окрашивания антитела клон 1F6 рекомендуется разводить в буфере с pH 6,0, не обрабатывать срезы перекисью водорода. Клон 4B12 резистентен к обработке в перекиси водорода. Для восстановления антигенной реактивности используется высокотемпературная обработка в буфере с pH 9,0. Необходимо использовать высокочувствительные системы визуализации. Экспрессия мембранная.

CD5 (4C7, CD5/54/F6, DK23). Пан-Т-клеточный антиген, являющийся лигандом В-клеточного антигена CD72; участвует в передаче внутриклеточного сигнала, Т-В-клеточной адгезии,

регуляции аутоантителообразования, дифференцировке тимоцитов. CD5-антиген присутствует в норме на клеточной поверхности большинства Т-лимфоцитов, начиная с кортикальных тимоцитов и В1а-субпопуляции В-клеток. Интенсивность экспрессии на ранних тимоцитах низкая и высокая на зрелых Т-клетках. CD5 экспрессируется при Т-клеточных и некоторых В-клеточных опухолях.

Диагностическое значение антитела к CD5 имеют при В-клеточных опухолях: В-клеточном хроническом лимфоцитарном лейкозе/лимфоцитарной лимфоме, лимфоме из клеток зоны мантии. Антитела к CD5 для парафиновых срезов значительно отличаются своей чувствительностью. Хорошие результаты дает применение антител клона 4С7. Усиление сигнала достигается при применении чувствительных систем визуализации и предварительным демаскированием антигенных детерминант в буферах с высоким значением рН. Следует иметь в виду, что CD5 не выявляется в тканях, фиксированных в фиксаторах В5 или жидкости Боуэна. Экспрессия мембранная.

CD7 (CD7-272). Пан-Т-клеточный антиген — наиболее ранний дифференцировочный антиген Т-клеток. Экспрессия CD7 на предшественниках Т-клеток возникает в эмбриональной печени, во время перестройки гена дельта-цепи TCR. Кроме Т-лимфоцитов экспрессируется на костномозговых полипотентных CD34+ клетках-предшественниках, НК-клетках, моноцитах. Участвует в активации Т-клеток. Экспрессия CD7 чаще других антигенов утрачивается в процессе малигнизации, особенно такое выпадение характерно для грибovidного микоза.

Антитела к CD7 используются для характеристики Т-клеточных лимфом/лейкозов. Для удовлетворительной детекции CD7 в парафиновых срезах необходимо использовать системы усиления сигнала. Экспрессия мембранная.

CD8 (C8/144В, 4В11). Антиген супрессорных/цитотоксических Т-клеток, нормальных и опухолевых. CD8 антиген экспрессирует примерно 30% периферических мононуклеарных клеток и 60—85% кортикальных тимоцитов. В норме антитела к CD8 могут метить также НК-клетки, клетки эндотелия, клетки, выстилающие синусы красной пульпы селезенки. Окрашивание опухолевых клеток антителами к CD8 наблюдается обычно при некоторых Т-лимфобластных лимфомах/лейкозах, Т-клеточном

лейкозе из крупногранулярных лимфоцитов, Т-клеточных лимфомах с проявлениями энтеропатии, панникулитоподобной Т-клеточной лимфоме подкожной клетчатки. Экспрессия CD8 отсутствует при грибовидном микозе/синдроме Сезари. Изменение количественного соотношения CD4+ и CD8+ Т-клеток не является свидетельством моноклональности Т-клеточного пролиферата. Инфекционные и воспалительные процессы могут существенно менять нормальное соотношение 2 : 1 между CD4+ и CD8+ субпопуляциями лимфоцитов. Экспрессия мембранная.

CD10 (56С6). В-клеточный антиген (синонимы — CALLA, Common Acute Lymphoblastic Leukaemia Antigen, энкефалиназа, нейтральная эндопептидаза, металлоэндопептидаза). Экспрессируется различными типами нормальных и опухолевых клеток, включая гемопоэтические (клетки зародышевого центра, плазматические клетки, зрелые гранулоциты, субпопуляция тимоцитов), эпителиальные (проксимальные почечные каналы, желчные каналы) и стромальные клетки (фибробласты) и не является исключительным маркером В-лимфоцитов при ОЛЛ «общего типа». Экспрессия CD10 наблюдается не только при В-лимфоцитарной лимфоме/лейкозе, но также и при фолликулярной лимфоме (окрашивание от слабого до среднего), в большинстве случаев лимфомы Беркитта и в 30% случаев диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы. CD10 не экспрессируется при В-клеточном хроническом лимфолейкозе, лимфоплазматической лимфоме и лимфоме из клеток зоны мантии (в том числе при бластоидном варианте). Слабая экспрессия CD10 отмечается в ряде случаев множественной миеломы. За исключением Т-лимфоцитарной лимфомы/лейкоза и ангиоиммунобластной лимфомы, CD10 редко экспрессируется при других Т-клеточных опухолях. При всех подтипах острого миелолейкоза отмечена экспрессия CD10-антигена.

Антитела к CD10, пригодные для использования в парафиновых срезах, дают мембранный тип экспрессии.

CD15 (С3D-1, ММА). Антиген гранулоцитов, моноцитов, эпителиальных клеток, вовлеченный в процессы фагоцитоза. Известен также как антиген групп крови Lewis X (Le^x), X гаптен, FAL (3-фукозил-N-ацетил-лактозамин). Более 95% гранулоцитов периферической крови и 80% циркулирующих моноцитов, а также дендритические ретикулярные клетки экспрессируют

CD15- антиген. Экспрессия CD15 не выявлена на лимфоцитах и тромбоцитах. В диагностике антитела к CD15 используются при иммунофенотипировании лимфомы Ходжкина, исследовании лейкозов миелоидного происхождения и аденокарцином. При классической лимфоме Ходжкина реакция с антителами проявляется в сильном окрашивании клеток Березовского–Штернберга–Рид и клеток Ходжкина в области клеточной мембраны, цитоплазмы в зоне комплекса Гольджи (околоядерная область). Экспрессия CD15 также выявляется на опухолевых клетках некоторых Т- и В-клеточных неходжкинских лимфом.

CD16 (2H7). Антиген NK-клеток и клеток миеломоноцитарного происхождения. Экспрессируется всеми покоящимися естественными киллерами, нейтрофилами, макрофагами, а также небольшой субпопуляцией Т-клеток. CD16а также является рецептором при антителозависимой клеточной цитотоксичности, участвует в выработке цитокинов. Диагностическое значение антитела к CD16а имеют при лимфомах/лейкозах из NK-клеток и некоторых лимфобластных лимфомах из предшественников Т-клеток.

CD20 (L26). Пан-В-клеточный антиген. Экспрессия совпадает по времени с перестройкой генов легких цепей Ig и обнаруживается на поздней пре-В-стадии созревания. Маркер нормальных и опухолевых В-клеток, фолликулярных дендритических клеток (ФДК). Экспрессируется примерно в 50% случаев В-лимфобластных лимфом/лейкозов и в большинстве случаев зрелоклеточных лимфом/лейкозов В-клеточного происхождения. CD20 утрачивается плазматическими клетками и не экспрессируется при плазмоцитоме/миеломе. Около четверти случаев классической лимфомы Ходжкина характеризуется экспрессией CD20 на мембране части клеток Березовского–Штернберга–Рид и клеток Ходжкина. В редких случаях кортикальноклеточных тимом CD20 обнаруживается на поверхности клеток тимического эпителия.

Окрашивание мембранное, применение высокочувствительных систем визуализации может привести к неспецифическому окрашиванию ядрышек.

CD21 (1F8). В-клеточный антиген. В лимфоидных фолликулах экспрессируется зрелыми В-лимфоцитами (sIg+) и фолликулярными дендритическими клетками в норме и при различных типах В-клеточных лимфом/лейкозов; экспрессируется

субпопуляцией тимоцитов и некоторыми видами эпителия и не экспрессируется циркулирующими лимфоцитами, Т-клетками, гранулоцитами и моноцитами. Антитела к CD21 используются для идентификации сети фолликулярных дендритических клеток при лимфоме из клеток зоны мантии, фолликулярных лимфомах, ангиоиммунобластной лимфоме, лимфогранулематозе с нодулярным типом лимфоидного преобладания, ассоциированных с ВИЧ-инфекцией поражениях лимфоидной ткани.

Для детекции экспрессии CD21 на В-лимфоцитах при работе с парафиновыми срезами необходимы специальные способы обработки срезов (трипсинизация) и системы, улучшающие чувствительность метода (EnVision), поскольку эти клетки слабо экспрессируют данный антиген. Для фолликулярных дендритических клеток характерна сильная экспрессия CD21. Характер окрашивания мембранный.

CD23 (1B12, BU38, MNM6). В-клеточный антиген. В слабой степени CD23 экспрессирует большинство зрелых В-лимфоцитов, высокий уровень экспрессии характерен для фолликулярных дендритических клеток и, особенно, для трансформированных вирусом Epstein-Barr В-лимфоцитов. CD23 экспрессируется также на моноцитах, эозинофильных и нейтрофильных гранулоцитах, Т-клетках, тромбоцитах, клетках Лангерганса и субпопуляции эпителиальных клеток тимуса. CD23 является маркером дифференцировки В-лимфоцитов, который утрачивается Ig-секретирующими клетками. В лимфоидной ткани антитела к CD23 реагируют с субпопуляциями лимфоцитов зоны мантии и фолликулярных дендритических клеток, при этом с лимфоцитами маргинальной зоны селезенки реакции не обнаруживаются. CD23 экспрессируется опухолевыми клетками при В-клеточных лимфоцитарных лимфомах/хронических лейкозах и не экспрессируется при других лимфомах, включая лимфому из клеток зоны мантии, что имеет значение для дифференциальной диагностики этих заболеваний. Экспрессия CD23 сохраняется при трансформации лимфоцитарной лимфомы в крупноклеточную лимфому.

Для детекции CD23 В-лимфоцитами необходимо использовать современные системы амплификации сигнала. Характер окрашивания мембранный. Внутренним позитивным контролем могут служить фолликулярные дендритические клетки.

CD30 (Ber-H2). Активационный антиген лимфоцитов и макрофагов, ранее известный как Ki-1-антиген. Антиген CD30 экспрессируется активированными В-, Т-, НК-клетками, моноцитами, клетками Березовского–Штернберга–Рид и клетками Ходжкина при лимфоме Ходжкина, опухолевыми клетками анапластических крупноклеточных лимфом, при лимфоматоидном папулезе. CD30-позитивными могут быть некоторые клетки в лимфомах с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов (в частности, ангиоиммунобластных) и некоторых диффузных крупноклеточных В-клеточных лимфомах. В нормальной лимфоидной ткани антитело Ber-H2 реагирует с небольшой популяцией крупных лимфоидных клеток, располагающихся преимущественно вокруг В-клеточных фолликулов. Вне лимфоидной ткани антитела клона Ber-H2 реагируют с железистыми клетками эндометрия и ацинусов поджелудочной железы, с некоторыми панкреатическими раками. Экспрессия CD30 характерна также для эмбрионального рака.

Антитела клона Ber-H2 выявляют экспрессию CD30 на клеточной мембране и в зоне комплекса Гольджи. Внутренний позитивный контроль — плазматические клетки.

CD34 (QVend10, My10). Антиген гемопоэтических клеток-предшественников, экспрессирующийся в норме на ранних гемопоэтических клетках-предшественниках и клетках эндотелия капилляров; нейронах, эмбриональных фибробластах. При опухолях кроветворной системы экспрессируется большинством лимфобластных лимфом/лейкозов из клеток-предшественников (Т- и В-клеточных) и острых лейкозов миелоидного происхождения. Применяется при гистогенетическом анализе опухолей из мягких тканей.

Мембранное окрашивание, эндотелий служит внутренним позитивным контролем

CD38 (SPC32, AT13/5). Маркер плазматических клеток. Экспрессирован на тимоцитах, пре-В-клетках, активированных Т-клетках, моноцитах, НК-клетках, плазматических клетках, костномозговых клетках-предшественниках эритроидного и миелоидного ряда, клетках мозга. Антитела к CD38 используются в диагностике плазмноклеточной миеломы, дифференциальной диагностике лимфоплазмочитарной лимфомы и лимфоцитарной лимфомы/хронического лимфолейкоза. CD38 выявляется в случаях

хронического лимфолейкоза с отсутствием мутаций в переменных областях генов Ig, что имеет прогностическое значение. Окрашивание мембранное.

CD45R0 (UCHL1, A6, OPD4). Ассоциированная с Т-лимфоцитами низкомолекулярная изоформа общелейкоцитарного антигена (LCA/CD45). CD45R0 выявляется на большинстве тимоцитов, зрелых активированных Т-клетках, субпопуляции покоящихся Т-лимфоцитов (как среди CD4+, так и среди CD8+). Антитело UCHL1 реагирует с гранулоцитами и моноцитами, но не реагирует с NK-клетками и нормальными В-лимфоцитами. Экспрессия CD45R0, характерная для Т-клеточных лимфом, может выявляться также в редких случаях диффузных крупноклеточных В-клеточных лимфом и в миелоидных опухолях с монобластной дифференцировкой.

Экспрессия мембранная, внутренний позитивный контроль — неопухолевые Т-лимфоциты.

CD45RB/LCA (LCA, 2B11, PD7/26, коктейль 2B11+PD7/26). Изоформа общелейкоцитарного антигена (Leukocyte Common Antigen). Антитела к CD45RB (PD7/26) реагируют с поверхностными гликопротеинами, экспрессируемыми В-лимфоцитами, субпопуляциями Т-лимфоцитов, моноцитами, макрофагами и, в более слабой степени, гранулоцитами. CD45RB имеет важное значение в дифференциальной диагностике злокачественных лимфом и низкодифференцированных опухолей негемопоэтической природы, анапластических крупноклеточных лимфом и классического лимфогранулематоза.

Экспрессия мембранная, внутренний позитивный контроль — неопухолевые лимфоциты.

CD56 (1B6, 123C3). Антиген естественных киллеров (NK-клеток). Антиген CD56 является изоформой молекулы клеточной адгезии нейронов (N-CAM, Neural Cellular Adhesion Molecule). Экспрессируется всеми покоящимися и активированными NK-клетками и субпопуляцией NK-подобных цитотоксических g/d Т-клеток (изоформа 140 кДа), клетками нервной ткани. CD56 экспрессируется при NK-клеточном лейкозе, экстранодальных NK/Т-клеточных лимфомах назального типа (ангиоцентрических), гепатолиенальной Т-клеточной лимфоме, Т-клеточных лимфомах с проявлениями энтеропатии. Используется в диффе-

ренциальной диагностике сарком и диагностике опухолей нейроэктодермальной природы. Тип окрашивания мембранный, внутренним позитивным контролем служат естественные киллеры (NK-клетки).

CD57 (Leu7, HNK-1, ТВ-01). Антиген естественных киллеров. CD57 участвует в клеточной адгезии. В лимфоидной ткани CD57 экспрессируется покоящимися NK-клетками, субпопуляцией Т-клеток, некоторыми патологическими В-клетками, клетками нейроэктодермального происхождения. При активации NK-клетки перестают экспрессировать CD57, поэтому часто случаи NK-клеточных лимфом являются CD57-негативными. CD57 экспрессируется опухолевыми клетками при Т-клеточном лейкозе из крупногранулярных лимфоцитов, в некоторых случаях Т-лимфобластных лимфом из клеток-предшественников. Косвенное диагностическое значение имеет обнаружение CD57 позитивных клеток в составе лимфоцитов, окружающих L&H опухолевые клетки при нодулярном типе лимфоидного преобладания лимфомы Ходжкина. Экспрессируется многими эпителиальными, нейрогенными, нейроэндокринными и мезенхимальными опухолями. Окрашивание мембранное.

CD68 (KP1, PG-M1). Маркер моноцитов и гистиоцитов. CD68 экспрессируется в цитоплазме моноцитов, макрофагов, остеокластов и тучных клеток. Антитело KP1, в отличие от PG-M1, реагирует также и с миелоидными клетками. CD68-позитивными могут быть также активированные Т-клетки, субпопуляция зрелых В-клеток, эпителий (в цитоплазме).

Опухоли лимфоидного происхождения обычно негативны в отношении антител к CD68, за исключением отдельных случаев волосатоклеточного лейкоза и В-клеточной лимфоцитарной лимфомы, обнаруживающих с антителом KP1 слабое окрашивание цитоплазмы в виде немногочисленных рассеянных гранул. Антитела к CD68 используются для выявления реактивных макрофагов в тканевых срезах в норме и при патологии и при иммунофенотипировании опухолей. Необходимо помнить, что антитела к CD68 метят органеллы (лизосомы), поэтому их линейная специфичность условна.

Характер окрашивания антителами — внутрицитоплазматический гранулярный. Тканевые макрофаги являются внутренним позитивным контролем.

CD79a (JCB117). Пан-В-клеточный антиген. Антитело JCB117 распознает экстраклеточный эпитоп молекулы CD79a. Экспрессия CD79a возникает на стадии предшественников В-лимфоцитов и сохраняется до стадии плазматических клеток. Используется для идентификации всех опухолей В-клеточного происхождения. Антитела клона JCB117 нередко реагируют с опухолевыми клетками Т-лимфобластных лимфом/лейкозов.

Окрашивается цитоплазма, внутренним позитивным контролем служат В-лимфоциты.

CD99 (12E7, HO36-1.1, O-13). Продукт гена *MIC2*, мембранное окрашивание обнаруживается во многих случаях лимфобластных лимфом (острых лимфобластных лейкозов), острых миелолейкозов и саркоме Юинга/PNET (95%-ная чувствительность).

CD138 (5F7, MI15). Маркер плазматических клеток. Экспрессия CD138 специфична для плазматических клеток, содержащих иммуноглобулины в цитоплазме. Антитела к CD138 дают позитивную реакцию при плазмноклеточной миеломе, лимфоплазмоцитарной лимфоме, хроническом лимфолейкозе.

Среди негемопоэтических тканей антиген CD138 в норме экспрессирован на фибробластах, клетках эпителия и эндотелиальных клетках, может утрачиваться при малигнизации. Экспрессия цитоплазматическая.

ALK, NPM-ALK (ALK1). Маркер CD30⁺ анапластической крупноклеточной лимфомы. Белок ALK или NPM-ALK (Nucleophosmin-Anaplastic Lymphoma Kinase) является продуктом химерного (гибридного) гена, возникающего в результате транслокации t(2;5)(p23;q35), включающего часть гена белка ядрышек нуклеофосмина, и кодирующей последовательности цитоплазматического домена киназы анапластической лимфомы. Экспрессия киназы анапластической лимфомы в норме ограничена центральной нервной системой. Хромосомная транслокация t(2;5) и экспрессия химерного ALK протеина обнаруживается в 30–50% случаев CD30-позитивных анапластических крупноклеточных лимфом и не встречается в нормальных лимфоцитах и, за крайне редким исключением, при других типах лимфом (диффузных В-клеточных крупноклеточных).

Антитела к ALK протеину (ALK1) дают ядерное и/или ядерно-цитоплазматическое окрашивание. Необходим внешний позитивный контроль (срез ALK-позитивной анапластической крупноклеточной лимфомы).

BCL-2 (124, BCL2-100). Белок-супрессор апоптоза. BCL-2 (B Cell Lymphoma/Leukaemia-2) в онтогенезе играет центральную роль в процессах подавления апоптоза в тканях. BCL-2 кодируется соответствующим геном, который вовлекается в хромосомную транслокацию t(14; 18)(q32; q21), часто обнаруживаемую при фолликулярных лимфомах. Результатом транслокации становится сверхэкспрессия BCL-2 протеина. Однако наличие транслокации t (14; 18) не является необходимым условием экспрессии белка BCL-2, который может синтезироваться и в отсутствие данной хромосомной перестройки. В нормальной лимфоидной ткани BCL-2 обнаруживается в малых лимфоцитах зоны мантии фолликулов, во множестве Т-клеток в Т-зонах и единичных клетках зародышевых центров. В тимусе антителами к BCL-2 интенсивно окрашиваются клетки мозгового вещества, тогда как кортикальные тимоциты остаются BCL-2 негативными или слабопозитивными. Антитела к BCL-2-протеину реагируют с опухолевыми клетками фолликулярных лимфом и во многих случаях диффузных лимфоидных опухолей: лимфобластных лимфом, анапластических крупноклеточных лимфом, агрессивных Т- и В-клеточных лимфом, волосатоклеточном лейкозе.

Следует учитывать, что эпитоп BCL-2-протеина не всегда сохраняется в парафиновых срезах, поэтому для улучшения результатов ИГХ реакцию тепловую обработку срезов необходимо проводить в буферах с высокими значениями pH.

Экспрессия цитоплазматическая. При изучении фолликулярных лимфом внутренним позитивным контролем служат лимфоциты зоны мантии.

BCL-6 (PG-B6p, P1F6). Регуляторный протеин, кодируемый протоонкогеном. В норме экспрессируется клетками светлых центров размножения фолликулов. Продукт *bcl-6*-гена иммуногистохимически обнаруживается в опухолевых клетках фолликулярных лимфом, диффузных В-клеточных крупноклеточных лимфом, лимфом Беркитта и L&H клетках лимфомы Ходжкина с нодулярной формой лимфоидного преобладания. Для улучшения результатов ИГХ окрашивания необходимо использовать высокочувствительные системы визуализации и высокотемпературную обработку в буфере с высоким значением pH. Экспрессия ядерная.

Clusterin (7D1). Алипопротеин J, ингибитор комплемент-обусловленного лизиса. В патологии обнаруживается экспрессия кластерина при амилоидозе в местах накопления фибриллярных

депозитов, при болезни Альцгеймера — в амилоидных бляшках и цереброваскулярных депозитах. При исследовании экспрессии генов с помощью технологии микрочипов ген кластерина был обнаружен в клетках анапластических крупноклеточных лимфом и идентифицирован как высокоспецифичный маркер крупноклеточных анапластических лимфом. Экспрессия кластерина в опухолевых клетках очень редко встречается при лимфоме Ходжкина, диффузных В-клеточных крупноклеточных лимфомах, Т-клеточных лимфомах с иммунофенотипом периферических лимфоцитов. Экспрессия цитоплазматическая очаговая.

Cyclin D1 (SP4, DCS-6, 5D4, HD64). Циклин D1 — регулятор клеточного цикла, ответственный за прохождение S-фазы митотического цикла. Ген циклина D1, известный также под названиями *PRAD1* и *bcl-1*, находится на 11-й хромосоме и часто амплифицирован в целом ряде злокачественных опухолей человека. Избыточная продукция белка циклина D1 в ядрах опухолевых клеток обнаружена в большинстве случаев лимфомы из клеток зоны мантии и является специфичным диагностическим признаком этой лимфомы. В качестве позитивного результата ИГХ реакции может рассматриваться только сильное окрашивание, обнаруживаемое в большинстве ядер опухолевых клеток. Более слабое окрашивание в части клеток характерно для волосатоклеточного лейкоза и плазмцитомы. Для улучшения детекции циклина D1 в тканевых срезах необходимо использовать современные системы амплификации сигнала. Лучшие результаты получены при использовании кроличьих моноклональных антител.

Экспрессия ядерная и цитоплазматическая. Внутренний позитивный контроль — окрашивание ядер клеток эндотелия кровеносных сосудов.

EMA (E29, MC5). Антиген эпителиальных мембран (Epithelial Membrane Antigen, CD227, MUC-1), присутствует в различных типах эпителия, как нормального, так и опухолевого. В лимфомах экспрессия EMA часто обнаруживается в опухолевых клетках анапластических крупноклеточных лимфом, что имеет дифференциально-диагностическое значение. В значительной части случаев L&H клетки лимфомы Ходжкина с нодулярным типом лимфоидного преобладания интенсивно экспрессируют EMA, тогда как экспрессия CD30 в этих клетках может отсутствовать или быть слабой в некоторых из них. В тканевых срезах положительную реакцию с антителами к EMA могут давать нормальные

и опухолевые плазмоциты. Мембранное и цитоплазматическое окрашивание, даваемое антителом E29, часто сопровождается точечным (dot-like) окрашиванием зоны комплекса Гольджи. Применение обработки срезов с целью восстановления антигенных структур (на водяной бане, в кастрюле-скороварке, микроволновой печи) приводит к интенсивному неспецифическому окрашиванию, поэтому должно быть исключено из технологической цепочки.

Окрашивание мембранное, цитоплазматическое, очаговое — зоны Гольджи. При исследовании лимфоидной ткани внутренним позитивным контролем служат плазматические клетки.

Granzyme B (11F1,GrB-7). Гранзим В — маркер активированных цитотоксических клеток (Т- и НК-клеток). Гранзим В является основным ферментом цитотоксических гранул Т- и НК-клеток, вызывающим перфорацию мембраны клеток-мишеней и иммунообусловленную клеточную гибель. Выявляется в опухолевых клетках при НК/Т-клеточных лимфомах назального типа, первично кожных CD30⁺ Т-клеточных лимфопролиферативных заболеваниях, Т-клеточной панникулитоподобной лимфоме подкожной клетчатки, в ряде случаев анапластической крупноклеточной лимфомы. Может давать перекрестную реакцию с сериновыми протеазами полиморфно-ядерных лейкоцитов.

Характер окрашивания диффузный гранулярный или перинуклеарный точечный.

Fascin (IM20). Актиносвязывающий белок с молекулярной массой 55—58 кДа. Используется как очень чувствительный маркер клеток Березовского—Штернберга—Рид и клеток Ходжкина в классических формах лимфомы Ходжкина, но обладает низкой специфичностью. Окрашивание цитоплазматическое.

Ki-67 (Ki-67, MIB-1). Маркер пролиферативной активности. Антиген Ki-67 является ядерным белком, антитела к антигену Ki-67 реагируют с пролиферирующими (G1, S, M и G2 стадии клеточного цикла), но не с покоящимися клетками (стадия G0), что находит применение для оценки фракции роста в опухолях. Является ключевым маркером дифференциальной диагностики лимфом Бёркитта и диффузных В-клеточных крупноклеточных лимфом, используется в дифференциальном диагнозе меланом и невусов, аденом и раков коркового вещества надпочечника. Окрашивание ядерное и ядрышковое.

MUM1 (MUM 1p, Multiple Myeloma-1) — транскрипционный фактор, кодируемый геном *IRF4*, играет ведущую роль в развитии

лимфоидной ткани, регулирует финальные этапы дифференцировки В-лимфоцитов, находящихся в герминогенных центрах, и плазматических клеток. В норме экспрессируется в плазматических клетках, немногочисленных непролиферирующих В-лимфоцитах в светлых центрах размножения и активированных Т-лимфоцитах в перифолликулярных зонах. Используется в диагностике лимфоплазмочитарной лимфомы, множественной миеломы, экспрессируется в 75% диффузных крупноклеточных В-клеточных лимфом, лимфоме Ходжкина. В комбинации с BCL-2, BCL-6, CD10 и CD138 применяется для выделения групп диффузных крупноклеточных В-клеточных лимфом, отличающихся по прогнозу. Окрашивание ядерное, микрогранулярное или диффузное, может сочетаться с незначительной цитоплазматической экспрессией.

Perforin (5B10). Перфорин – протеин цитоплазматических гранул цитотоксических Т-лимфоцитов, который вызывает перфорацию мембраны клетки-мишени. Обнаруживается в CD3-негативных НК-клетках, CD3-позитивных крупногранулярных лимфоцитах и d/g Т-клетках. Используется в диагностике лимфом с цитотоксическим иммунофенотипом: при НК/Т-клеточных лимфомах назального типа, первично-кожных CD30⁺ Т-клеточных лимфопролиферативных заболеваниях, Т-клеточной панникулитоподобной лимфоме подкожной клетчатки, в ряде случаев анапластической крупноклеточной лимфомы. Окрашивание цитоплазматическое гранулярное.

PCNA (PC10). Ядерный антиген пролиферирующих клеток, кофактор ДНК-полимеразы. Используется для оценки пролиферирующей фракции. Необходимо помнить, что время полураспада молекул PCNA превышает 20 часов, поэтому часть позитивно окрашенных клеток являются покоящимися, т. е. находятся в G0-фазе клеточного цикла. Поэтому для оценки пролиферативной активности опухолевой ткани с целью дифференциальной диагностики лимфом Бёркитта и диффузных В-клеточных крупноклеточных лимфом антитела к PCNA использовать нельзя. Экспрессия ядерная.

TdT (8-1E4, поликлональные). Терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase), маркер лимфоидных клеток-предшественников как Т-, так и В-клеточного типа. В норме присутствует в ядрах Т-клеток тимуса и в небольшом количестве лимфоцитов в костном мозге. TdT экспрессируется во всех случаях острых Т- и В-клеточных лейкозов/

лимфом из клеток-предшественников и в большинстве случаев бластного криза хронического миелолейкоза, в части клеток некоторых острых миелолейкозов (в 5–10% случаев). Для получения удовлетворительных результатов ИГХ реакции в парафиновых срезах используют термическую обработку срезов в буфере с высоким значением рН и чувствительной системой детекции сигнала. Антитела к TdT дают ядерное окрашивание.

ТІА-1 (TIA-1). Маркер цитотоксических Т-лимфоцитов и НК-клеток. TIA-1 (T-Cell Intracellular Antigen-1) является эффекторным белком мембран цитоплазматических гранул покоящихся и активированных цитотоксических клеток. Моноклональное антитело TIA-1 реагирует с соответствующим антигеном как цитотоксических Т-лимфоцитов, так и НК-клеток, возможна перекрестная реакция с гранулоцитами, но гранулярный характер окрашивания при этом менее отчетлив. Слабую диффузную цитоплазматическую реакцию могут давать эпителиоидные гистиоциты. Антиген TIA-1 экспрессируется опухолевыми клетками при НК/Т-клеточных лимфомах назального типа, НК-клеточном лейкозе, гепатолиенальной Т-клеточной лимфоме, Т-клеточной панникулитоподобной лимфоме подкожной клетчатки, часто выявляется при первично-кожных CD30⁺ лимфопролиферативных заболеваниях, анапластических крупноклеточных лимфомах, кишечной Т-клеточной лимфоме типа энтеропатии. Среди нелимфоидных опухолей фокальную позитивную реакцию с TIA-1 могут давать клетки гранулоцитарной саркомы. Характер окрашивания диффузный гранулярный.

Vimentin (V9, 1905.5). Виментин — белок промежуточных филаментов мезенхимальных тканей. Антитела к виментину реагируют с клетками мезенхимального происхождения. Сохранность эпитопа зависит от качества гистологической обработки материала. Отсутствие экспрессии виментина в заведомо позитивных структурах (эндотелий кровеносных сосудов) в срезах, не обработанных для восстановления антигенных структур, означает возможность ложно-негативных реакций с антителами и к другим антигенам. Экспрессируется в цитоплазме клеток Березовского–Штернберга–Рид и клеток Ходжкина классических форм лимфомы Ходжкина и опухолевых клеток в некоторых случаях неходжкинских лимфом. Окрашивание цитоплазматическое.

ВОПРОСЫ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И КЛАССИФИКАЦИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ

Начиная с 1956 г. последовательно появились несколько классификаций лимфом, первую из которых, базирующуюся только на морфологических данных, опубликовал Н. Rapraort. Развитие учения о физиологии и иммунологии лимфоидной системы заставило пересмотреть подходы к подразделению опухолей лимфатических узлов по нозологическим формам, что нашло свое отражение в новых классификациях, наиболее употребляемыми из которых были классификация Lukes и Collins (1974), Кильская (1974), классификация ВОЗ первой серии (1976). В 1982 г. была опубликована так называемая «Рабочая формулировка для клинического использования», которая пыталась объединить данные морфологии лимфом и их клинического течения. В 1994 г. появилась «Пересмотренная Европейско-Американская классификация лимфоидных опухолей» [110] (REAL), которая учитывала иммунофенотип лимфомы и включала только те формы, которые имели четкие клинико-морфологические особенности. Наконец, в 2001 г. вышла в свет новая классификация ВОЗ [128], которая является наиболее полным описанием разновидностей лимфом с учетом всего многообразия данных по их морфологии и биологическим особенностям (табл. 1). Она базируется на принципах, положенных в основу классификации REAL, главным из которых является выделение самостоятельных клинических форм, т. е. таких заболеваний, которые отличаются по морфологии, иммунофенотипу, генотипу и клиническим проявлениям.

Первичные лимфомы кожи представляют собой многочисленную группу заболеваний, имеющих клинические,

Таблица 1

**Классификация ВОЗ опухолей лимфоидной системы (2001 г.)
с ICD-кодами [128]**

| В-клеточные опухоли | |
|--|---|
| Опухоли из предшественников В-лимфоцитов | |
| В-лимфобластный лейкоз ¹ /лимфома из предшественников В-клеток ² (острый лимфобластный лейкоз из предшественников В-клеток) | 9835/3* ¹ 9728/3 ² |
| В-клеточные опухоли с фенотипом зрелых лимфоцитов | |
| Хронический лимфоцитарный лейкоз ¹ / лимфоцитарная лимфома ² | 9823/3 ¹ 9670/3 ² |
| В-клеточный пролимфоцитарный лейкоз | 9833/3 |
| Лимфоплазмоцитарная лимфома | 9671/3 |
| Селезеночная лимфома маргинальной зоны | 9689/3 |
| Волосатоклеточный лейкоз | 9940/3 |
| Плазмоклеточная миелома | 9732/3 |
| Моноклональная гаммапатия неопределенного значения | 9765/1 |
| Солитарная плазмоцитома | 9731/3 |
| Внекостная плазмоцитома | 9734/3 |
| Первичный амилоидоз | 9769/1c |
| Болезни тяжелых цепей | 9762/3 |
| Экстранодальная В-клеточная лимфома маргинальной зоны лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками (MALT-лимфома) | 9699/3 |
| Нодальная В-клеточная лимфома маргинальной зоны | 9699/3 |
| Фолликулярная лимфома | 9690/3 |
| Лимфома из клеток зоны мантии | 9673/3 |
| Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома | 9680/3 |
| Медиастинальная крупноклеточная В-клеточная лимфома | 9679/3 |
| Внутрисосудистая крупноклеточная В-клеточная лимфома | 9680/3 |
| Первичная лимфома серозных полостей | 9678/3 |
| Лимфома Бёркитта ¹ / Лейкоз Бёркитта ² | 9687/3 ¹ 9826/3 ² |
| В-клеточные лимфопролиферативные процессы с неопределенным опухолевым потенциалом | |
| Лимфоматоидный гранулематоз | 9766/1 |
| Посттрансплантационное лимфопролиферативное заболевание, полиморфно-клеточное | 9970/1 |

| Т-клеточные опухоли | |
|--|--|
| Опухоли из предшественников Т-лимфоцитов | |
| Т-лимфобластный лейкоз ¹ /лимфома из предшественников Т-клеток ² | 9837/3 ¹ 9729/3 ² |
| Бластная НК-клеточная лимфома** | 9727/3 |
| Т- и НК-клеточные опухоли с фенотипом зрелых лимфоцитов | |
| Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз | 9834/3 |
| Т-клеточный лейкоз из крупных гранулярных лимфоцитов | 9831/3 |
| Агрессивный НК-клеточный лейкоз | 9948/3 |
| Т-клеточный лейкоз / лимфома взрослых | 9827/3 |
| Грибовидный микоз | 9700/3 |
| Синдром Сезари | 9701/3 |
| Первичная кожная крупноклеточная анапластическая лимфома | 9718/3 |
| Экстранодальная НК/Т-клеточная лимфома, назальный тип | 9719/3 |
| Т-клеточная лимфома типа энтеропатии | 9717/3 |
| Гепатолиенальная Т-клеточная лимфома | 9716/3 |
| Панникулитоподобная Т-клеточная лимфома подкожной клетчатки | 9708/3 |
| Ангиоиммуобластная Т-клеточная лимфома | 9705/3 |
| Лимфома из клеток с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неуточненная | 9702/3 |
| Анапластическая крупноклеточная лимфома | 9714/3 |
| Т-клеточные лимфопролиферативные процессы с неопределенным опухолевым потенциалом | |
| Лимфоматоидный папулёз | 9718/1 |
| Лимфома Ходжкина | |
| Лимфома Ходжкина, нодулярный тип лимфоидного преобладания | 9359/3 |
| Классическая лимфома Ходжкина | 9650/3 |
| Классическая лимфома Ходжкина, вариант нодулярного склероза | 9663/3 |
| Классическая лимфома Ходжкина, смешанно-клеточный вариант | 9652/3 |
| Классическая лимфома Ходжкина, вариант с истощением лимфоидной ткани | 9653/3 |
| Классическая лимфома Ходжкина, вариант с большим количеством лимфоцитов | 9651/3 |

Примечания: * Морфологический код Международной классификации болезней для онкологии (ICD-O), третье издание. Клиническое течение кодируется /3 для злокачественных опухолей, /1 для заболеваний с низким или неопределенным злокачественным потенциалом; ** опухоль неясного происхождения и стадии дифференцировки.

морфологические и иммуногистохимические особенности, ставящие их особняком по отношению к прочим лимфомам. В настоящем руководстве они не описаны подробно. Классификация первичных кожных лимфом WHO-EORTC приведена в приложении [253].

Констатация устойчивой тенденции роста заболеваемости неходжкинскими лимфомами стала главным результатом изучения новейшей истории этого вида опухолей. Очевидный вклад в рост заболеваемости неходжкинскими лимфомами внесли увеличение продолжительности жизни, улучшение качества диагностики лимфом, эпидемия СПИДа. Темпы роста заболеваемости неходжкинскими лимфомами обнаруживают различия в зависимости от расы, пола, возраста, а также морфологического варианта лимфом. Разнообразие морфологических вариантов неходжкинских лимфом в разных географических регионах обусловлено этническими различиями и особенностями факторов окружающей среды. В табл. 2 приведены сравнительные данные о частоте выявления основных типов неходжкинских лимфом в странах Западной Европы и Северной Америки и в Северо-Западном регионе РФ.

Сопоставление данных в табл. 2 обнаруживает значительные отличия в частоте обнаружения некоторых морфологических вариантов неходжкинских лимфом в Северо-Западном регионе России по сравнению с результатами международных исследований. Особенно заметными особенностями являются относительно низкая частота выявления фолликулярной лимфомы и MALT-лимфомы, большое число лимфом из малых лимфоцитов/хронического лимфолейкоза. Это означает, что механическое распространение зарубежных результатов эпидемиологического анализа лимфом на Россию может оказаться неточным. Изучение эпидемиологических особенностей распространения лимфом в других регионах нашей страны необходимо для поиска этиологических факторов возникновения лимфом в теоретической онкологии, а в практической работе — для планирования организации онкогематологической помощи населению и планирования клинических исследований.

Таблица 2

Частота выявления отдельных форм В- и Т-клеточных лимфом

| Диагноз | Западная Европа, Северная Америка, частота, %, n=1403 [67] | Северо-Запад РФ, частота, % (ЛОПАБ, n=400) [2] | Северо-Запад РФ, частота, % (ЦНИРРИ, n=304) |
|---|--|--|---|
| Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома | 30,6 | 32,0 | 33,2 |
| Фолликулярная лимфома | 22,1 | 10,5 | 10,2 |
| MALT лимфома | 7,6 | 2,0 | 3,9 |
| Лимфома из клеток с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов: | 7,6 | 8,25* | 7,9* |
| неуточненная | 3,7 | 6,5 | 5,2 |
| ангиоцентрическая | 1,4 | — | 0,65 |
| ангиоиммунобластная | 1,2 | 1,25 | 1,7 |
| интестинальная | <1 | 0,5 | — |
| лимфоэпителиоидная | <1 | — | — |
| гепатолиенальная | <1 | — | 0,35 |
| Т-клеточный лейкоз/лимфома взрослых | <1 | — | — |
| Хронический лимфолейкоз/лимфома из малых лимфоцитов | 6,7 | 16,25 | 13,2 |
| Лимфома из клеток зоны мантии | 6,0 | 4,25 | 5,2 |
| Медиастинальная В-клеточная лимфома | 2,4 | 1,75 | 4,6 |
| Т-клеточная анапластическая крупноклеточная лимфома | 2,4 | 5,25** | 5,5** |
| В-клеточная лимфома высокой степени злокачественности типа лимфомы Беркитта | 2,1 | | |
| Нодальная лимфома маргинальной зоны | 1,8 | 3,5 | 1,7 |
| Т-лимфобластная лимфома | 1,7 | 2,5 | 2,0 |
| Лимфоплазмочитарная лимфома | 1,2 | 0,25 | 2,9 |
| Селезеночная лимфома маргинальной зоны | <1 | | — |
| Грибовидный микоз | <1 | 3,25 | 0,35 |
| Лимфома Беркитта | <1 | 4,5 | 3,9 |
| Прочие типы | 6,1 | 5,75 | 5,4 |

Примечания: * случаи лимфоэпителиоидной лимфомы внесены в рубрику «неуточненная»; ** в том числе случаи первичной кожной анапластической лимфомы.

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА НЕХОДЖКИНСКИХ ЛИМФОМ

Диагностика лимфом в первую очередь базируется на данных морфологии. При исследовании пораженной ткани целесообразно следовать нескольким несложным в исполнении приемам, способным значительно облегчить постановку диагноза. Прежде чем исследовать цитологические особенности опухолевых клеток на большом увеличении, важно оценить структуру лимфатического узла в целом. При этом выявляются тип роста опухоли или существенные морфологические особенности, что позволяет ограничить круг отдельных форм для дифференциальной диагностики как между разными типами лимфом, так и с реактивными изменениями. Для исследования структуры лимфатического узла первоначально следует использовать малые увеличения микроскопа и уменьшить степень освещенности, что позволяет четче увидеть его структуру. Ниже приведены данные о наиболее характерных типах поражения и ассоциированных с ними вариантах заболеваний лимфатических узлов (табл. 3).

Неходжкинские лимфомы подразделяются на опухоли из В- и Т- лимфоцитов, каждая из групп в дальнейшем подразделяется на опухоли, развивающиеся из *клеток-предшественников, или лимфобластов*, и опухоли *с фенотипом зрелых лимфоцитов*. Необходимо отметить, что термин «лимфобласт», ранее широко, но ошибочно применявшийся по отношению ко многим лимфоидным клеткам с «омоложенной структурой хроматина», теперь однозначно закреплен лишь за клеткой-предшественником.

Лимфобластная лимфома, как правило, имеет диффузный тип роста с полным стиранием рисунка строения лимфатического узла, инфильтрацией капсулы и перинодальной клетчатки,

Таблица 3

**Типы изменения лимфатических узлов
и наблюдаемая при них патология ([143] с изменениями)**

| Тип роста | Возможная патология | |
|----------------------------------|--|---|
| | Неопухолевые заболевания | Опухоль |
| Фолликулярный | Реактивная гиперплазия фолликулов СПИД Ревматоидный артрит Сифилис Токсоплазмоз Болезнь Кастлемана, плазмноклеточный тип | Фолликулярная лимфома Нодальная В-клеточная лимфома маргинальной зоны |
| Псевдофолликулярный | Нет | Лимфома из малых лимфоцитов/ХЛЛ |
| Узловой с фиброзными прослойками | Последствия лимфаденита | Метастатический рак ЛХ, тип нодулярного склероза |
| Лимфогистиоцитарный вид | Прогрессирующая трансформация центров размножения | ЛХ, нодулярная форма лимфоцитарного преобладания |
| Узлы из клеток мантийной зоны | Болезнь Кастлемана, гиалиново-вазкулярный тип Лимфома из клеток зоны мантии | Классическая ЛХ с обилием лимфоцитов |
| Синусовый | Гистиоцитоз синусов Болезнь Росай–Дорфмана Болезнь Уиппла Васкулярная трансформация синусов Последствия лимфангиографии Грибовидный микоз Волосатоклеточный лейкоз Прочие лейкозы Гистиоцитоз из клеток Лангерганса Метастатический рак Саркома Капоши | Анапластическая крупноклеточная Т-клеточная лимфома Нодальная В-клеточная лимфома маргинальной зоны Крупноклеточная В-клеточная лимфома (анапластический вариант) |

| Тип роста | Возможная патология | |
|------------------------------------|--|--|
| | Неопухолевые заболевания | Опухоль |
| Интерфолликулярный | Реактивная гиперплазия Некротизирующий лимфаденит Болезнь кошачьих царапин Болезнь Кикучи СПИД Токсоплазмоз Инфекционный мононуклеоз Дерматопатическая лимфаденопатия | Лимфома из малых лимфоцитов/ХЛЛ Лимфоплазмочитарная лимфома Плазмноклеточные опухоли Нодальная В-клеточная лимфома маргинальной зоны MALT-лимфома Лимфома из клеток с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неутонченная (особенно лимфома Т-зоны) Анапластическая крупноклеточная Т-клеточная лимфома Грибовидный микоз Смешанноклеточный тип ЛХ Гистиоцитоз из клеток Лангерганса Системный мастоцитоз Волосатоклеточный лейкоз Прочие лейкозы Метастатический рак |
| Диффузная пролиферация гистиоцитов | Гранулематозный лимфаденит Атипичный иммунный ответ Туберкулез | Лимфома из клеток с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неутонченная (особенно лимфома Леннерга) Крупноклеточная В-клеточная лимфома, богатая лимфоцитами и гистиоцитами Смешанно-клеточный тип лимфомы Ходжкина Нодулярный тип лимфоцитарного преобладания ЛХ |
| Диффузный рост | Инфекционный мононуклеоз Системная красная волчанка | Большинство лимфом |

Примечание: ЛХ — лимфома Ходжкина.

хотя возможно и частичное поражение с распространением опухоли по паракортикальной зоне и сохранением нормальных фолликулярных структур. Проникая в соединительную ткань, опухолевые клетки располагаются в виде однорядных цепочек, что является характерным для этой опухоли морфологическим феноменом [143]. Может наблюдаться картина «звездного неба», связанная с появлением в опухоли реактивных макрофагов, в цитоплазме которых содержится ядерный детрит от подвергающихся апоптозу лимфобластов. Подобная картина косвенно указывает на высокий уровень пролиферации и гибели опухолевых клеток. Нередко по периферии опухоли могут быть обнаружены «артефакты сдавления», образующиеся при этом изменения клеток (вытянутые очертания, гиперхромазия) довольно характерны для этого типа лимфом и могут быть использованы как дополнительный, косвенный признак в диагностике этой опухоли.

Лимфобласты — относительно мономорфные клетки малого или среднего размера, с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением, округлым, овальным или конволютным ядром, мелкодисперсной структурой хроматина, малозаметным ядрышком и скудной цитоплазмой (рис. 1). Конволютными называют ядра с извитыми, «измятыми», «зазубренными» контурами [196]. Феномен легче обнаруживается в гистологических срезах, несколько более толстых, чем это требуется для диагностики. Поверхность ядра при небольших движениях микровинтом микроскопа выглядит «измятой», с вдавлениями и складками. Конволютные ядра чаще встречаются при опухолях Т-клеточного происхождения [92], но отмечены и в В-лимфобластах, более того, морфологически оба типа клеток схожи и точная диагностика невозможна без применения иммунологических методов исследования.

Общим в иммунофенотипе лимфобластных лимфом различного клеточного происхождения служит выявляемая иммуногистохимически ядерная экспрессия TdT (терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазы) (рис. 2) [16, 192]. В-клеточные лимфобластные лимфомы экспрессируют пан-В-клеточные антигены CD79a и в 50% случаев — CD20, кроме этого, интенсивные положительные реакции дают антитела к CD10, CD34 [25, 66, 163, 233]. Т-клеточные лимфобластные лимфомы обнаруживают вариабельную экспрессию антигенов Т-клеток (CD1a, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8). В зависимости от степени дифференцировки

опухолевых бластов возможна экспрессия только некоторых Т-клеточных антигенов, таких как CD7 или CD3 (обычно CD3 обнаруживается только в цитоплазме) (рис. 3), возможна коэкспрессия CD4 и CD8 [11, 16, 44, 114]. Встречаются случаи с коэкспрессией опухолевыми Т-лимфообластами пан-В-клеточного антигена CD79a [205]. От 15 до 50% В-лимфообластных лимфом/лейкозов и до 30% лимфообластных лимфом Т-клеточного незрелого тимического типа экспрессируют миелоидные маркеры — CD13, CD33 и CD117 (c-kit) [29, 215]. Наиболее дифференцированные Т-лимфообластные лимфомы экспрессируют CD3 на мембране опухолевых клеток.

Деление на острый лимфообластный лейкоз или лимфообластную лимфому носит нередко условный характер ввиду биологического единства процесса и морфологической идентичности опухолевых клеток. Классификация ВОЗ рекомендует в случае, если имеется опухоль, без вовлечения костного мозга или периферической крови, обозначать такое поражение как лимфому. При массивном поражении костного мозга диагностируют острый лейкоз. Если же присутствуют оба компонента, но бластов менее 25%, предпочтителен диагноз лимфомы.

В-клеточная лимфома из малых лимфоцитов/хронический лимфолейкоз составляет около 6,7% от числа В-клеточных лимфом. Термин «лимфома» используется для случаев, не имеющих признаков поражения костного мозга и периферической крови, биологическая же сущность обоих вариантов заболевания одинакова. Поражение лимфатических узлов имеет диффузный характер, в 40% случаев имеется псевдофолликулярный тип роста, характеризующийся наличием светлоокрашенных зон, напоминающих фолликулы, на более темноокрашенном фоне (рис. 4). В отдельных наблюдениях отмечен интерфолликулярный рост с сохранением нормальных фолликулов [36, 106]. Основной тип клеток — малые лимфоциты, имеющие скудную цитоплазму и округлое ядро с грубым комковатым хроматином и малозаметным ядрышком. Псевдофолликулы (пролиферативные центры, центры роста) имеют смешанный клеточный состав, который включает также клетки среднего (пролимфоциты) и крупного (параиммунобласты) размера (рис. 5). Пролимфоциты имеют дисперсную структуру хроматина и небольшое ядрышко, в параиммунобластах ядра округлой/овальной формы, содержат

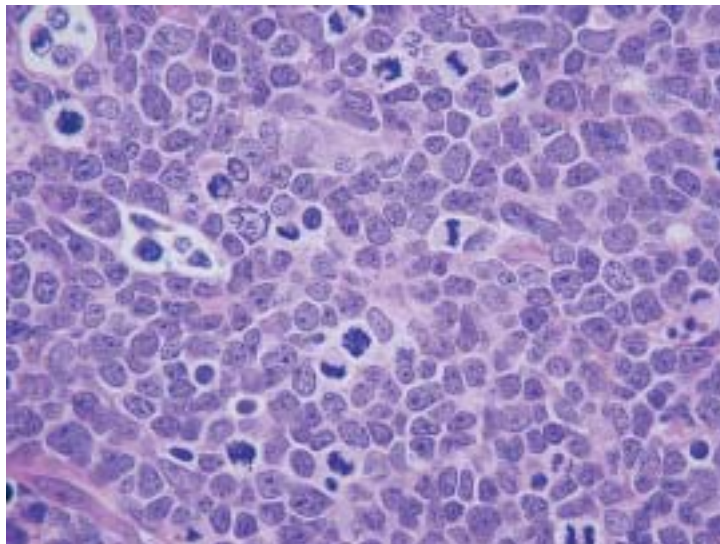


Рис. 1. Т-клеточная лимфобластная лимфома; лимфобласты — клетки мелкого или среднего размера с округлым, овальным или «конволютным» ядром, мелкодисперсной структурой хроматина; многие клетки в фазе митоза

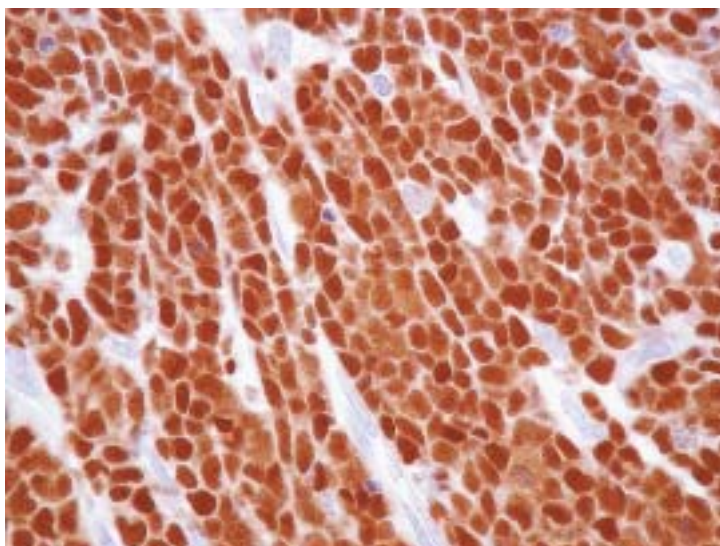


Рис. 2. Т-клеточная лимфобластная лимфома: ядерная экспрессия TdT

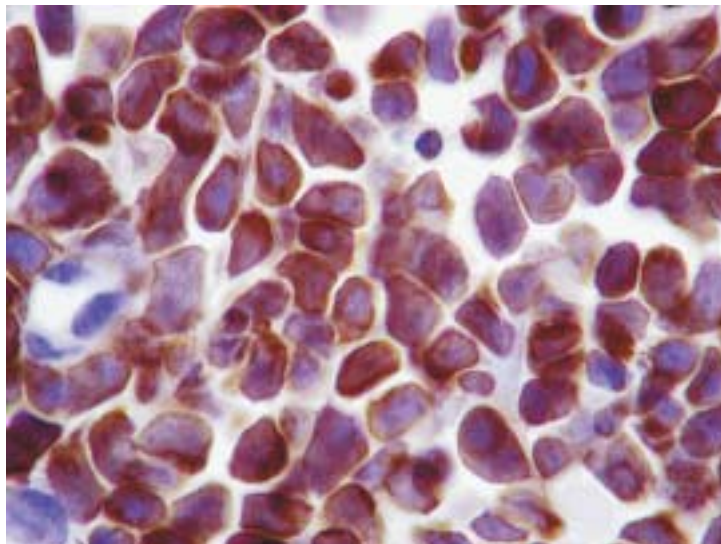


Рис. 3. Т-клеточная лимфобластная лимфома:
цитоплазматическая экспрессия CD3ε



Рис. 4. В-клеточная лимфома из малых лимфоцитов/хронический
лимфолейкоз: лимфатический узел с псевдофолликулярным типом
роста опухоли

центрально расположенное эозинофильное ядрышко, а цитоплазма базофильная. Митотическая активность очень низкая, маркеры пролиферативной активности (PCNA, Ki-67) выявляются в клетках псевдофолликулов чаще [72]. Следует помнить, что возможны отклонения от классического типа малого лимфоцита: ядра могут иметь неправильные контуры, иногда цитоплазма более обильная, что придает клеткам плазмоцитоидный вид [174]. Для иммунофенотипа данной разновидности лимфомы характерна экспрессия пан-В-клеточных маркеров CD20 (рис. 6) и CD79a, а также CD5 (рис. 7) и CD23 (рис. 8); циклин D1 в данной опухоли отсутствует [57, 86, 87, 154, 259]. Экспрессия цинк-ассоциированного протеина ZAP-70, определяемая иммуногистохимически, выделяет больных с неблагоприятным прогнозом [179].

В-пролимфоцитарный лейкоз характеризуется пролиферацией пролимфоцитов — округлых клеток среднего размера с выраженным ядрышком, количество которых в крови превышает 55% от числа всех лимфоидных клеток. Случаи хронического лимфолейкоза с повышенным содержанием пролимфоцитов не входят в эту категорию. Заболевание в первую очередь поражает костный мозг, возможно вторичное поражение селезенки и лимфатических узлов. В селезенке отмечается поражение белой и красной пульпы, а в лимфатических узлах имеется диффузный тип роста, псевдофолликулярный рисунок строения не выявляется [153, 194]. Опухолевые клетки экспрессируют В-клеточные антигены CD20 и CD79a, CD5 выявляется в 1/3 случаев, а CD23 отсутствует.

Лимфоплазмоцитарная лимфома/макроглобулинемия Вальденстрема — лимфома, образованная малыми лимфоцитами, плазмоцитоидными лимфоцитами и зрелыми плазматическими клетками, протекающая с поражением лимфатических узлов, костного мозга и селезенки и сопровождающаяся появлением в сыворотке крови моноклонального IgM парапротеина [195].

В лимфатических узлах отмечается диффузный тип роста, псевдофолликулы, характерные для лимфомы из малых лимфоцитов, отсутствуют. Клеточный состав полиморфен и включает малые лимфоциты, плазмоцитоидные лимфоциты (клетки с обильной базофильной цитоплазмой, но типичным для малого лимфоцита ядром), а также плазматические клетки, часть которых содержит в ядре ШИК-позитивное включение (так называемые

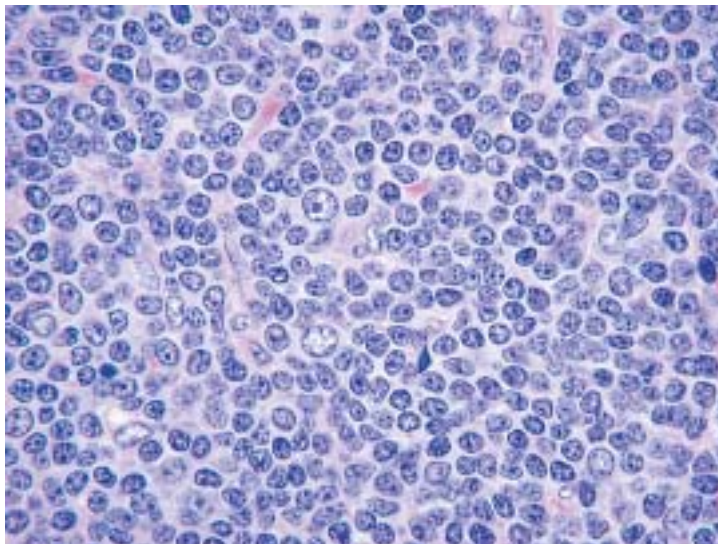


Рис. 5. В-клеточная лимфома из малых лимфоцитов/хронический лимфолейкоз: клеточный состав пролиферативного центра образован малыми лимфоцитами, пролимфоцитами и парaimмунобластами (в центре поля зрения)

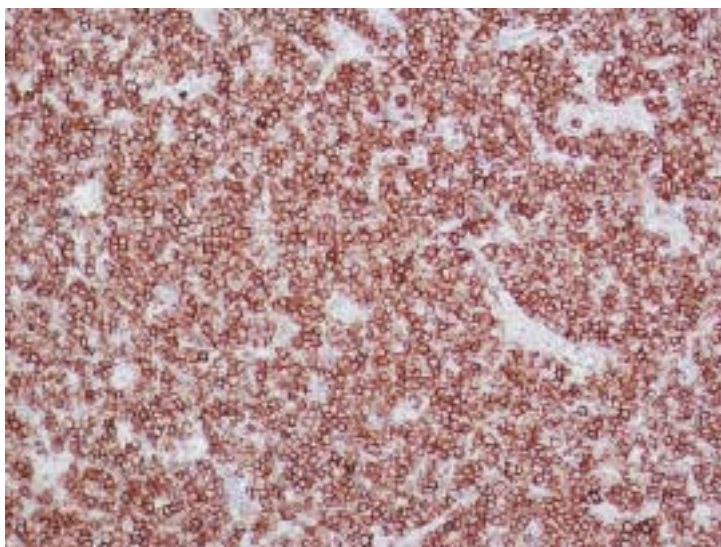


Рис. 6. В-клеточная лимфома из малых лимфоцитов/хронический лимфолейкоз: экспрессия CD20

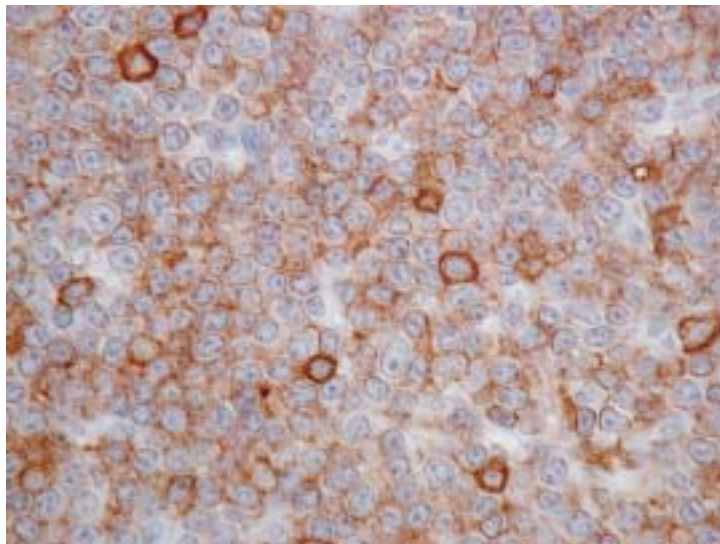


Рис. 7. В-клеточная лимфома из малых лимфоцитов/хронический лимфолейкоз: экспрессия CD5

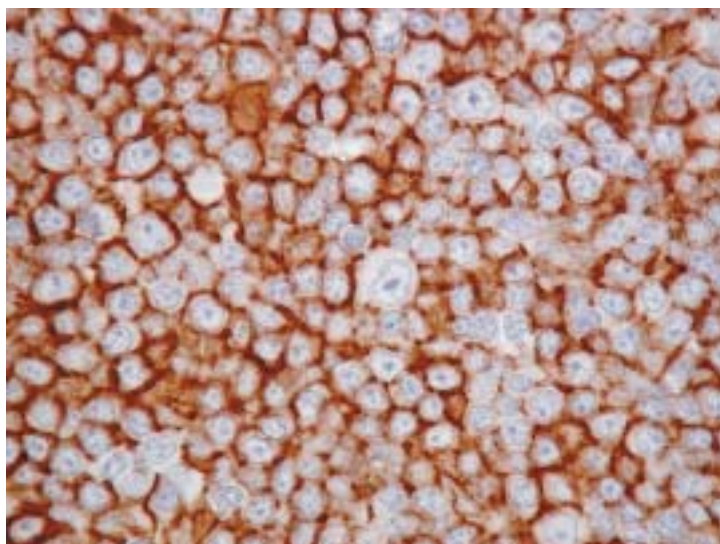


Рис. 8. В-клеточная лимфома из малых лимфоцитов/хронический лимфолейкоз: экспрессия CD23

тельца Датчера — Dutcher bodies) (рис. 9). Возможна примесь иммунобластов, эпителиоидных гистиоцитов. Лимфоплазмочитарная лимфома может протекать с поражением костного мозга, сохраняя при этом типичный полиморфный клеточный состав (рис. 10). Иммунофенотип данной лимфомы характеризуется экспрессией пан-В-клеточных антигенов CD20 и CD79a, в то время как CD5, CD10, CD23 отрицательны. Плазматические клетки экспрессируют CD38, CD138, кроме того, возможно выявление поверхностных и цитоплазматических иммуноглобулинов, чаще всего — IgM. В 40–50% случаев лимфоплазмочитарных лимфом выявляется специфическая абберрация — $t(9;14)(p13;q32)$, приводящая к нарушению экспрессии гена *PAX-5* [100]. Плазмочитоидные варианты других лимфом не соответствуют критериям диагностики данного типа лимфом [112, 195, 218].

Селезеночная лимфома маргинальной зоны — редкая опухоль селезенки с возможным переходом на лимфатические узлы ее ворот. Приблизительно в половине случаев в периферической крови больных отмечается циркуляция ворсинчатых лимфоцитов. Нормальная фолликулярная структура белой пульпы селезенки стерта, опухоль имеет бифазную морфологию: клетки моноцитоподобного вида малого и среднего размера с округлыми ядрами, глыбчатым хроматином и обильной слабоокрашенной цитоплазмой (рис. 11) окружают фолликулы, инфильтрируют маргинальную зону, а мелкие центроцитоподобные клетки колонизируют светлые центры размножения. Имеется примесь трансформированных бластов. Красная пульпа также поражена, видны скопления мелких и более крупных клеток, часто с вовлечением синусов. Возможна примесь эпителиоидных гистиоцитов, в части случаев отмечается увеличение количества плазматических клеток.

Опухолевые лимфоциты экспрессируют CD20 и CD79a, но негативны к CD5, CD23, CD10, циклину D1, также выявляются поверхностные IgM и IgD [120, 173, 178].

Волосатоклеточный лейкоз обычно поражает костный мозг и селезенку, а в периферической крови циркулируют «волосатые» клетки — лимфоциты с обильной отростчатой цитоплазмой [31], которые цитохимически характеризуются наличием тартрат-резистентной кислой фосфатазы. Заболевание сопровождается панцитопенией и выраженной спленоомегалией.

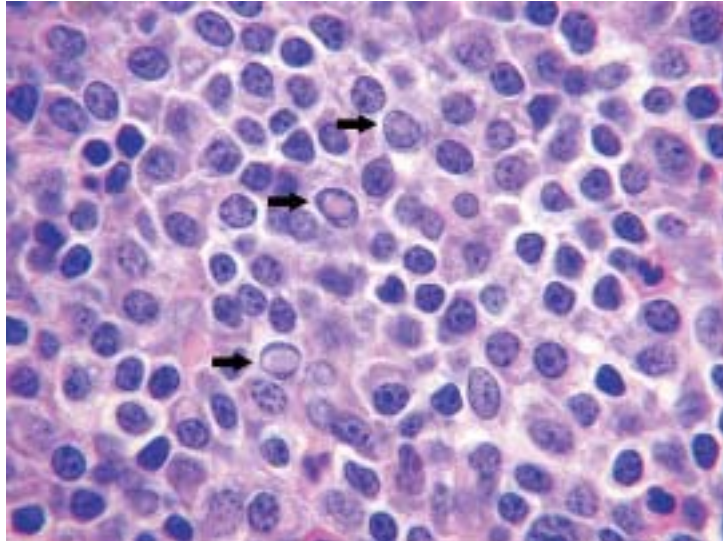


Рис. 9. Лимфоплазмоцитарная лимфома: внутриядерное включение (тельце Датчера) (стрелка)

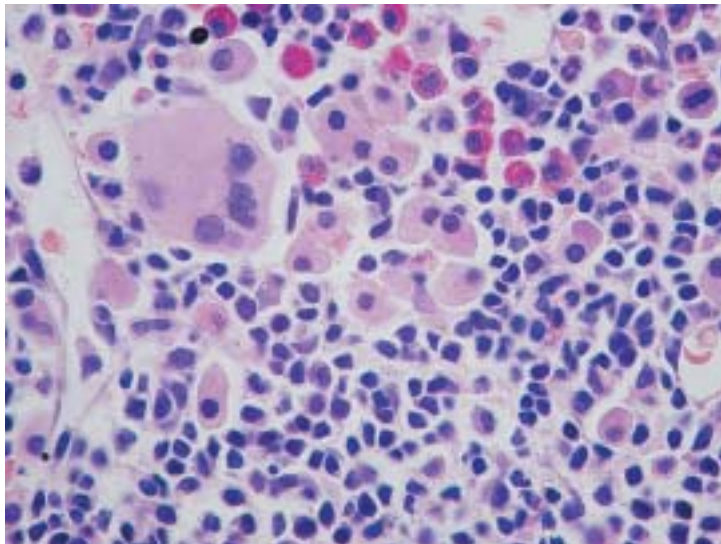


Рис. 10. Лимфоплазмоцитарная лимфома с поражением костного мозга: смесь малых лимфоцитов, плазмоцитоидных лимфоцитов и плазматических клеток

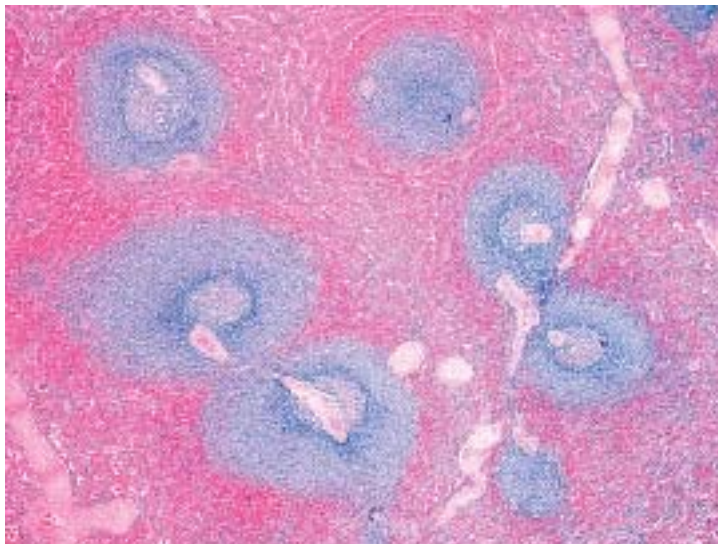


Рис. 11. Селезеночная лимфома маргинальной зоны: фолликулы белой пульпы с резко расширенными маргинальными зонами, опухолевая инфильтрация распространяется на красную пульпу

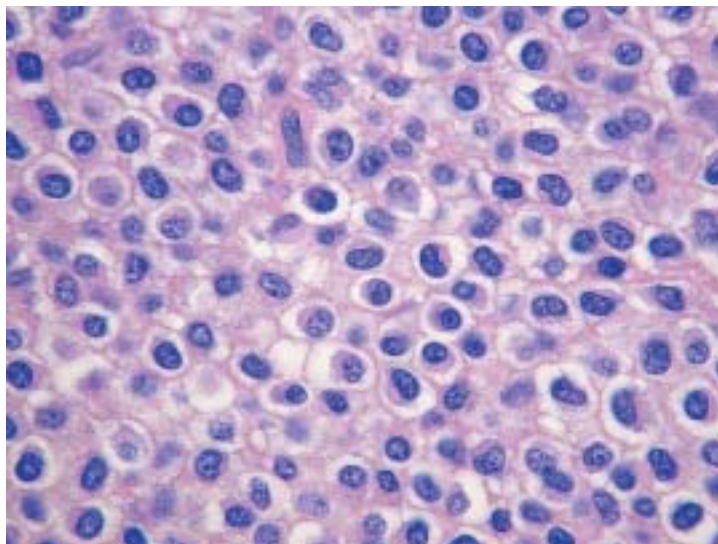


Рис. 12. Волосатоклеточный лейкоз: опухолевые клетки среднего размера с округлыми и бобовидными ядрами и обширной цитоплазмой

Диагноз данного заболевания чаще всего ставится по данным гистологического исследования костного мозга. В зависимости от выраженности поражения отмечается интерстициальный или очаговый тип роста с частичным сохранением гемопоэза и жировой ткани. Опухолевый инфильтрат образован мелкими лимфоидными клетками с округлым или бобовидным ядром и обильной светлой цитоплазмой, что придает инфильтрату «разреженный» вид [24] (рис. 12). Данная морфологическая черта отличает волосатоклеточный лейкоз от других лимфом, протекающих с поражением костного мозга, при которых ядра опухолевых клеток расположены близко друг к другу. Хроматин волосатых клеток нежный, ядрышки не выражены. В строме костного мозга увеличивается количество ретикулиновых волокон, что может затруднить получение информативного материала при аспирации костного мозга. В селезенке опухолевые клетки выявляются в красной пульпе, а белая подвергается атрофии. Характерной чертой служит появление больших экстравазатов, образованных эритроцитами, окруженных волосатыми клетками, — так называемых кровяных озер или псевдосинусов. Нередко опухолевые клетки скапливаются под эндотелием трабекулярных вен [41]. При поражении печени опухолевые клетки выявляются в синусоидах, а в лимфатических узлах — паракортикально с сохранением нормальных фолликулярных структур. Волосатые клетки экспрессируют CD20 и CD79a, а CD5 и CD23 отрицательны. Специфическим для иммунофенотипа является обнаружение CD11c, CD25 (рис. 13) и CD103. Наличие тартрат-резистентной кислой фосфатазы может быть подтверждено с помощью иммуногистохимических методов в тканях, прошедших формалиновую фиксацию (рис. 14), а не только в цитологических препаратах. Часть клеток в ядрах экспрессирует циклин D1 [112, 172, 177, 251].

Плазмоклеточные опухоли — обширная сборная группа заболеваний, включающая плазмоклеточную миелому (множественную миелому в прежних классификациях), плазмоцитому, первичный амилоидоз, остеосклеротическую миелому, являющуюся составной частью синдрома POEMS (полинейропатия, органомегалия, эндокринопатия, моноклональная парапротеинемия, гиперпигментация кожи), а также болезнь тяжелых цепей. Наиболее часто на практике патологоанатому приходится сталкиваться с первыми двумя формами опухолей.

Плазмоклеточная миелома характеризуется первично-множественным поражением костного мозга и сопровождается костными деструкциями и наличием моноклонального иммуноглобулина в сыворотке крови. Моноклональную гаммапатию неопределенного значения (MGUS) рассматривают в качестве заболевания-предшественника [74]. В трепанобиопсии костного мозга при плазмоклеточной миеломе выявляется повышенное количество плазматических клеток (обычно более 30% площади среза), образующих большие поля или очаговые скопления, вытесняющие нормальные структуры костного мозга. Такой характер изменений имеет исключения, так как возможно существование опухоли с минимальной степенью поражения («дремлющая миелома»), и, напротив, при реактивном плазмцитозе может иметь место значительное повышение числа плазматических клеток. Поэтому для определения характера пролиферации (опухолевая или реактивная) необходимо установить клональность клеток, а именно: определить экспрессию легких цепей иммуноглобулинов в цитоплазме плазмцитов. В норме и при реактивном процессе соотношение каппа-позитивных и лямбда-позитивных клеток около 2 : 1. Значительное отклонение от этого соотношения или полное отсутствие одного из типов легких цепей свидетельствует в пользу опухолей природы плазмоклеточной пролиферации.

Опухолевые плазмциты довольно часто имеют строение зрелых клеток, т. е. это клетки с широкой базофильной цитоплазмой и зоной эозинофильного просветления возле ядра, смещенного к периферии клетки. Ядра клеток имеют правильную округлую форму, хроматин организован в грубые глыбки треугольной формы, что сравнивают со спицами в колесе. В цитоплазме и ядрах могут быть обнаружены одиночные или множественные PAS-позитивные шаровидные включения, состоящие из иммуноглобулинов. Цитоплазматические включения называют тельцами Русселя (Russell), а внутриядерные — тельцами Датчера (Dutcher) (рис. 15). Некоторые случаи характеризуются плеоморфизмом клеток, появлением дву- и многоядерных форм, признаками «омоложения» ядер, патологическими митозами [21, 23].

Имунофенотипически миеломные клетки экспрессируют моноклональные цитоплазматические иммуноглобулины, чаще всего IgG и одну из легких цепей иммуноглобулинов — каппа или лямбда (рис. 16). Общелейкоцитарный антиген CD45RB и

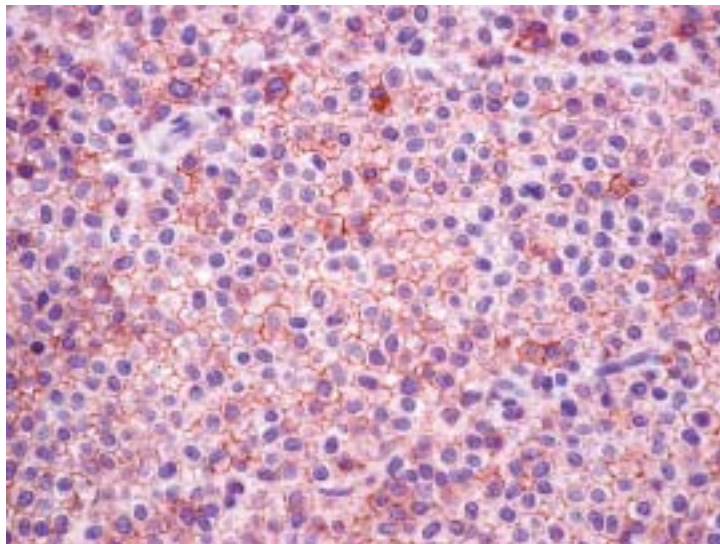


Рис. 13. Волосатоклеточный лейкоз: мембранная экспрессия CD25

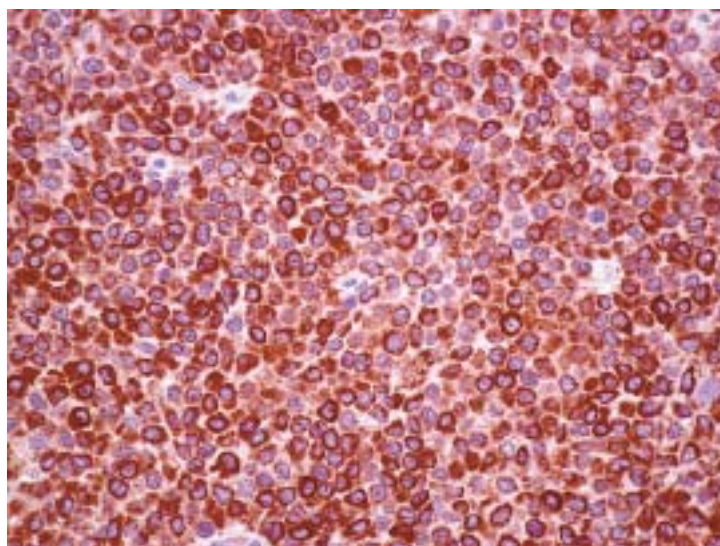


Рис. 14. Волосатоклеточный лейкоз: цитоплазматическая экспрессия тартрат-резистентной кислой фосфатазы

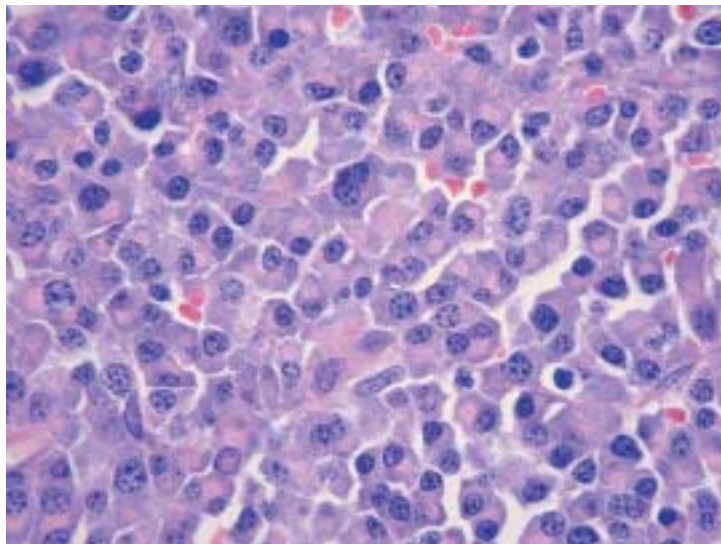


Рис. 15. Плазмноклеточная миелома: преобладают типичные зрелые плазмоциты, в центре — клетка с тельцем Датчера

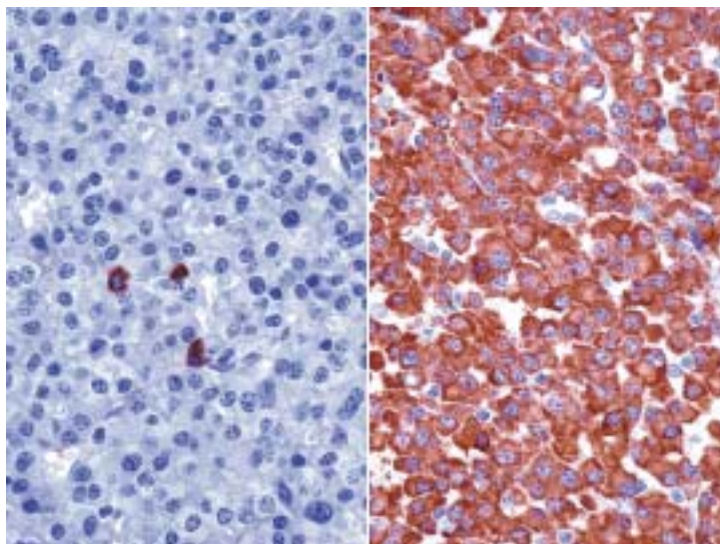


Рис. 16. Плазмноклеточная миелома: отсутствие экспрессии каппа- цепи (слева); та же опухоль, выраженная цитоплазматическая экспрессия лямбда-цепи (справа)

пан-В-клеточный антиген CD20 не выявляются в большинстве случаев, однако отмечается экспрессия CD38, CD79a и CD138. В качестве дополнительных маркеров плазматических клеток используются ЕМА (рис.17) и CD30, CD31, CD56. Приблизительно в 25% опухолей наблюдается экспрессия циклина D1 в ядрах [108, 159, 165, 202, 242]. Редкие наблюдения CD20⁺ плазмоклеточной миеломы требуют исключения плазмобластной лимфомы. Экспрессия CD56 миеломными клетками может быть использована при дифференциальной диагностике с реактивным плазмцитозом, так как в неопухолевых плазматических клетках CD56 отсутствует [108].

Плазмоцитомы — клональная пролиферация плазматических клеток, которые цитологически и иммунофенотипически идентичны тем, что составляют субстрат плазмоклеточной миеломы, клинически плазмоцитомы проявляются в виде одиночного костного или внекостного поражения (солитарная плазмоцитомы) [145, 175].

Экстранодальная лимфома В-клеточная маргинальной зоны, связанная с лимфоидной тканью слизистых оболочек (mucosa-associated lymphoid tissue) (MALT-лимфома) составляет только 7–8% от всех В-клеточных опухолей, но на нее приходится до 50% лимфом желудка, в этиологии которых придают большое значение хроническому воспалению, особенно обусловленному *Helicobacter pylori* [256]. Эрадикация этого возбудителя может привести к регрессу опухоли. MALT-лимфома может возникнуть и в других органах; согласно данным Международной группы по изучению экстранодальных лимфом, наиболее частыми локализациями MALT-лимфомы (за исключением желудка) являются: голова и шея — 30%, придатки глаза — 24%, легкое — 12%, кожа — 12%, тонкая кишка — 8%, щитовидная железа — 7%, молочная железа — 2%, мочеполовая система — 1% [51]. Лимфомы MALT-типа в щитовидной железе почти в 80% случаев развиваются на фоне аутоиммунного тиреоидита Хашимото; синдром Шегрена и миоэпителиальный сиалоаденит предшествуют развитию MALT-лимфом слюнной железы. *Borrelia burgdorferi* рассматривается как возможный этиологический фактор в развитии MALT-лимфом кожи.

В слизистой оболочке желудка опухолевые клетки первоначально располагаются вокруг реактивных фолликулов, снаружи

от мантийной зоны, в маргинальной зоне (рис. 18). В MALT-лимфомах описан своеобразный морфологический феномен колонизации реактивных фолликулов — внедрение опухолевых клеток в светлые центры размножения [121]. На поздних стадиях отмечается слияние инфильтратов с образованием больших фокусов поражения и исчезновением фолликулов. Клеточный состав характеризуется наличием центроцитоподобных клеток мелкого и среднего размера с неправильным контуром ядерной мембраны, умеренно плотным хроматином, малозаметным ядрышком и относительно обильной бледноокрашенной цитоплазмой, придающей им моноцитоподобный вид (рис. 19). В трети наблюдений отмечается плазмочитарная дифференцировка, особенно часто наблюдаемая в поражениях щитовидной железы. Возможна незначительная примесь больших клеток типа центробластов и иммунобластов. Для MALT-лимфом характерно формирование так называемых лимфоэпителиальных поражений за счет инвазии опухолевых лимфоцитов в железы с последующим разрушением эпителиальных структур (рис. 20).

Постановка диагноза MALT-лимфомы может вызывать большие сложности при изучении эндоскопических биопсий (гастробиопсий), в которых могут быть представлены не все гистологические признаки. Выявление густого диффузного лимфоидного инфильтрата в собственной пластинке слизистой и множественных лимфоэпителиальных поражений позволяет диагностировать MALT-лимфому [256].

В лимфатических узлах MALT-лимфома поражает маргинальные зоны, позднее отмечается интерфолликулярный рост. Моноцитоподобные клетки также обнаруживаются вокруг синусов.

Для избежания терминологических ошибок следует иметь в виду, что MALT-лимфома образована преимущественно клетками мелкого размера. В случае если в опухоли выявляются солидные фокусы или поля, состоящие из клеток крупного размера, следует употреблять термин «диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома», а не «MALT-лимфома высокой степени злокачественности», который более не используется.

Имунофенотипически опухолевые клетки экспрессируют поверхностные иммуноглобулины, CD20 и CD79a, негативны к CD5, CD10, CD23, циклину D1 [57, 66, 87]. Колонизированные фолликулы отличаются от реактивных неопухолевых фолликулов

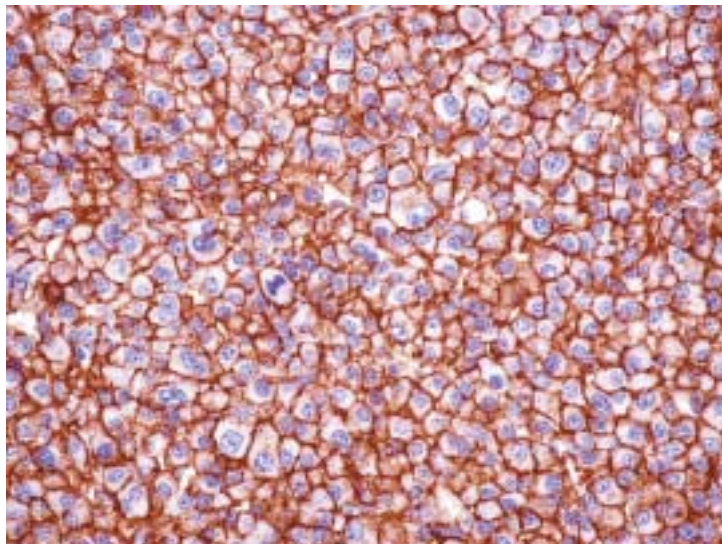


Рис. 17. Плазмноклеточная миелома: мембранная экспрессия антигена эпителиальных мембран (ЕМА)

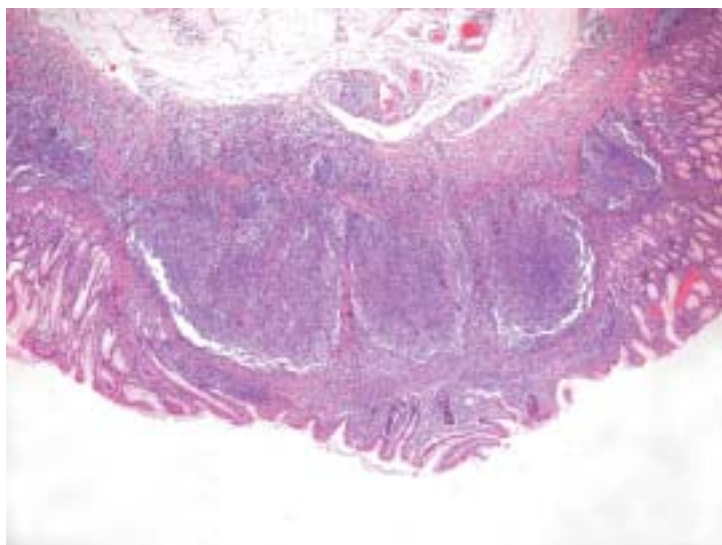


Рис. 18. MALT лимфома желудка.
Опухолевые клетки располагаются вокруг реактивных фолликулов в маргинальной зоне и инфильтрируют слизистую оболочку

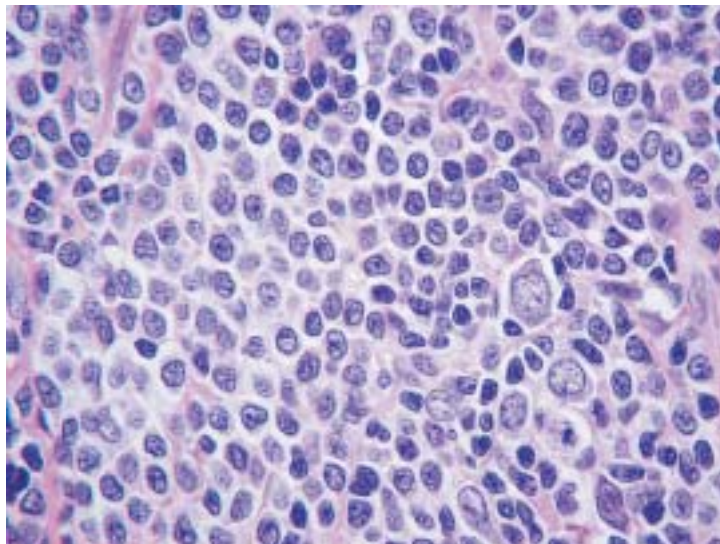


Рис. 19. MALT лимфома желудка, клеточный состав опухоли: центроцитоподобные, моноцитонидные клетки, активированные лимфоциты

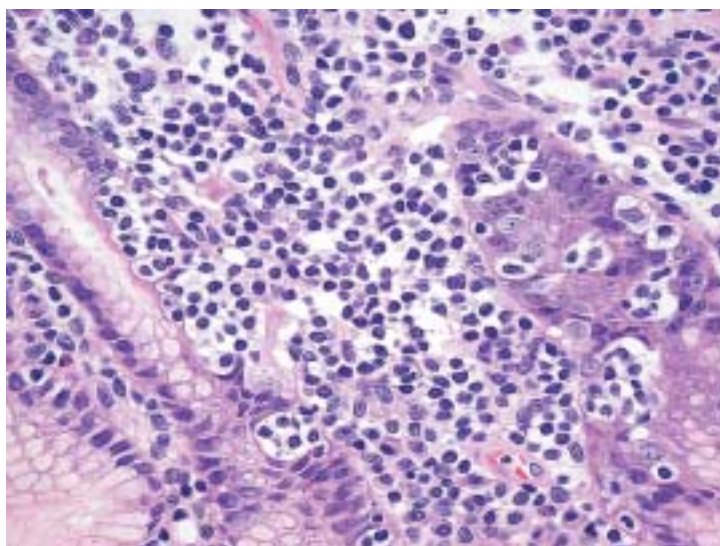


Рис. 20. MALT лимфома желудка: лимфоэпителиальные поражения

низкой экспрессией пролиферативного маркера Ki-67, позитивной экспрессией VCL-2 и разрушением сети фолликулярных дендритических клеток. Для выявления лимфоэпителиальных повреждений рекомендуется использовать антитела к панцитокератину.

В MALT-лимфомах описаны несколько типов цитогенетических аномалий. Наиболее частой (выявляется приблизительно у трети больных) и уникальной является транслокация $t(11;14)(q21;q21)$, вовлекающая ген ингибитора апоптоза API2 и ген MALT1. Другие транслокации — $t(1;14)(p22;q32)$, приводящая к мутации гена *bcl-10*, и $t(3;14)(p14.1;q32)$, связанная с генами тяжелых цепей иммуноглобулинов и геном *FOXP1*, встречаются значительно реже. Белок VCL-10 может быть выявлен с помощью иммуногистохимических методов. Ядерная экспрессия этого белка в MALT-лимфомах желудка указывает на возможную резистентность опухоли к антимикробной терапии [255, 258].

Нодальная В-клеточная лимфома маргинальной зоны — опухоль, морфологически напоминающая поражение лимфатических узлов в случаях маргинальных лимфом селезенки или MALT-лимфомы [47]. Характерны следующие типы роста: маргинальный (рис. 21), интерфолликулярный, синусоидный. Инfiltrат полиморфный, образован centrocyte-подобными лимфоцитами, моноцитоподобными клетками, малыми лимфоцитами, имеется также небольшая примесь centroblasts, иммунобластов, зрелых плазматических клеток [184, 229]. Так же как и в MALT-лимфомах, в нодальной В-клеточной лимфоме маргинальной зоны встречается колонизация фолликулов опухолевыми клетками (рис. 22). Иммунофенотип идентичен MALT-лимфоме.

Фолликулярная лимфома — вторая по частоте выявления опухоль из зрелых В-лимфоцитов, на нее приходится до 70% случаев лимфом низкой степени злокачественности в Европе и Северной Америке [67]. Согласно определению классификации ВОЗ, данный тип лимфомы состоит из клеток фолликулярных центров и диагностируется при наличии хотя бы остатков опухолевых фолликулов.

Опухолевые фолликулы при фолликулярных лимфомах обнаруживаются во всех анатомических зонах лимфатического узла, в отдельных случаях синусы сохраняются или даже расширены (рис. 23). Фолликулы имеют довольно однообразную фор-

му и примерно одинаковые размеры, чем отличаются от реактивных фолликулов [75]. Опухолевые фолликулы могут располагаться так тесно, что деформируют друг друга и приобретают отчасти полигональную форму. Опухолевые фолликулы могут иметь смазанные контуры, мантийная зона отсутствует (рис. 24). Рост определяется как фолликулярный, если фолликулы составляют более 75% площади пораженного лимфатического узла, фолликулярный и диффузный (фолликулы составляют 25–75% площади) и минимально фолликулярный, если фолликулярные зоны занимают менее 25% площади среза.

Приблизительно в 17% фолликулярных лимфом с фолликулярным ростом, в 65% лимфом — со смешанным и почти в 100% опухолей с диффузными типами отмечаются признаки склероза стромы лимфатического узла [92]. Частота развития склероза выше в медиастинальных и ретроперитонеальных лимфатических узлах. В редких наблюдениях фолликулярной лимфомы в экстрацеллюлярном матриксе, особенно в интерфолликулярных зонах, могут быть выявлены PAS-позитивные отложения.

Большинство фолликулярных лимфом образовано двумя типами лимфоцитов: клетками мелкого, а чаще — среднего размера с угловатым, вытянутым или расщепленным ядром с малозаметным ядрышком и скудной, бледноокрашенной цитоплазмой, известными как центроциты, а также центробластами — крупными клетками с округлым, овальным ядром, везикулярной (мелкодисперсной) структурой хроматина, имеющими 1–3 ядрышка, обычно расположенных у ядерной мембраны, и с ободком цитоплазмы, которая при окраске по Гимза имеет базофильный вид [157] (рис. 25). Среди лимфоидных элементов видны фолликулярные дендритические клетки, ядра которых нередко расположены парами, хроматин просветленный, а ядрышко — одиночное, лежит в центре ядра. В некоторых случаях ядра центробластов гиперхромны, имеют неправильные, дольчатые, очертания (рис. 26). Приблизительно в 10% случаев отмечено наличие моноцитоподобных В-лимфоцитов по периферии опухолевых фолликулов [184]. В межфолликулярных пространствах обнаруживаются центроциты и малые Т-лимфоциты [83]. Зоны с диффузным характером роста в фолликулярных лимфомах также образованы однородной смесью центроцитов, центробластов и малых лимфоцитов. К редким вариантам фолликулярной лимфомы относятся

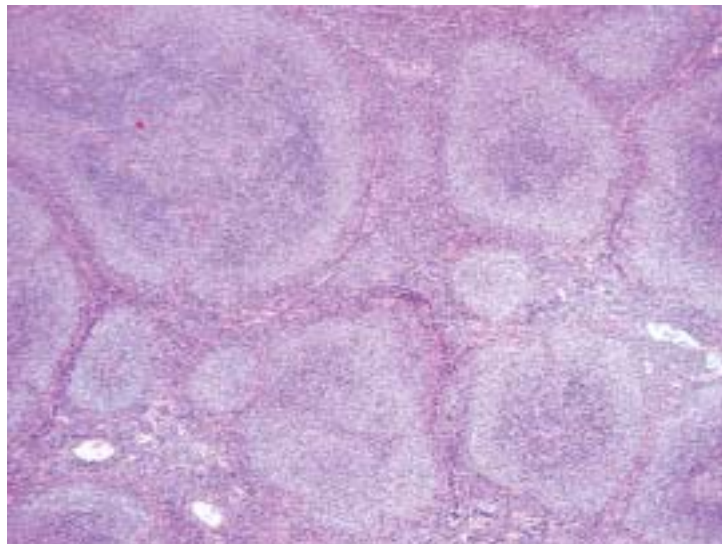


Рис. 21. Нодальная В-клеточная лимфома маргинальной зоны: маргинальный тип роста

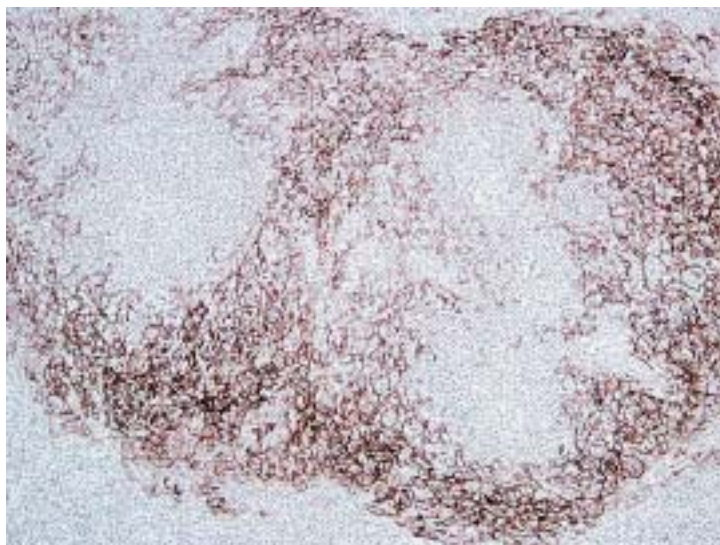


Рис. 22. Нодальная В-клеточная лимфома маргинальной зоны: колонизация фолликулов моноцитоподобными клетками, разрушение сети фолликулярных дендритических клеток (экспрессия CD23)

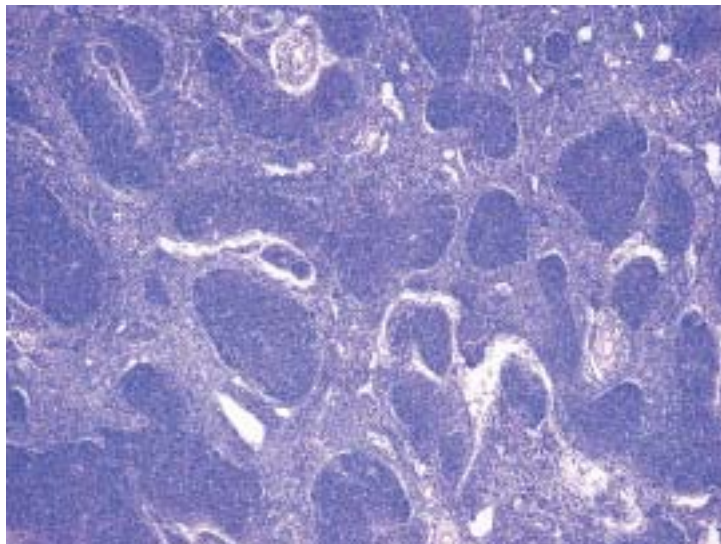


Рис. 23. Фолликулярная лимфома: опухолевые фолликулы заполняют весь лимфатический узел, не сдавливая боковые синусы

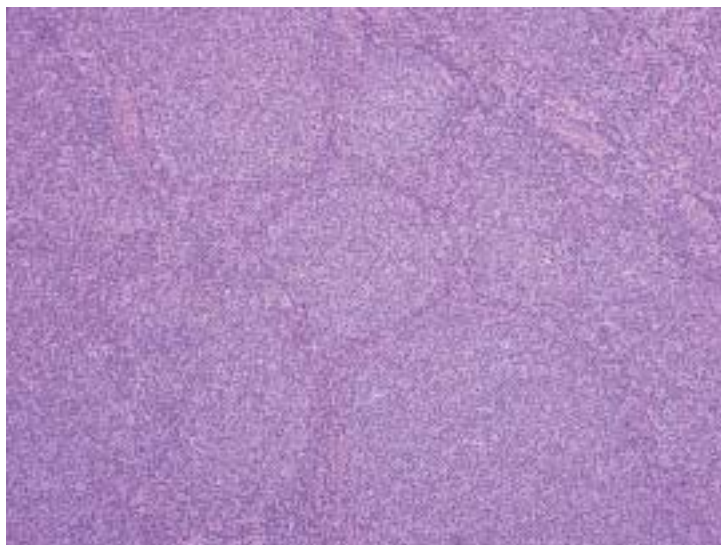


Рис. 24. Фолликулярная лимфома: опухолевые фолликулы тесно расположены, зона мантии нечеткая

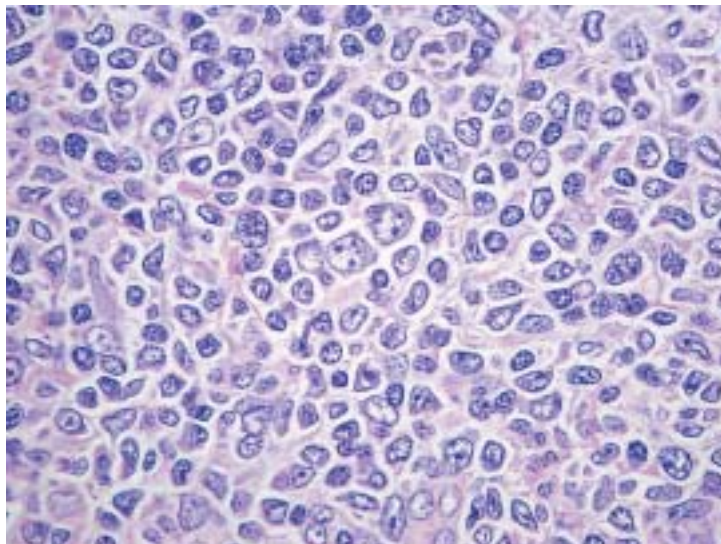


Рис. 25. Фолликулярная лимфома, клеточный состав: смесь centroцитов и центробластов (2 типичные клетки в центре поля зрения)

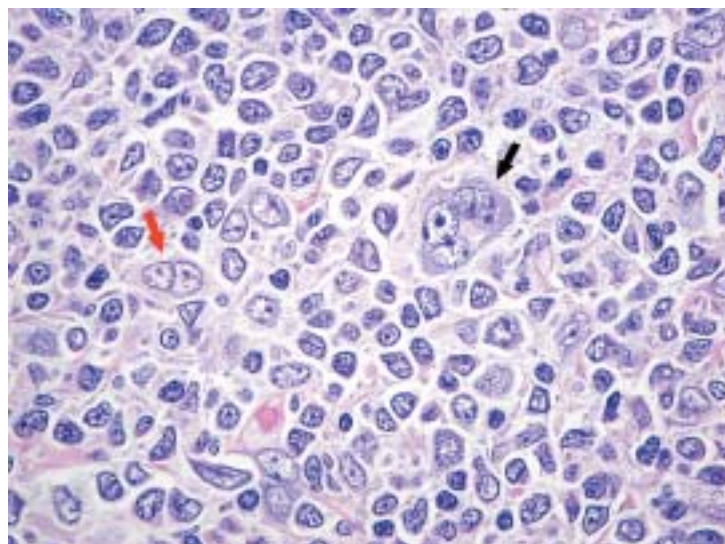


Рис. 26. Фолликулярная лимфома: резко атипичный центробласт (черная стрелка); красная стрелка указывает на фолликулярную дендритическую клетку

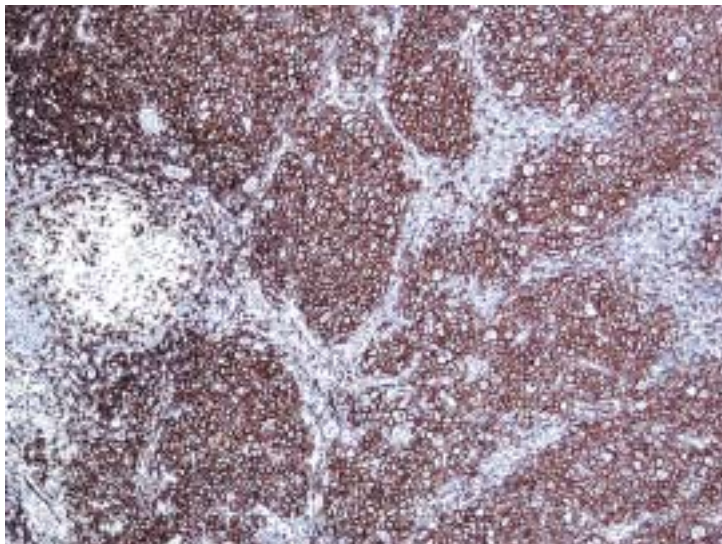


Рис. 27. Фолликулярная лимфома: мембранная экспрессия CD20

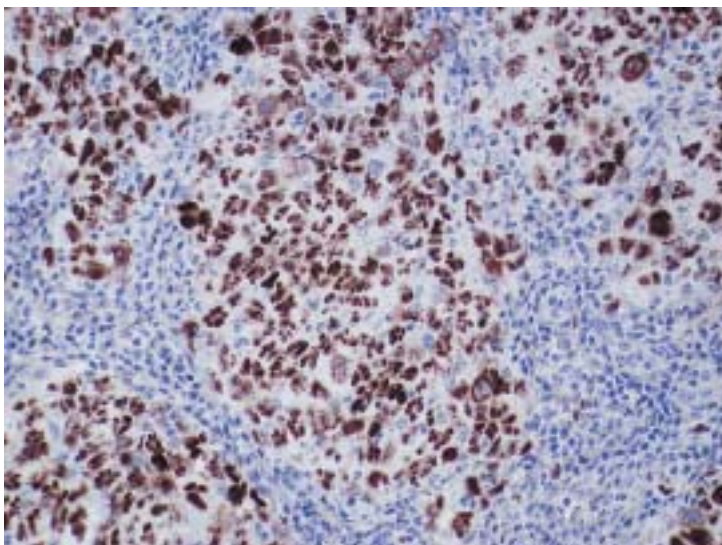


Рис. 28. Фолликулярная лимфома: ядерная экспрессия bcl-6

случаи с бластной/бластоидной, перстневидно-клеточной морфологией опухолевых лимфоцитов [109].

Классификация ВОЗ рекомендует подразделять фолликулярные лимфомы на 3 степени (злокачественности) [164]. В зависимости от числа центробластов, подсчитанных в 10 полях зрения большого увеличения микроскопа (об. $\times 40$) и выраженных в их числе на 1 поле, фолликулярная лимфома подразделяется на 3 степени: 1 — 0–5 центробластов/поле зрения; 2 — 6–15 центробластов/поле зрения; 3 — более 15 центробластов. Подсчет проводится в разных фолликулах, выбранных случайно. В степени 3 выделяют степень 3a, если центроциты еще присутствуют в опухоли, и степень 3b, если имеются солидные поля, состоящие только из центробластов. Необходимо строго учитывать площадь поля зрения при подсчете. Указанные выше параметры определены при площади 0,159 мм²; если поле зрения имеет другой размер, следует произвести перерасчет. Необходимость выделения степеней обусловлена их прогностическим значением.

Иммунофенотип фолликулярной лимфомы характеризуется экспрессией пан-В-клеточных антигенов CD20 (рис. 27) и CD79a, а также CD10 и bcl-6 (рис. 28), а CD5 — негативен [13, 57, 66, 82, 88]. CD21 и CD23 выявляют сеть фолликулярных дендритических клеток, количество которых снижается по мере возрастания степени злокачественности фолликулярной лимфомы и при трансформации в диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому [230].

Для фолликулярной лимфомы характерна транслокация t(14;18), сопровождающаяся экспрессией белка — антагониста апоптоза bcl-2 в 70–95% случаев (рис. 29) [17, 71]. Данную особенность можно использовать для дифференциальной диагностики этой опухоли с фолликулярной гиперплазией [17, 240]. При реактивном процессе bcl-2 окрашивает клетки зоны мантии, а центры фолликулов негативны (рис. 30), в опухоли bcl-2 массивно маркирует клетки в опухолевых фолликулах (рис. 31). Следует, однако, иметь в виду, что частота экспрессии протеина bcl-2 снижается по мере возрастания степени злокачественности фолликулярной лимфомы, поэтому этот белок обнаруживается почти в 100% случаев фолликулярных лимфом 1 степени, а в лимфомах 3 степени — только в 75% [71, 188].

В классификации ВОЗ выделяется также диффузная лимфома из клеток фолликулярного центра, которая имеет те же клеточный состав и иммунофенотип, что и фолликулярная лимфома, но, в отличие от нее, не обладает фолликулярным характером роста. Диффузные фолликулярные лимфомы, как правило, имеют степень 1 или 2 [185]. Если количество центробластов выше порога 15 клеток/поле зрения, такую опухоль следует расценивать как диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому. При диагностике такого варианта лимфомы следует иметь в виду, что при фрагментации лимфатического узла во время биопсии может сложиться ложное впечатление о наличии только диффузного роста, поэтому данный диагноз следует ставить с большой осторожностью.

При **лимфоме из клеток зоны мантии** возможна нодальная и экстранодальная локализация поражения. Строение лимфатических узлов нарушено: встречается один из 3 типов роста опухоли: нодулярный, диффузный (рис. 32) и мантийный (распространение опухолевых клеток преимущественно в зоне мантии) [49, 126]. Опухоль образована клетками мелкого или среднего размера с неправильными контурами ядер, напоминающими центроциты, что было причиной в прошлом ошибочно считать данную опухоль центроцитарной лимфомой. Хроматин умеренно плотный, ядрышки малозаметны. Центробласты, иммунобласты, параиммунобласты, структуры типа псевдофолликулов отсутствуют, что важно учитывать в диагностике. Нередко отмечается фиброз и даже гиалиноз мелких сосудов. Возможно обнаружение эпителиоидных гистиоцитов, плазматических клеток, рассеянных в опухоли фолликулярных дендритических клеток (рис. 33).

Различают 4 цитологических подтипа лимфомы из клеток зоны мантии: мелкоклеточный, классический, плеоморфно-клеточный и бластоидный [237]. Мелкоклеточный подтип образован опухолевыми лимфоидными клетками с мелкими, компактными ядрами, с нерезко выраженной угловатой формой ядер и плотным хроматином с грубой структурой. При гистологическом исследовании такую опухоль трудно отличить от лимфомы из малых лимфоцитов (лимфоцитарной лимфомы). Полиморфно-клеточный цитологический подтип характеризуется клетками с довольно крупными ядрами угловатой формы, мелкозернистым или глыбчатым хроматином, который располагается возле ядерной

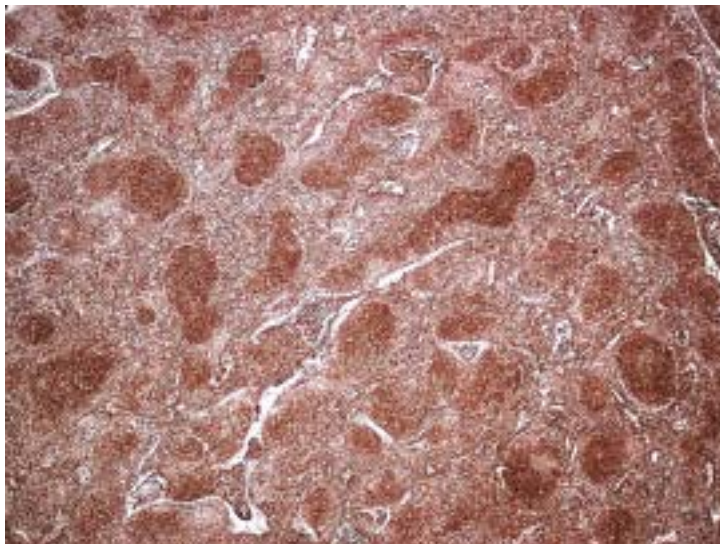


Рис. 29. Фолликулярная лимфома: опухолевые фолликулы экспрессируют bcl-2

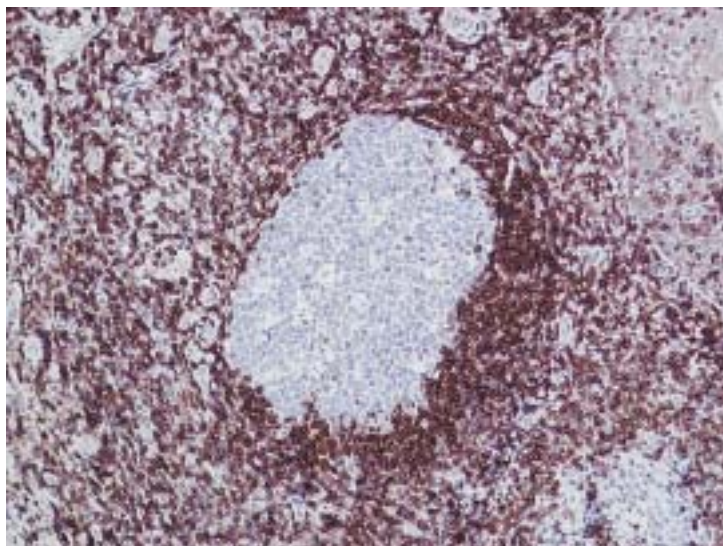


Рис. 30. Миндалины: в норме антитела к bcl-2 окрашивают клетки зоны мантии, а центры фолликулов негативны

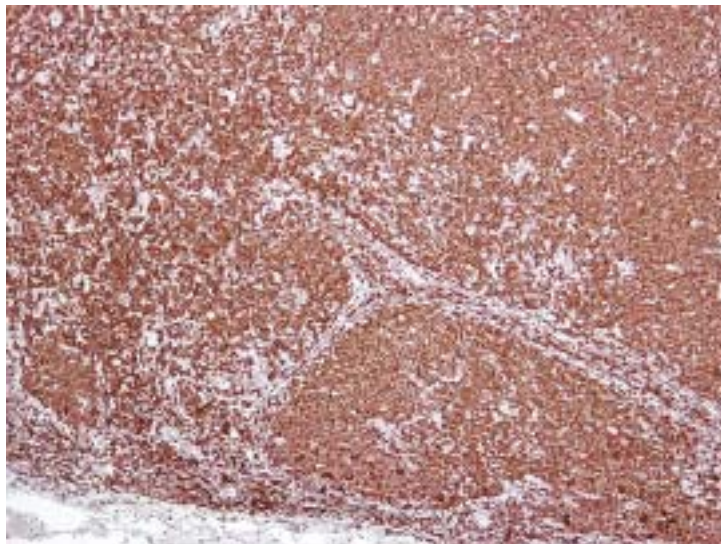


Рис. 31. Фолликулярная лимфома: экспрессия bcl-2 в опухолевых фолликулах и зонах диффузного роста

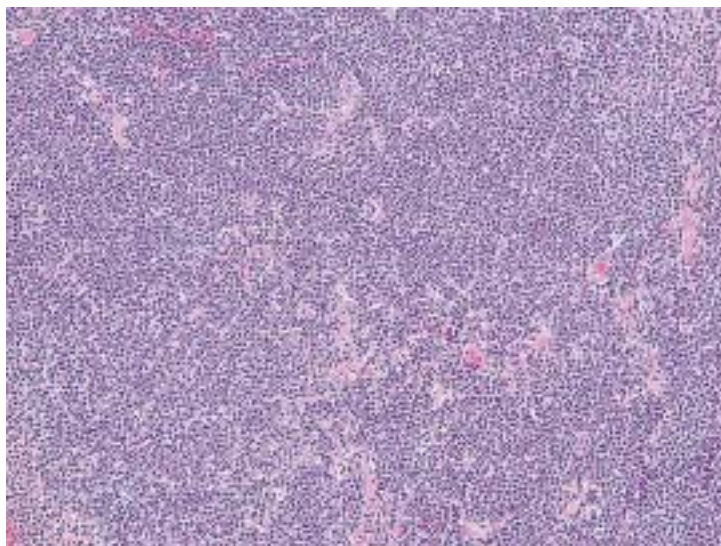


Рис. 32. Лимфома из клеток зоны мантии: диффузный тип роста, очаговый фиброз стромы лимфатического узла

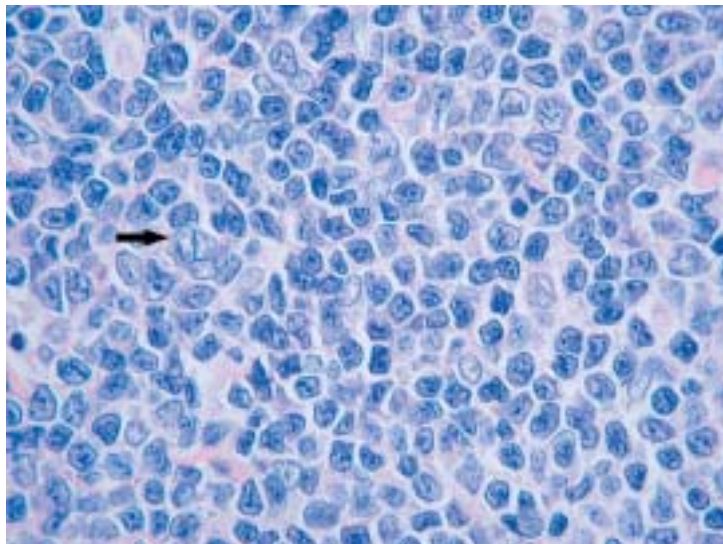


Рис. 33. Лимфома из клеток зоны мантии:
центроцитоподобные клетки опухоли, стрелка указывает на фолликулярную
дендритическую клетку

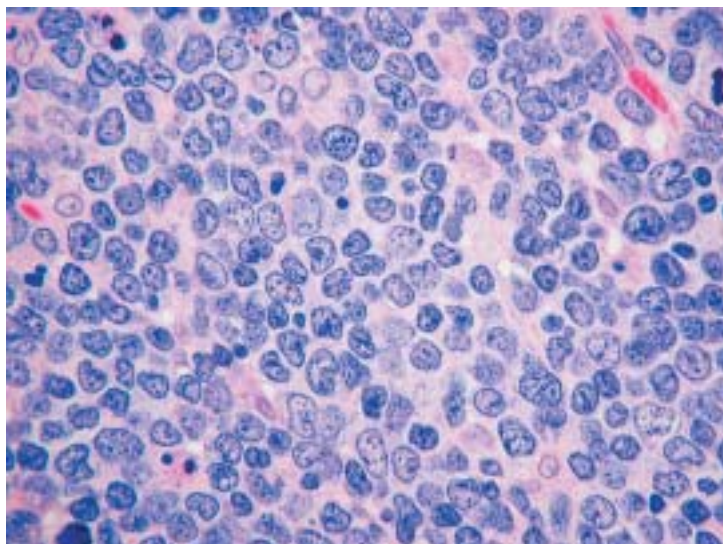


Рис. 34. Лимфома из клеток зоны мантии, классический бластоидный вариант:
клетки напоминают лимфобласты нежной структурой хроматина

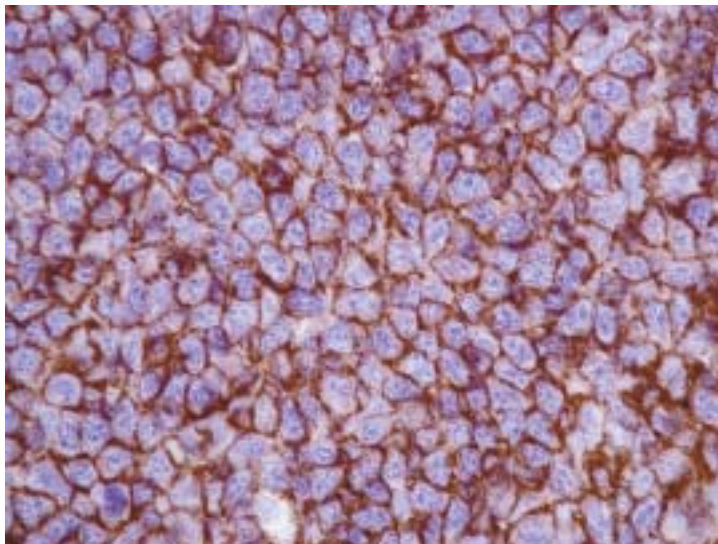


Рис. 35. Лимфома из клеток зоны мантии: мембранная экспрессия CD20

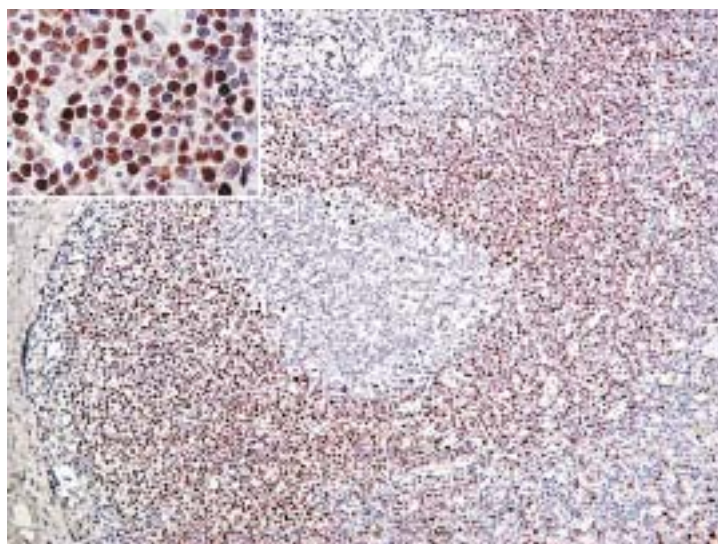


Рис. 36. Лимфома из клеток зоны мантии: мантийный тип роста, ядерная экспрессия циклина D1 (вставка)

мембраны, в ядрах различимы 1–2 мелких ядрышка. Строение ядер и довольно высокая митотическая активность опухоли требуют проведения дифференциальной диагностики с диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой. Бластиодный цитологический подтип — опухоль из относительно крупных клеток с нежным однородным хроматином в ядрах, напоминающим строение ядер опухолевых клеток-предшественников (лимфобластов) (рис. 34).

Разнообразие морфологических вариантов подчеркивает важность применения иммуногистохимического анализа для определения этого типа лимфомы. Кроме экспрессии пан-В-клеточных антигенов CD20 (рис. 35) и CD79a также характерно наличие CD5 при негативном CD23 [57, 86, 87, 149]. CD21 выявляет рыхлую сеть фолликулярных дендритических клеток [20].

В лимфоме из клеток зоны мантии описана специфическая цитогенетическая абберрация — транслокация t(11;14), что приводит к гиперэкспрессии циклина D1, выявляемого иммуногистохимически в ядрах опухолевых лимфоцитов (рис. 36) [28, 77]. Данная реакция является наиболее важной при дифференциальной диагностике мантийной лимфомы. Клетки при бластоидном варианте не экспрессируют TdT, в отличие от лимфобластной лимфомы, где этот маркер присутствует.

Среди экстранодальных поражений при мантийной лимфоме наиболее характерен лимфоматоидный полипоз — заболевание желудочно-кишечного тракта с формированием множественных полиповидных образований, представляющих собой фокусы лимфомы.

Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома — наиболее распространенный вариант В-клеточной лимфомы. Описаны нодальные и экстранодальные варианты первичной локализации опухоли, поражение может быть локализованным и диссеминированным. Обычно отмечается полное стирание строения лимфатического узла по диффузному типу с переходом инфильтрации на перинодальную клетчатку, хотя также возможно частичное поражение, интерфолликулярный и даже синусоидный тип роста. Опухоль образована крупными лимфоидными клетками, в среднем в 2 и более раз превышающими размеры малого лимфоцита. Цитологически данный тип лимфомы отличается выраженным полиморфизмом, что позволяет выделить несколько

морфологических вариантов, это, однако, не является обязательным ввиду отсутствия четких критериев и прогностического значения.

Морфологические варианты диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы [4, 7, 92]:

1. Центробластный — опухоль образована крупными лимфоидными клетками с везикулярной структурой хроматина, 2–4 ядрышками, расположенными у ядерной мембраны, и умеренно развитой цитоплазмой, окрашенной амфотропно или базофильно (рис. 37). В части случаев ядра бывают многодольчатыми (рис. 38). Опухоль может иметь мономорфный вид, если построена преимущественно из клеток одного типа, также возможна примесь иммунобластов, не превышающих 90% от числа всех клеток, придающих лимфоме полиморфизм.

2. Иммунобластный — более 90% опухолевых клеток составляют иммунобласты, имеющие центрально расположенное крупное ядрышко и обильную базофильную цитоплазму. Иногда клетки имеют плазмцитоподобные черты (рис. 39).

3. Лимфома с обилием Т-лимфоцитов и гистиоцитов — в этой опухоли преобладают реактивные клетки: Т-лимфоциты и гистиоциты, а опухолевые В-лимфоциты, имеющие вид центробластов, иммунобластов, а в отдельных случаях напоминающие клетки Березовского–Штернберга–Рид, составляют менее 10% от всего клеточного состава (рис. 40) [130]. Данный тип лимфомы требует особенно тщательного иммунофенотипирования: опухолевые клетки отчетливо экспрессируют CD20 (рис. 41), а реактивные малые лимфоциты — CD3 (рис. 42).

4. Анапластический — опухоль образована очень крупными овальными, круглыми, угловатыми клетками с плеоморфными ядрами, имеющими сходство с клетками Березовского–Штернберга–Рид (рис. 43). Опухолевые клетки могут располагаться в виде пласта, в том числе в синусах лимфатических узлов, напоминая метастатическую карциному.

Иммунофенотип диффузной крупноклеточной лимфомы характеризуется экспрессией пан-В-клеточных антигенов — CD20 (рис. 44) или CD79a [40]. Интенсивность иммуногистохимического окрашивания может значительно варьировать (рис. 45), возможна утрата какого-либо из них как проявление aberrantного фенотипа. Значение такой характеристики экспрессии

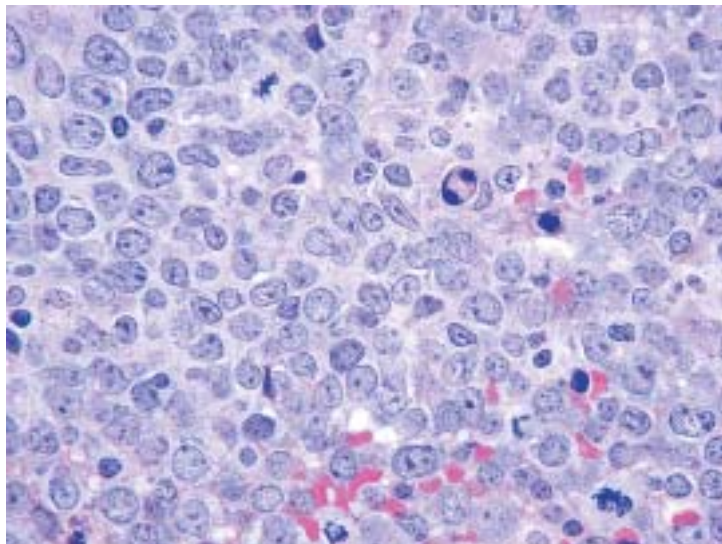


Рис. 37. Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома:
центробластный вариант

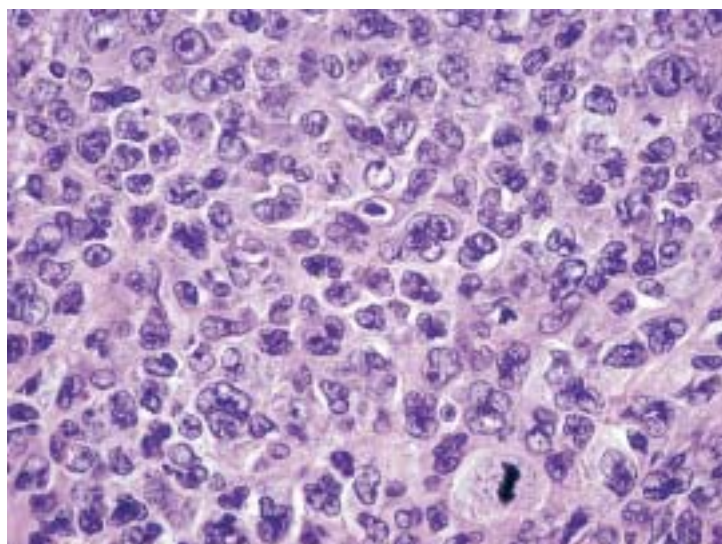


Рис. 38. Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома:
многодольчатые опухолевые клетки

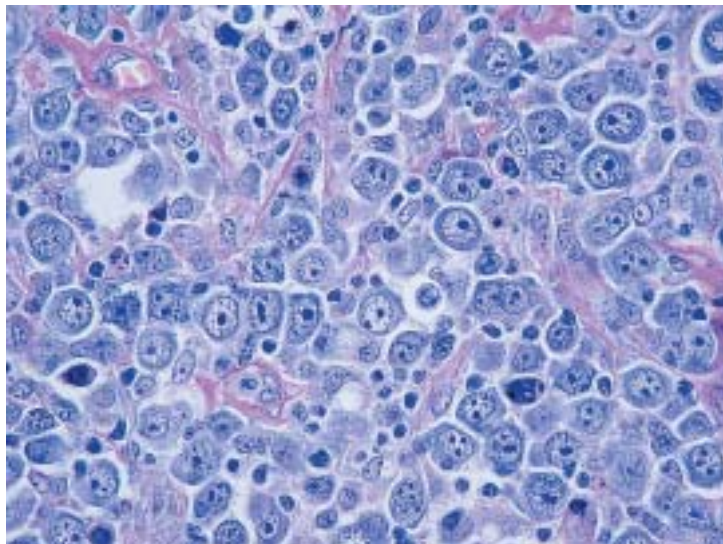


Рис. 39. Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома:
иммуобластный вариант

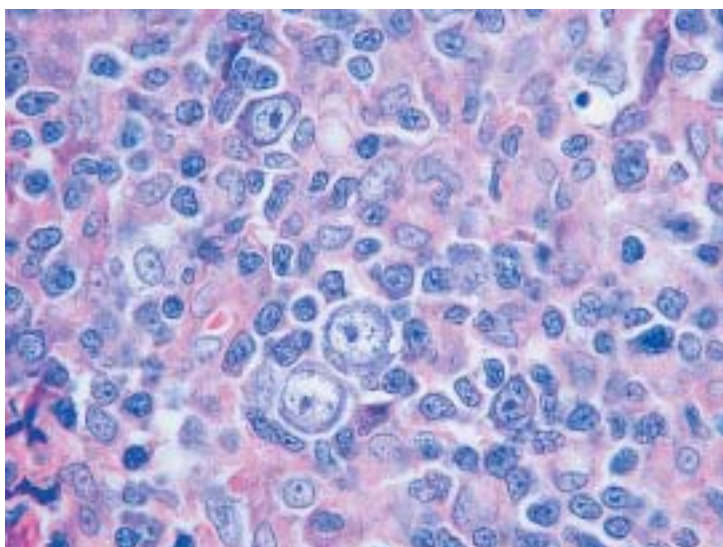


Рис. 40. Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома, вариант
с обилием Т-лимфоцитов и гистиоцитов: немногочисленные опухолевые
иммуобласты на фоне малых лимфоцитов и гистиоцитов

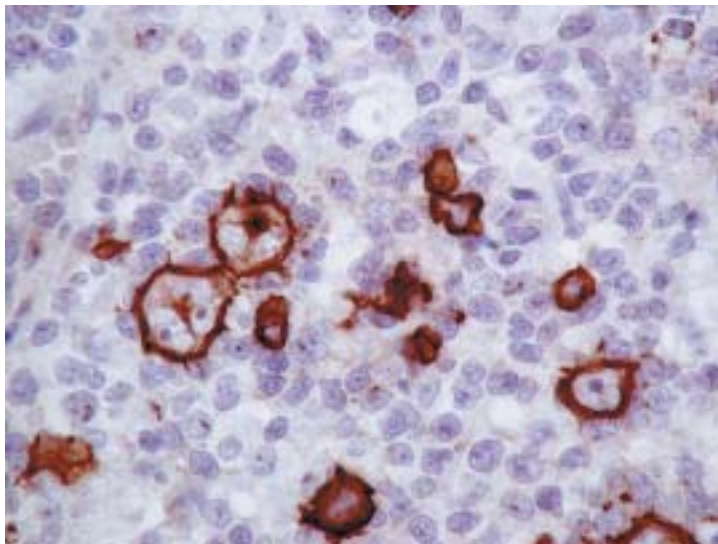


Рис. 41. Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома, вариант с обилием Т-лимфоцитов и гистиоцитов: та же опухоль, мембранная экспрессия CD20 опухолевыми В-клетками

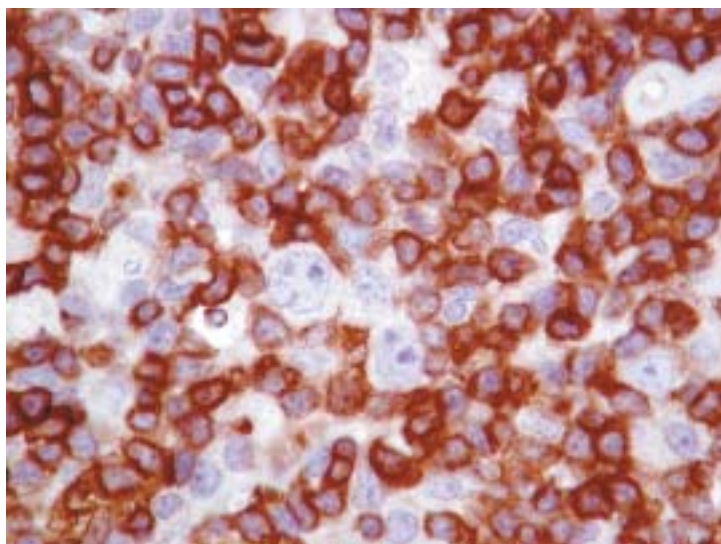


Рис. 42. Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома, вариант с обилием Т-лимфоцитов и гистиоцитов: та же опухоль, экспрессия CD3 малыми лимфоцитами реактивного инфильтрата

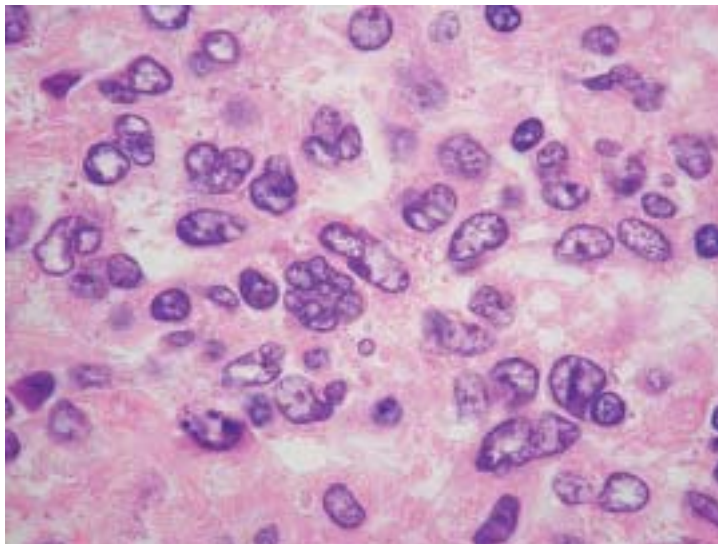


Рис. 43. Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома:
анапластический вариант

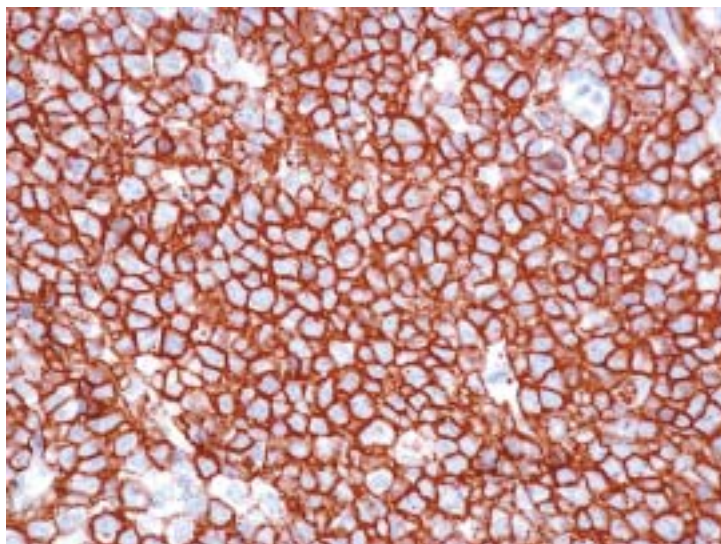


Рис. 44. Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома:
интенсивная экспрессия CD20 практически всеми опухолевыми клетками

CD20, как количество позитивных клеток, велико при выборе больных для лечения с помощью моноклональных антител к CD20 (Rituximab®), так как очевидно, что опухоли с низким уровнем экспрессии будут малочувствительны к данному препарату. Применение Rituximab® может привести, в случае рецидива опухоли, к развитию CD20 – негативной лимфомы.

В 50–75% случаев отмечается экспрессия поверхностных или цитоплазматических Ig, чаще IgM. При анапластическом варианте опухоли большинство клеток имеет антиген CD30, в прочих случаях он отмечается редко [190]. CD5 встречается приблизительно в 10% наблюдений, но циклин D1 всегда отсутствует [168]. Пролиферативная активность опухоли высокая, пролиферативный пул колеблется от 40 до 90% и более.

В соответствии с генотипом диффузные крупноклеточные лимфомы могут быть подразделены на опухоли с генотипом герминогенных клеток и лимфомы с генотипом активированных клеток [12]. Иммуногистохимически лимфомы с фенотипом клеток герминогенных центров (42% случаев) экспрессируют CD10 и BCL-6, MUM1 – негативный, а лимфомы из клеток негерминогенного происхождения (активированные клетки) (58% наблюдений) имеют фенотип: CD10-, BCL-6-, MUM1+ [107]. Важность подобного анализа связана с различием в клиническом течении и прогнозе. Лимфомы с фенотипом герминогенных клеток имеют лучший прогноз по сравнению с лимфомами, имеющими активированный фенотип [101].

Описано небольшое количество наблюдений диффузной крупноклеточной лимфомы с плазмоцитоидными чертами и экспрессией ALK, CD4, CD138 при отсутствии большинства пан-В-клеточных антигенов; сущность процесса в настоящее время полностью не изучена, и поэтому эта лимфома не входит в основную классификационную схему [79].

Особым типом крупноклеточной В-клеточной лимфомы является **медиастинальная (тимическая) В-клеточная крупноклеточная лимфома**, которая чаще всего развивается у женщин 30–50 лет. Морфологическая картина данной опухоли характеризуется диффузной пролиферацией опухолевых клеток на фоне выраженного фиброза стромы. Коллагеновые волокна разделяют опухоль на отдельные группы клеток. Клетки лимфомы полиморфны, их вид варьирует как между разными участками опухоли

ли, так и в пределах одного клеточного скопления. Клетки варьируют в размерах, обычно крупные, но могут быть и среднего размера, напоминая клетки маргинальной зоны [200]. Нередко отмечается наличие обильной, бледно окрашенной цитоплазмы, что придает клеткам «пустой» вид. В опухоли присутствуют реактивные элементы: лимфоциты, гистиоциты, что усиливает ее сходство с лимфомой Ходжкина (рис. 46) [52].

Как и все лимфомы В-клеточного происхождения, данная опухоль характеризуется экспрессией CD20 (рис. 47) и CD79a. Экспрессия CD30 присутствует, но обычно имеет фокальный и слабый характер. Опухолевые клетки позитивны к CD45RB (LCA), что отличает их от классической лимфомы Ходжкина [204]. Характерна экспрессия CD23, которая редко встречается при других типах диффузной крупноклеточной лимфомы [45]. Пролиферативная активность переменная, в отдельных случаях — очень высокая. Молекулярно-биологический анализ показал, что данная опухоль имеет большее сходство с классической лимфомой Ходжкина, чем с другими вариантами диффузных крупноклеточных В-клеточных лимфом [225]. Медиастинальная лимфома развивается из В-лимфоцитов тимуса, получивших название астеродных клеток [45].

Лимфому Бёркитта эпидемиологически подразделяют на эндемическую, спорадическую и ассоциированную с иммунодефицитом, а морфологически — на классическую, с плазмоцитоидной дифференцировкой и атипическую — бёркиттоподобную. Для классической лимфомы Бёркитта характерна диффузная монотонная пролиферация лимфоидных клеток среднего размера, ядра которых приблизительно равны размерам ядер реактивных гистиоцитов. Присутствие гистиоцитов придает опухоли вид «звездного неба» (рис. 48). Опухолевые клетки расположены плотно друг к другу, после фиксации границы клеток приобретают подчеркнутый вид. Ядра округлые, хроматин плотный, имеется несколько центрально расположенных базофильных ядрышек среднего размера (рис. 49). Цитоплазма базофильная, может содержать липидные вакуоли, видимые в отпечатках или цитологических мазках. Для лимфомы Бёркитта характерна очень высокая митотическая активность, множество клеток также подвергается апоптозу, фрагменты ядер видны в цитоплазме гистиоцитов [143, 180].

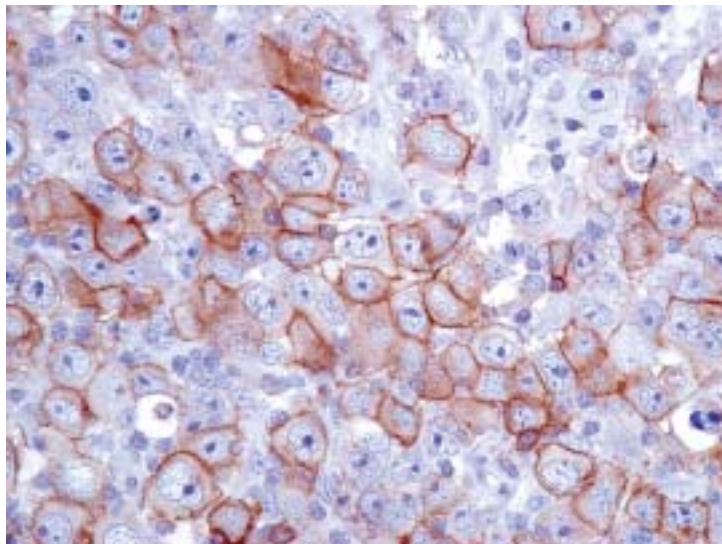


Рис. 45. Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома, иммунобластный вариант, слабая экспрессия CD20 частью опухолевых клеток

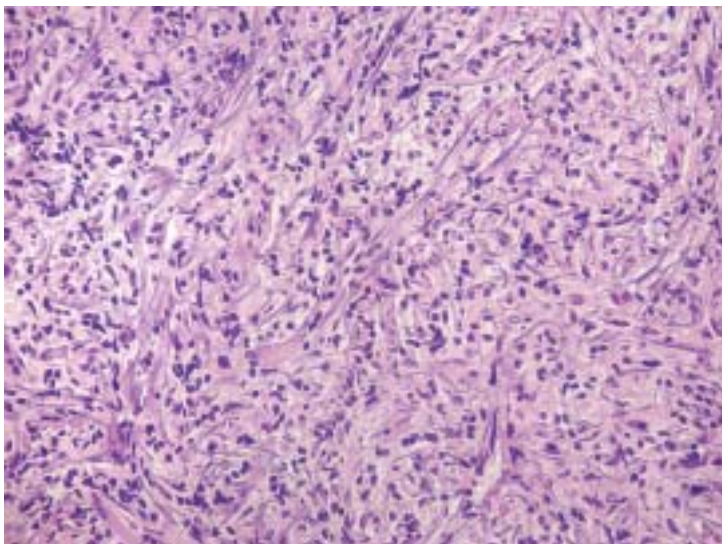


Рис. 46. Медиастинальная В-клеточная крупноклеточная лимфома: светлые опухолевые клетки расположены между пучками коллагеновых волокон

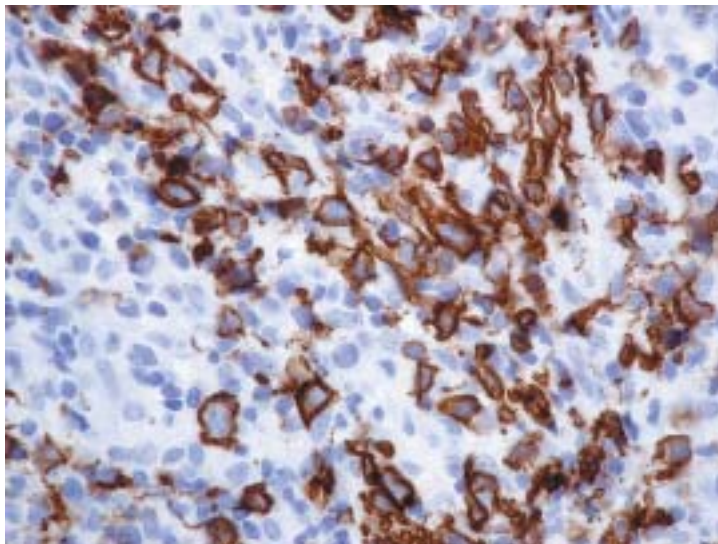


Рис. 47. Медиастинальная В-клеточная крупноклеточная лимфома: интенсивная экспрессия CD20 опухолевыми клетками

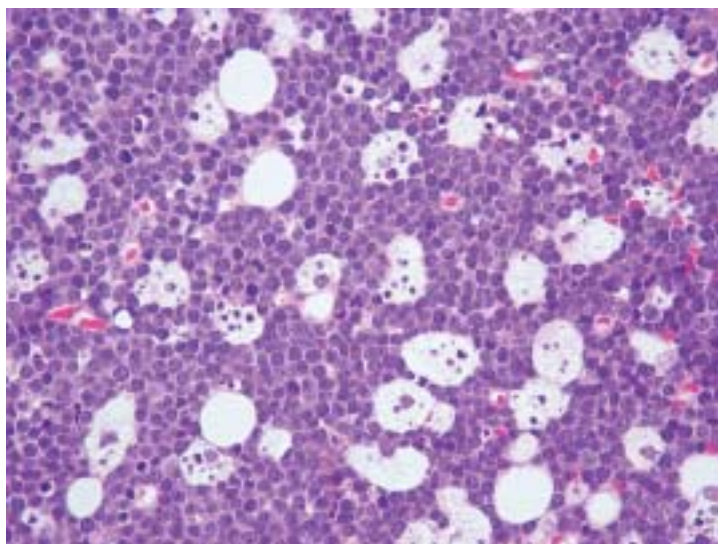


Рис. 48. Лимфома Бёркитта: мономорфный инфильтрат, картина «звездного неба» за счет реактивных макрофагов, фагоцитирующих клеточный детрит

В лимфоме Бёркитта с плазмочитоидной дифференцировкой опухолевые клетки более полиморфные, чем в классическом варианте, часть клеток приобретает обильную цитоплазму, а в ядрах имеется одиночное, центрально расположенное ядрышко [116].

Атипичная лимфома Бёркитта образована клетками среднего размера, имеющими значительные колебания в размере и форме ядер, ядрышки более выраженные, чем в классическом типе опухоли.

Иммунофенотип всех вариантов лимфомы Бёркитта схож: это экспрессия пан-В-клеточных антигенов CD20 и CD79a в сочетании с CD10, BCL-6 [39, 82, 118]. CD5, CD23, TdT — негативны. Белок — антагонист апоптоза BCL-2 выявляется в 1–15% опухолей [98]. В случаях с плазмочитоидной дифференцировкой возможно выявление цитоплазматических Ig. Очень высокая пролиферативная активность (индекс метки Ki-67 около 100%) служит одним из дифференциально-диагностических признаков данной опухоли (рис. 50) [35, 118].

В 80% случаев лимфомы Бёркитта имеется транслокация t(8;14), приводящая к перемещению гена *c-myc*, находящегося на 8-й хромосоме, к гену тяжелых цепей иммуноглобулинов на хромосоме 14, с последующей гиперэкспрессией гена *c-myc* [38]. Иммуногистохимическое определение экспрессии белка *c-myc* затруднено, поэтому молекулярно-биологический анализ остается методом выбора для изучения этой цитогенетической аномалии.

Среди редких форм В-клеточных опухолей можно упомянуть **внутрисосудистую лимфому, первичную лимфому серозных полостей**, а также **лимфоматоидный гранулематоз** — ангиоцентрическое и ангиодеструктивное заболевание, обусловленное пролиферацией Эпштейн–Барр-позитивных В-лимфоцитов на фоне многочисленных реактивных Т-клеток, с экстранодальной локализацией.

Внутрисосудистая лимфома характеризуется полиорганной пролиферацией опухолевых клеток в просвете артерий, капилляров и мелких вен. Наиболее часто поражение локализуется в центральной нервной системе, почках, коже, костном мозге, печени и легком. Стенки сосудов и прилежащие ткани оказываются нетронуты опухолевой инфильтрацией, или она очень незначительна. Клетки опухоли внутри кровеносных сосудов имеют

морфологию крупных активированных лимфоидных клеток (рис. 51), что вместе с иммунофенотипом позволяет отнести лимфому к диффузным крупноклеточным В-клеточным (рис. 52) [3, 122, 248].

Наиболее характерные маркеры иммунофенотипа В-клеточных опухолей с фенотипом зрелых лимфоцитов суммированы в табл. 4.

Периферические (посттимические) Т-клеточные лимфомы развиваются из клеток, прошедших тимическую фазу созревания. НК-клеточные лимфомы имеют биологическую близость с Т-клеточными лимфомами, поэтому в последней классификации ВОЗ описание этих опухолей изложено вместе. При выделении отдельных форм таких лимфом наибольшее значение имели клинические данные. Для Т-клеточных лимфом типично морфологическое разнообразие со спектром гистологических вариантов внутри отдельных форм. Клеточный состав может варьировать от мелких клеток с минимальной атипией до крупных анаплазированных элементов. В отличие от В-клеточных лимфом, большинство опухолей из Т-лимфоцитов не имеет специфического «уникального» иммунофенотипа, а их моноклональность невозможно выявить при иммунофенотипировании, хотя aberrантный фенотип (утрата одного и более пан-Т-клеточных маркеров) может косвенно свидетельствовать в пользу опухоли. Следует отметить, что данные лимфомы вообще редки (см. табл. 2) и частота их выявления колеблется в разных частях мира, с более высокой относительной частотой выявления среди населения стран Азии.

Т-пролимфоцитарный лейкоз — злокачественное заболевание с агрессивным клиническим течением, характеризующееся поражением костного мозга, периферической крови, лимфатических узлов, селезенки и печени. В лимфатических узлах опухолевая инфильтрация выражена в паракортикальных отделах. Отмечается пролиферация посткапиллярных венул, стенки которых инфильтрированы опухолевыми клетками. В костном мозге на фоне ретикулинового фиброза имеется инфильтрация очагово-интерстициального, или диффузного, характера. В коже инфильтрация локализуется внутридермально, нередко вокруг придатков кожи, не имеет признаков эпидермотропизма. Т-пролимфоциты — это клетки мелкого и среднего размера с овальным или

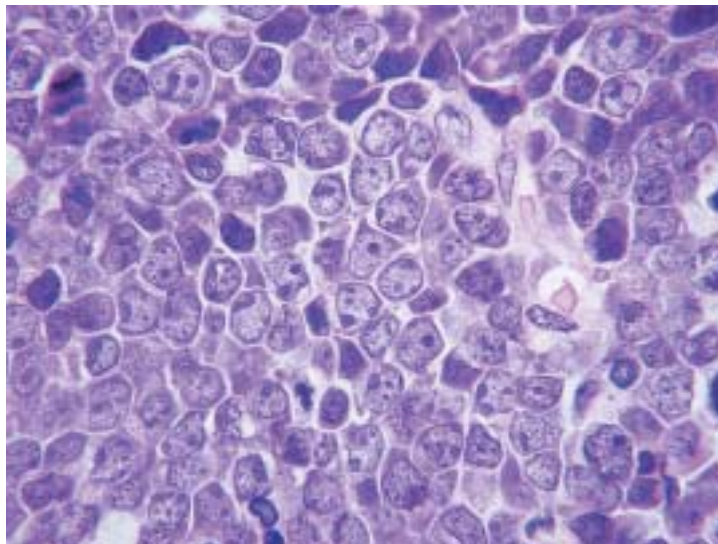


Рис. 49. Лимфома Бёркитта, клеточный состав: опухолевые клетки среднего размера, ядра округлые с плотным хроматином, имеют несколько центрально расположенных базофильных ядрышек

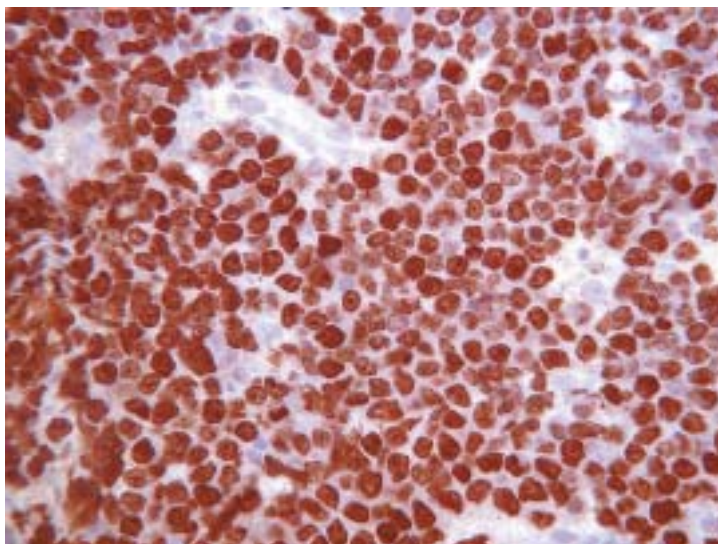


Рис. 50. Лимфома Бёркитта: антиген Кi-67 выявляется в ядрах 100% опухолевых клеток

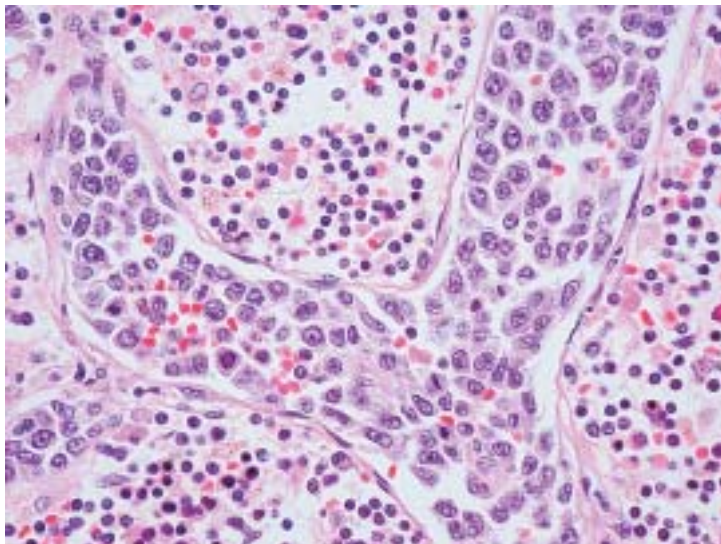


Рис. 51. Внутрисосудистая В-клеточная лимфома, костный мозг: клетки опухоли расположены в синусоидах и имеют морфологию крупных активированных лимфоцитов

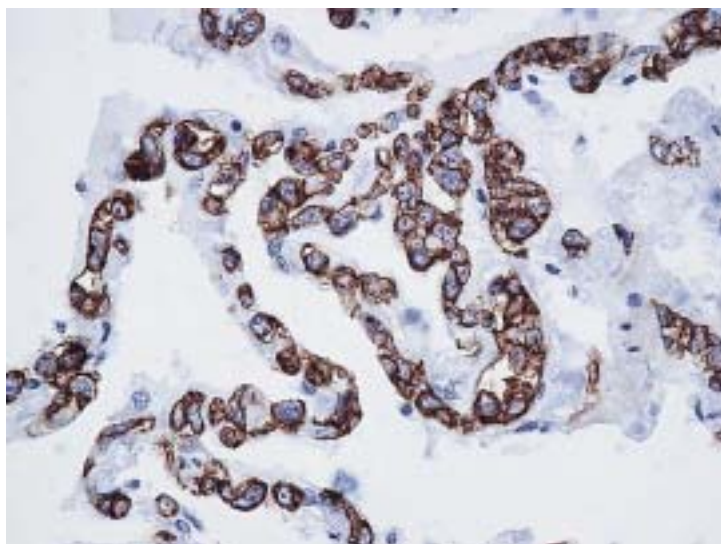


Рис. 52. Внутрисосудистая В-клеточная лимфома: опухолевые клетки в капиллярах альвеолярных перегородок легкого, экспрессия CD20

Таблица 4

**Иммунофенотип наиболее часто встречающихся
форм В-клеточных опухолей с фенотипом зрелых лимфоцитов
(M. Vyberg, с изменениями [246])**

| Гистологический тип лимфомы | Антиген | | | | | | | | |
|--|------------------------|-------|-------|------|-----|------|------|-----------|---|
| | Пан-В (CD20, CD79a) | Bcl-2 | Bcl-6 | c-Ig | CD5 | CD10 | CD23 | Циклин D1 | Другие |
| ХЛЛ/лимфома из малых лимфоцитов | + | + | - | - | + | - | + | - | CD38+/- |
| В-пролимфоцитарный лейкоз | + | + | - | - | -/+ | - | - | - | |
| Лимфоплазмочитарная лимфома | + | + | - | + | - | - | - | - | CD38+, CD138+ |
| Лимфома из клеток зоны мантии | + | +/- | - | -/+ | + | - | - | + | CD21- рыхлая сеть ФДК |
| Фолликулярная лимфома | + | +/- | + | -/+ | - | + | -/+ | - | CD21- густая сеть ФДК в опухолевых фолликулах |
| MALT-лимфома | + | + | - | -/+ | - | - | -/+ | - | Bcl-10-/+ в остатках фолликулов |
| Селезеночная лимфома маргинальной зоны | + | + | - | -/+ | ? | - | - | ? | |
| Волосатоклеточный лейкоз | + | + | - | - | - | - | - | -/+ | CD11c+, TRAP+, CD25+, CD68+ |
| Диффузная крупноклеточная лимфома | + | +/- | +/- | -/+ | -/+ | -/+ | - | - | CD30-/+, ALK1+/- |
| Лимфома Беркитта (типичный вариант) | + | - | + | -/+ | - | + | - | - | Ki-67 около 100% |
| Плазмочитома, плазмочелочная миелома | Только CD79a | - | - | + | - | - | - | +/- | CD30+/-, CD38+, CD138+, EMA+/- |

Примечания: (+) – более 90% случаев позитивны; (+/-) – 50–90% случаев позитивны; (-/+) – 10–50% случаев позитивны; (-) – менее 10% случаев позитивны; c-Ig – цитоплазматические иммуноглобулины; ХЛЛ – хронический лимфолейкоз; ФДК – фолликулярные дендритические клетки.

угловатым ядром, более детальные характеристики видны только в цитологических препаратах, в части случаев клетки имеют церебриформные ядра [170, 171].

Имунофенотипически клетки характеризуются экспрессией CD2, CD3 (мембранная локализация) и CD7; в 60% отмечается иммунофенотип CD4+/CD8-, в 25% – коэкспрессия этих антигенов и в 11% – CD4-/CD8+; отсутствие обоих маркеров встречается редко [169].

Т-клеточный лейкоз из больших гранулярных лимфоцитов характеризуется пролиферацией лимфоидных клеток среднего и крупного размера, с округлым или угловатым ядром, обильной цитоплазмой, содержащей несколько крупных азурофильных гранул, видимых в цитологических препаратах. Заболевание поражает в первую очередь костный мозг и периферическую кровь, лимфаденопатия встречается редко. Клиническая картина заболевания характеризуется анемией, нейтропенией, поражением костного мозга, спленоомегалией, частыми бактериальными инфекциями, ассоциацией с ревматоидным артритом.

Встречается 2 основных иммунофенотипических варианта: Т-клеточный и НК-клеточный. Т-клеточный тип встречается в 90% случаев и имеет фенотип: CD2+, мембранная экспрессия CD3, CD8+, CD4-, CD16+/-, CD57+, CD56-/+. В редких случаях отмечается экспрессия CD4 или коэкспрессия CD4 и CD8. При НК-клеточном фенотипе CD3 на мембране отсутствует, но имеется цитоплазматическая экспрессия, выявляются CD2, CD16, обычно обнаруживается TIA1 [138, 155].

Агрессивный НК-клеточный лейкоз – редкая форма лейкоза, сопровождающаяся поражением костного мозга, периферической крови, селезенки и печени. В пораженных органах отмечается диффузная или очаговая инфильтрация, опухолевые клетки имеют однообразный вид, округлое или угловатое ядро, плотный хроматин и небольшое ядрышко. Часто имеются некрозы, в костном мозге видны реактивные гистиоциты, нередко с признаками гемофагоцитоза.

Опухолевые клетки экспрессируют CD2, CD16, CD56 и цитотоксические гранулы (перфорин, гранзим В, TIA-1), мембранная экспрессия CD3 отсутствует, CD57 также отрицательный.

Для **экстранодальной Т/НК-клеточной лимфомы назального типа** характерно поражение носоглотки, однако нередко

поражения кожи, лимфатических узлов, костного мозга. Морфологическая картина не зависит от локализации опухоли. Слизистые оболочки, как правило, изъязвлены, опухоль имеет диффузный рост часто в сочетании с ангиоцентрическим (инфильтрация сосудистой стенки) (рис. 53) и ангиодеструктивным (разрушение сосудов) компонентом [54]. Имеются многочисленные фокусы некроза. Цитологически опухоль отличается значительным разнообразием. Размеры опухолевых клеток могут варьировать от мелких до крупных, часты анаплазированные формы, обычно имеется смесь клеток разного размера. Ядра клеток неправильной формы, хроматин гранулярного вида, в крупных клетках он имеет более нежную структуру. Ядрышки часто малозаметны, цитоплазма умеренно развита, окрашивается бледно или выглядит оптически пустой (рис. 54). Как правило, в опухоли присутствуют реактивные элементы, включая плазматические клетки, гистиоциты, эозинофилы [127, 181]. В эпителии носоглотки кроме некротических изменений описаны явления гиперплазии, иногда симулирующие плоскоклеточный рак.

Опухолевые лимфоциты могут иметь фенотип НК-клеток (приблизительно 80% лимфом) или цитотоксических Т-клеток (около 20% случаев), среди которых клетки $\gamma\delta$ -типа преобладают над клетками $\alpha\beta$ -типа. В большинстве наблюдений экстранодальной Т/НК-клеточной лимфомы назального типа описан следующий иммунофенотип: CD2+, CD56+ (рис. 55), цитоплазматическая экспрессия CD3 ϵ + (рис. 56), отсутствие мембранной экспрессии CD3, CD4, CD5, CD8, CD16, CD57. Характер экспрессии CD3 на мембране или в цитоплазме имеет существенное значение при определении линейной принадлежности опухолевых клеток. В цитотоксических и НК-подобных Т-лимфоцитах CD3 выявляется на мембране и в цитоплазме, в истинных натуральных киллерах он выявляется только в цитоплазме, экспрессия на мембране отсутствует.

В клетках присутствуют цитотоксические гранулы: перфторин, гранзим В или TIA-1. Для данной опухоли также типична ассоциация с вирусом Эпштейна-Барр, выявление которого является обязательным для диагностики этой лимфомы (рис. 57) [55, 58, 99, 105]. В случае если морфологически сходная опухоль не имеет признаков Т/НК-фенотипа или вирус Эпштейна-Барр не был выявлен, такой случай следует расценивать как лимфому

с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неуточненную.

Особенностью **Т-клеточной лимфомы типа энтеропатии**, поражающей преимущественно тонкую кишку, является четкая ассоциация ее с целиакией. Опухоль растет в виде узла, слизистая оболочка изъязвлена (рис. 58) [63]. В наиболее типичных случаях лимфома образована клетками среднего и крупного размера с округлым или угловатым ядром, выраженным ядрышком и довольно обильной, светлоокрашенной цитоплазмой (рис. 59). Опухолевые лимфоциты проникают в эпителий крипт. В отдельных наблюдениях отмечен выраженный плеоморфизм опухолевых клеток, присутствуют многоядерные формы. В опухоли имеется значительная примесь воспалительных клеток (гистиоцитов, эозинофилов), слизистая оболочка вне опухоли имеет морфологические признаки энтеропатии (виллезная атрофия) [65, 129, 139].

Иммунофенотипически опухолевые клетки экспрессируют CD2 (рис. 60), CD3, CD7, цитотоксические белки (рис. 61); в 60% случаев они CD4⁻ (рис. 62), CD8⁻. В небольшой части случаев выявляется экспрессия CD56 и CD8 (рис. 63), и еще реже встречаются случаи CD4⁺CD8⁻ [64, 65]. В части клеток может выявляться CD16 (рис. 64), CD56 (рис. 65) и CD5 — негативны. CD30 экспрессируют некоторые крупные клетки. CD103, характерный для нормальных интраэпителиальных лимфоцитов, обнаруживается в подавляющем большинстве Т-клеточных лимфом типа энтеропатии [231] (необходимы только криостатные срезы нефиксированной ткани).

Гепатолиенальная Т-клеточная лимфома — опухоль с преимущественно экстранодальной локализацией, поражение лимфатических узлов встречается редко. Морфологической особенностью данной опухоли является присутствие лимфоидных клеток в синусоидах печени и селезенки. При поражении костного мозга опухолевые лимфоидные клетки располагаются в просвете синусоидов. Клетки средних размеров, с ядрами неправильных очертаний, хроматин умеренно плотный, ядрышки малозаметны [70, 91, 162, 243].

Иммунофенотип опухолевых клеток соответствует цитотоксическим клеткам: CD2⁺, CD3⁺, CD56[±], CD4⁻, CD8⁻, CD5⁻. Из цитотоксических белков выявляется TIA-1, а отсутствуют

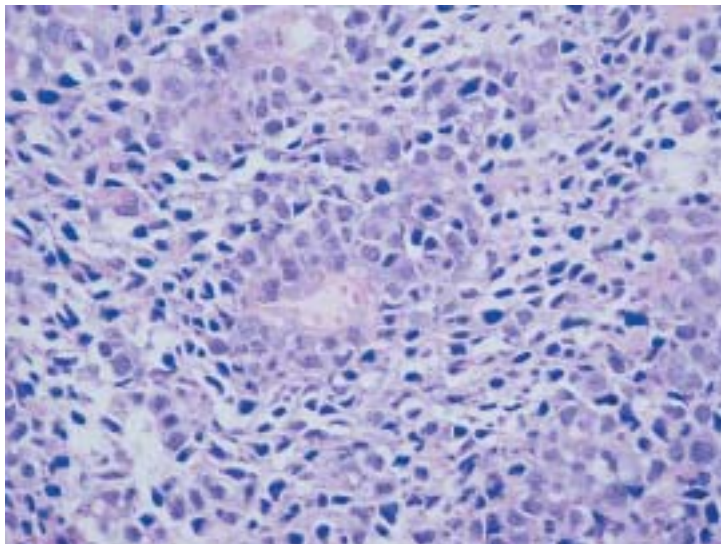


Рис. 53. Экстранодальная Т/НК-клеточная лимфома назального типа: ангиоцентрический тип роста

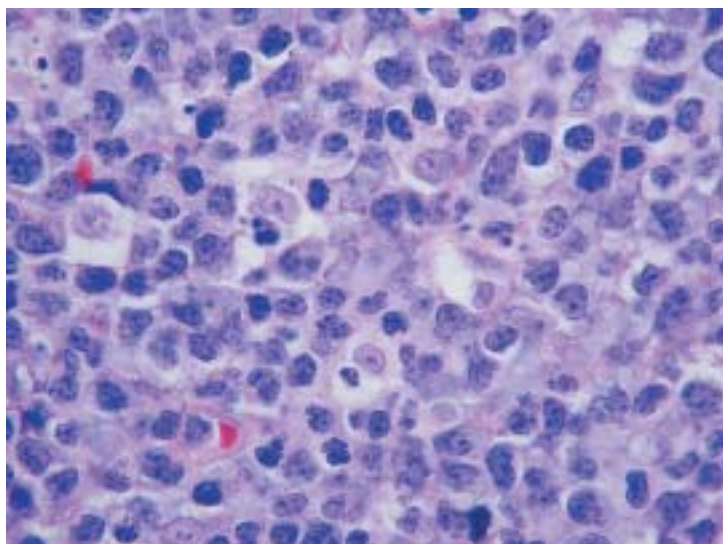


Рис. 54. Экстранодальная Т/НК-клеточная лимфома назального типа: опухоль образована клетками среднего и крупного размера с ядрами неправильной формы

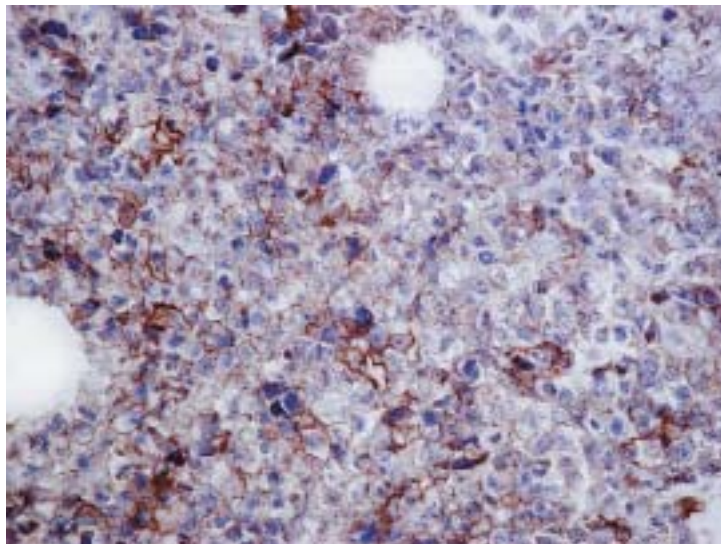


Рис. 55. Экстранодальная Т/НК-клеточная лимфома назального типа:
умеренная мембранная экспрессия CD56

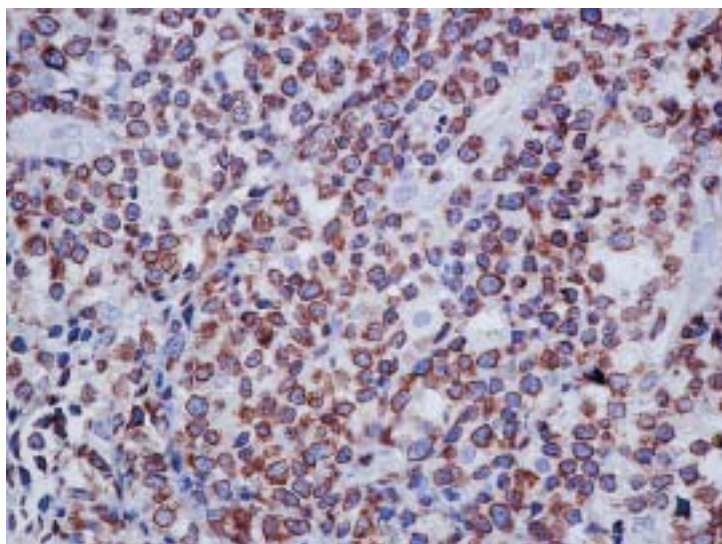


Рис. 56. Экстранодальная Т/НК-клеточная лимфома назального типа:
цитоплазматическая экспрессия CD3

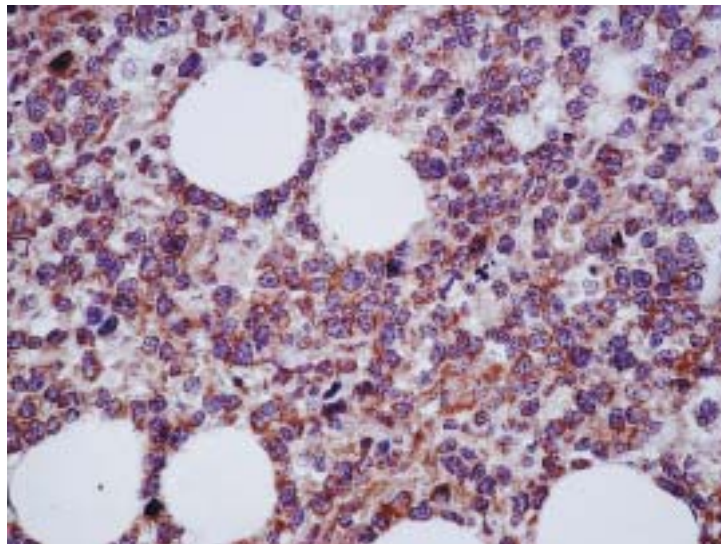


Рис. 57. Экстранодальная Т/НК-клеточная лимфома назального типа: цитоплазматическая экспрессия латентного мембранного протеина-1, кодируемого вирусом Эпштейн–Барр



Рис. 58. Т-клеточная лимфома типа энтеропатии: опухоль растет в виде узла, слизистая оболочка над ним изъязвлена

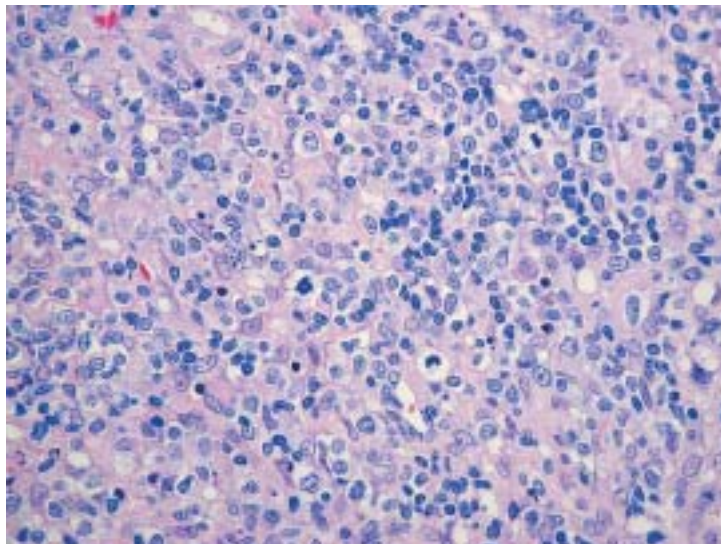


Рис. 59. Т-клеточная лимфома типа энтеропатии: клетки среднего и крупного размера с округлым или угловатым ядром и обильной светлой цитоплазмой

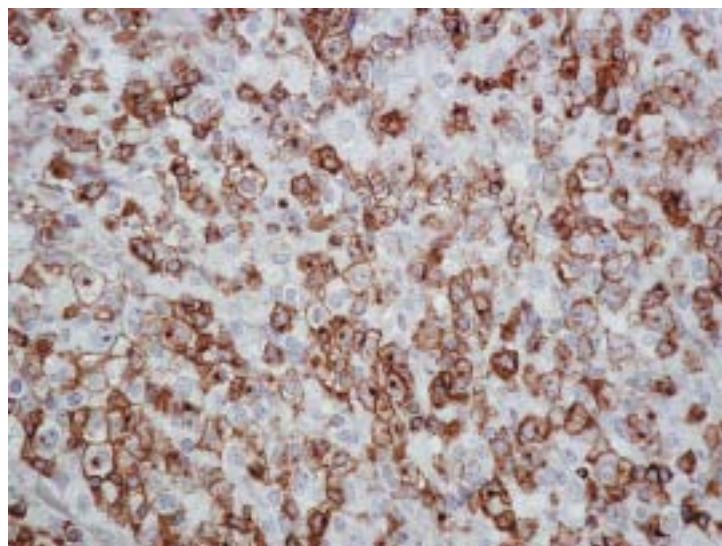


Рис. 60. Т-клеточная лимфома типа энтеропатии: экспрессия CD2 на мембране и парануклеарно в цитоплазме

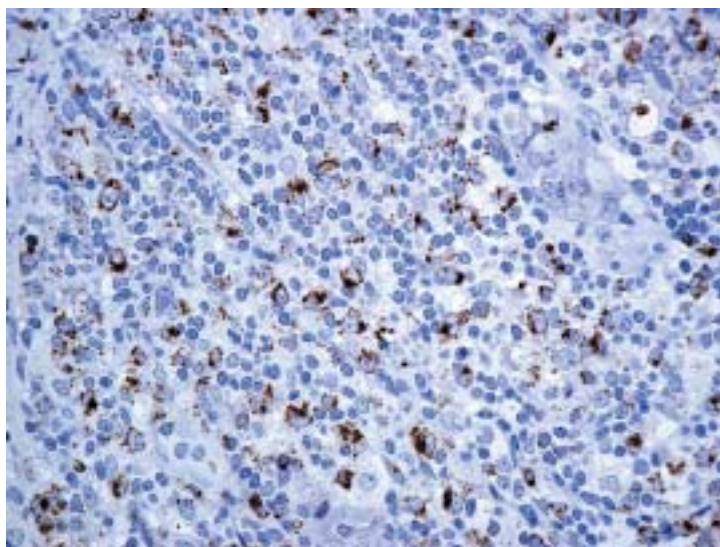


Рис. 61. Т-клеточная лимфома типа энтеропатии: цитоплазматическая гранулярная экспрессия большинством клеток опухоли гранзима В

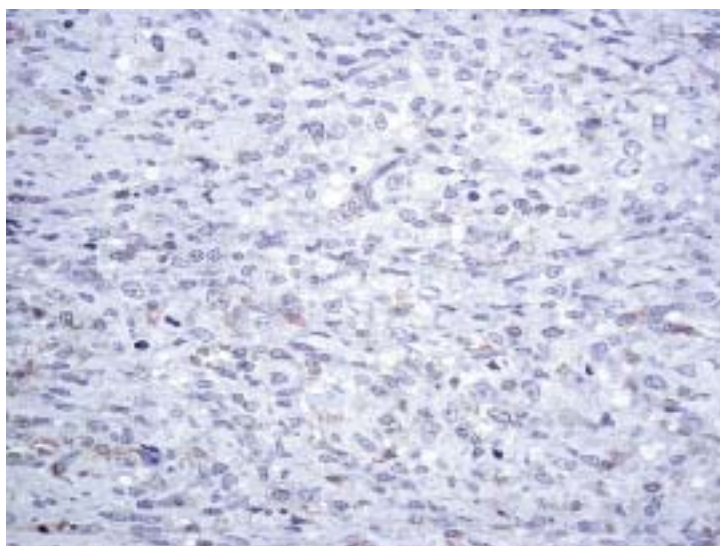


Рис. 62. Т-клеточная лимфома типа энтеропатии: слабая экспрессия CD4 в единичных мелких лимфоцитах, крупные клетки — негативные

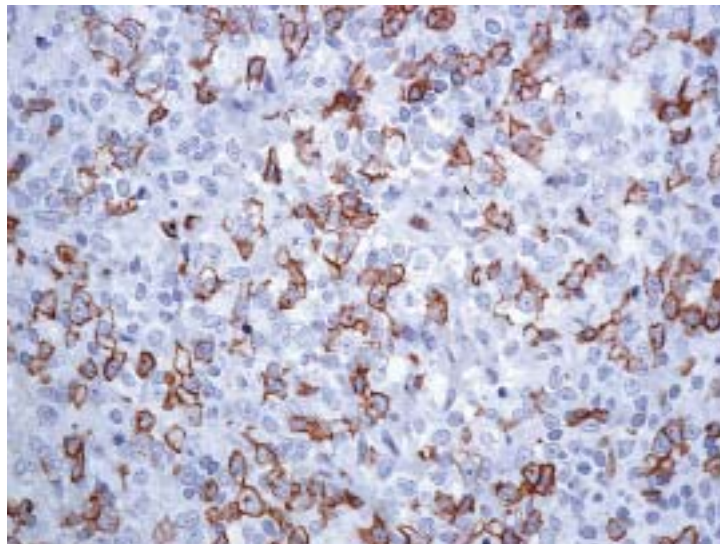


Рис. 63. Т-клеточная лимфома типа энтеропатии: та же опухоль, экспрессия CD8 крупными опухолевыми клетками

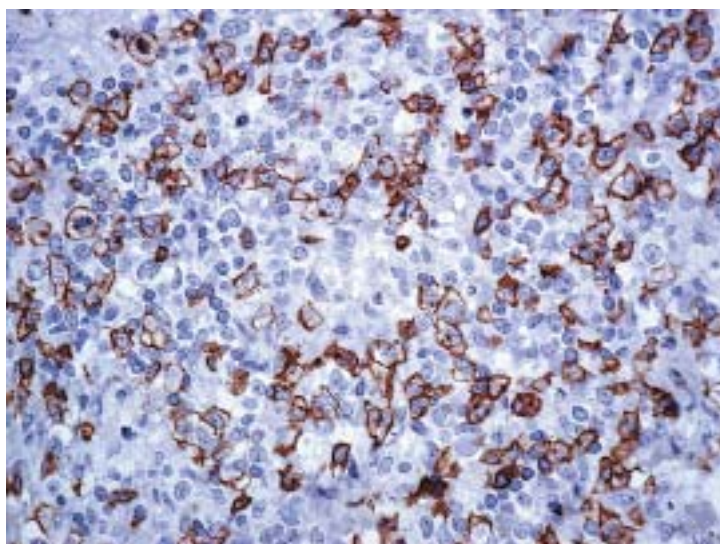


Рис. 64. Т-клеточная лимфома типа энтеропатии: мембранная экспрессия CD16 частью клеток опухоли

перфорин и гранзим В, что указывает на неактивированный фенотип [102, 222, 254]. Имеется клональная перестройка $\gamma\delta$ Т-клеточного рецептора [70].

Панникулитоподобная Т-клеточная лимфома подкожной жировой клетчатки протекает с образованием узлов в подкожной жировой клетчатке при отсутствии других очагов поражения [115]. Инфильтрат окружает жировые дольки, подчеркивая лобулярное строение очагов поражения, и проникает между жировыми клетками, вышележащие слои кожи не повреждены (рис. 66). Позднее возможен диффузный рост с разрушением соединительно-тканых прослоек. Вид опухолевых клеток варьирует от мелких с округлым ядром и малозаметным ядрышком до больших трансформированных клеток с гиперхромным ядром. Довольно характерно расположение опухолевых клеток в виде ободка, окружающего отдельные жировые клетки (рис. 67). Часто встречаются зоны некроза, в некоторых случаях наблюдается инвазия опухоли в стенки сосудов. Гибель клеток опухоли сопровождается обильным кариорексисом. Среди лимфоцитов имеется примесь гистиоцитов, особенно многочисленных вблизи зон некроза. Цитоплазма гистиоцитов может быть вакуолизирована за счет фагоцитоза жира из поврежденных липоцитов. Системные проявления панникулитоподобной лимфомы подкожной клетчатки во многом определяются эритрофагоцитозом [6, 104, 115, 223, 227].

Клетки опухоли имеют следующий иммунофенотип: CD2+, CD3+ (рис. 68), CD5+, CD7+, CD45RO+, CD8+, они также экспрессируют цитотоксические гранулы, такие как TIA-1 (рис. 69), перфорин или гранзим В (рис. 70). Аберрантный иммунофенотип с утратой каких-либо пан-Т-клеточных антигенов описан в половине случаев [139, 150, 223]. Чаще всего опухоль развивается из $\alpha\beta$ -клеток, хотя они могут быть и $\gamma\delta$ -типа [150, 212]. Клинически более агрессивное течение заболевания отмечено у больных с $\gamma\delta$ -генотипом и экспрессией CD56 [103, 236].

При дифференциальной диагностике лимфомы с дольковым панникулитом наибольшее значение имеют следующие морфологические различия. При панникулите соединительно-тканые перегородки, как правило, сохранены или подчеркнуты за счет фиброза. В отличие от лимфомы, отдельные жировые клетки не окружены лимфоцитами, цитологическая атипия в лимфоцитах

отсутствует. Кариорексис практически не встречается, хотя зоны некроза жировой ткани нередки. Возможно формирование реактивных лимфоидных фолликулов. Помимо лимфоцитов в воспалительном инфильтрате присутствуют гистиоциты, возможна примесь гранулоцитов и плазматических клеток. Иммунофенотипический анализ существенно отличает доброкачественный процесс от лимфомы. Лимфоидный инфильтрат представлен группами CD20+ В-лимфоцитов, поликлональными плазматическими клетками и примесью Т-лимфоцитов, которые в равной пропорции экспрессируют CD4 и CD8. Цитотоксические молекулы отсутствуют или выявляются в единичных клетках.

Другие «периферические» Т-клеточные лимфомы, особенно НК/Т-клеточная лимфома назального типа, также могут протекать с поражением подкожной жировой клетчатки. В этих случаях, как правило, имеется переход опухолевой инфильтрации из дермы на клетчатку, опухоль растет диффузно, не отмечается типичного морфологического признака панникулитоподобной лимфомы – расположения атипичных лимфоидных клеток кольцом, в один слой вокруг отдельных жировых клеток. Для НК/Т-клеточной лимфомы назального типа характерны ангиоцентрический рост и деструкция сосудов, что в панникулитоподобной лимфоме выражено значительно реже. НК/Т-клеточная лимфома назального типа также имеет фенотип цитотоксических клеток, однако мембранная экспрессия CD3 отсутствует, а CD56 определяется в большинстве наблюдений. Молекулярно-генетический анализ этой лимфомы обнаруживает отсутствие реарранжировки генов Т-клеточных рецепторов и наличие вируса Эпштейна–Барр, в панникулитоподобной Т-клеточной лимфоме гены Т-рецепторов реарранжированы, а вирус Эпштейна–Барр не обнаруживается.

Бластная НК-клеточная лимфома может развиваться как в лимфатических узлах, так и экстранодально, однако наиболее часто поражает кожу, в которой отмечается плотный, относительно мономорфный инфильтрат. При узловом типе поражения инфильтрат занимает дерму и подкожную жировую клетчатку, сопровождается разрушением придатков кожи, но не затрагивает эпидермис (рис. 71). В случае менее выраженного поражения опухолевая инфильтрация располагается периваскулярно или в виде небольших очагов. Ангиоцентризм и ангиодеструкция не отмечаются, описаны структуры, напоминающие розетки Хомера–Райта.

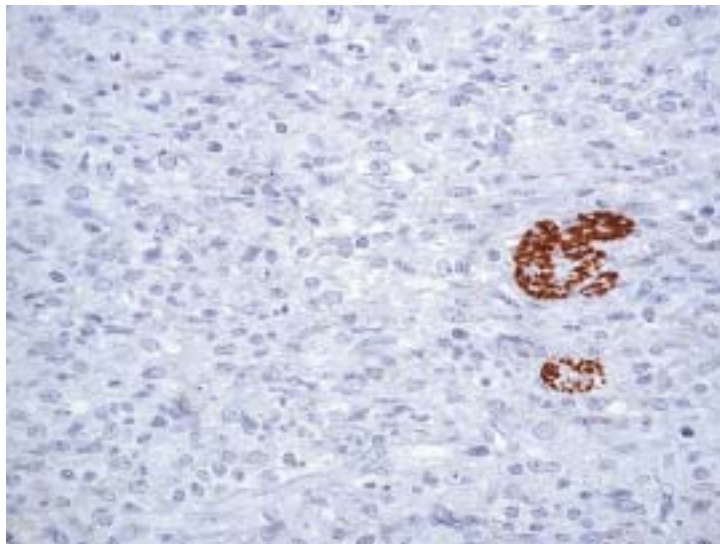


Рис. 65. Т-клеточная лимфома типа энтеропатии: та же опухоль, антитела к CD56 окрашивают нервный ствол, опухолевые клетки — негативные

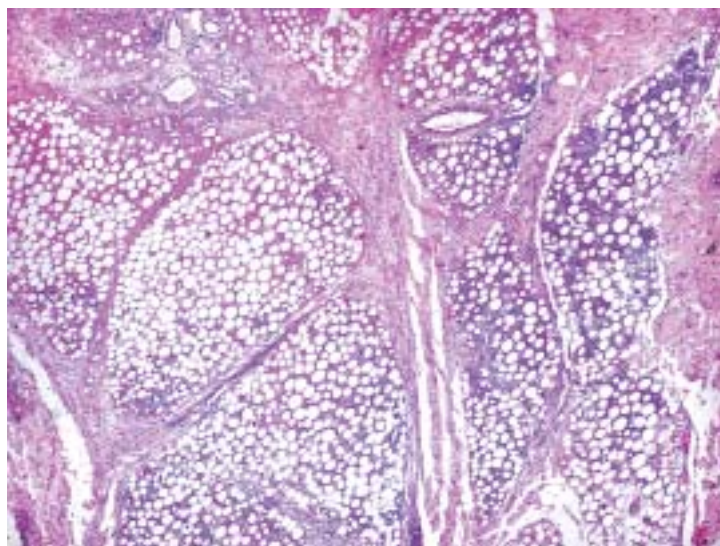


Рис. 66. Панникулитоподобная Т-клеточная лимфома подкожной клетчатки: лобулярное строение очагов поражения

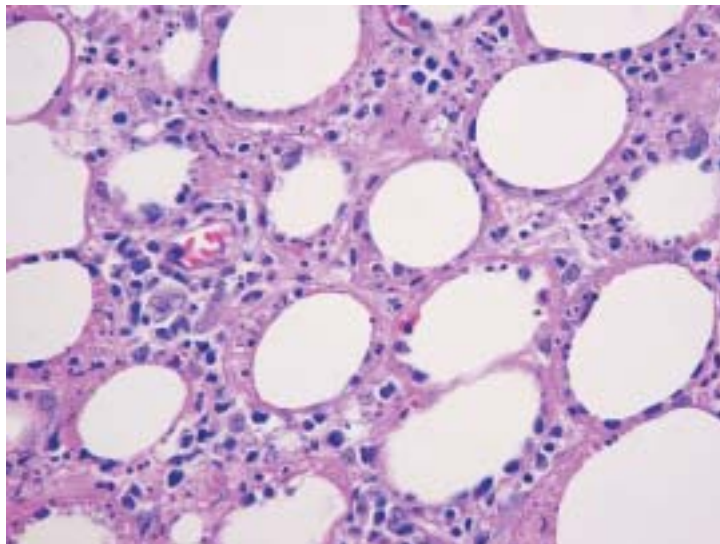


Рис. 67. Панникулитоподобная Т-клеточная лимфома подкожной клетчатки: расположение опухолевых клеток в виде ободка, окружающего отдельные жировые клетки

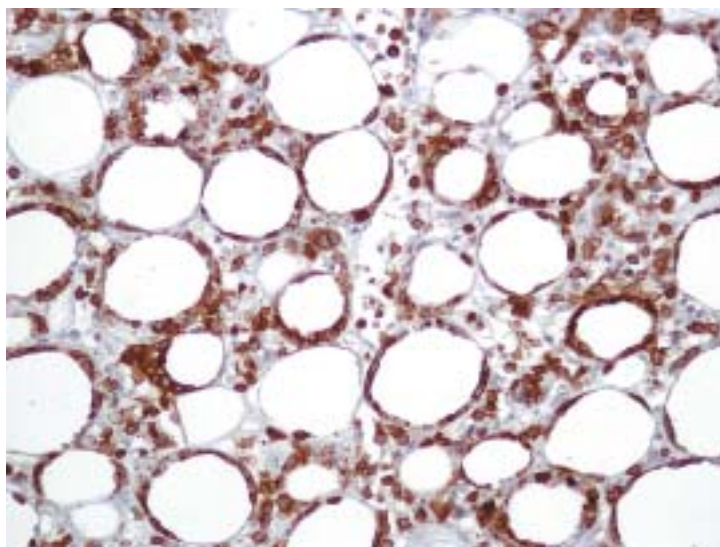


Рис. 68. Панникулитоподобная Т-клеточная лимфома подкожной клетчатки: экспрессия CD3

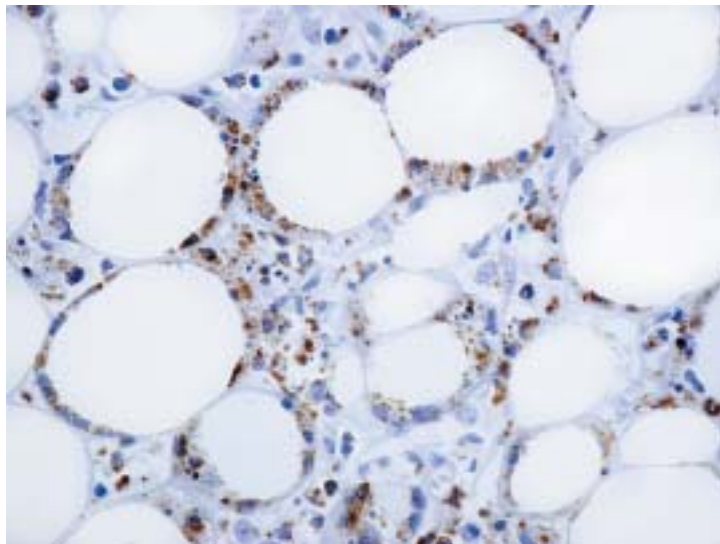


Рис. 69. Панникулитоподобная Т-клеточная лимфома подкожной клетчатки: цитоплазматическая гранулярная экспрессия TIA-1

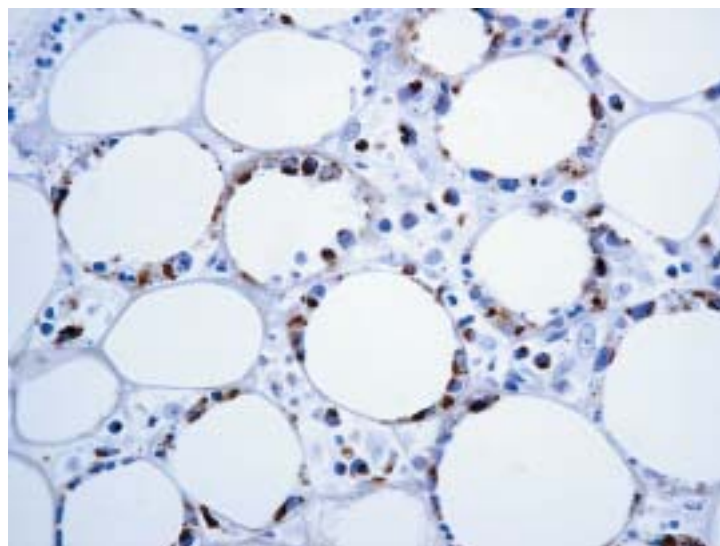


Рис. 70. Панникулитоподобная Т-клеточная лимфома подкожной клетчатки: гранулярная цитоплазматическая экспрессия гранзима В

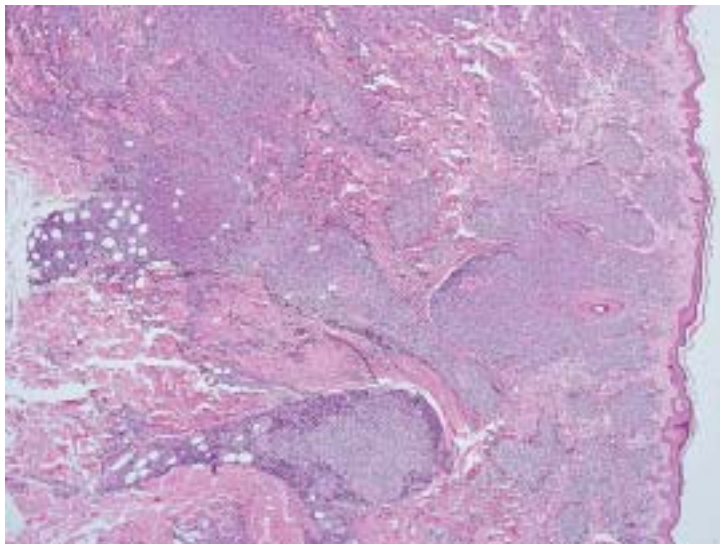


Рис. 71. Бластная НК-клеточная лимфома: внутридермальный рост опухоли

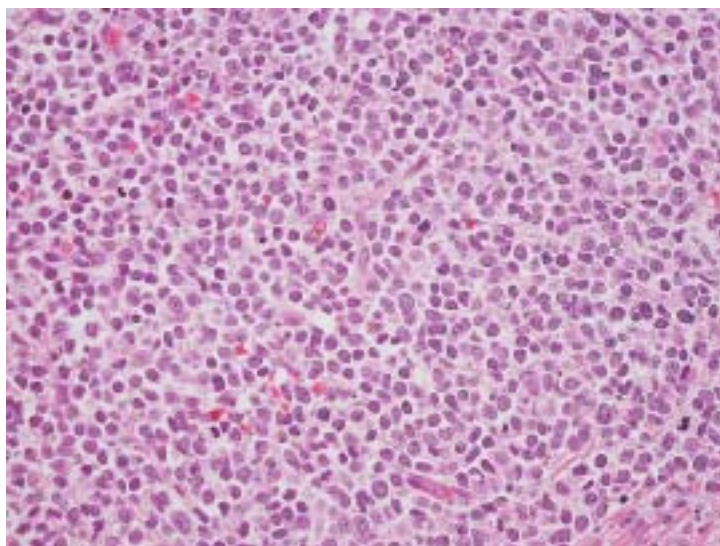


Рис. 72. Бластная НК-клеточная лимфома: диффузная пролиферация однотипных клеток среднего размера, напоминающих лимфобласты

Опухоль характеризуется диффузной пролиферацией однотипных клеток среднего размера, напоминающих лимфобласты или миелобласты вследствие нежной структуры хроматина (рис. 72). В пораженных лимфатических узлах инфильтрация по типу роста напоминает таковую при лейкозах, т. е. начинается с мозгового слоя, постепенно распространяясь на интерфолликулярные зоны, и в конечном счете полностью стирает рисунок. Костный мозг в зависимости от степени вовлечения в патологический процесс варьирует в клеточности. При массивном поражении отмечается диффузная опухолевая инфильтрация с угнетением гемопоэза, остаточные элементы которого могут демонстрировать признаки миелодисплазии, особенно в мегакариоцитах [5, 34, 59, 80, 136, 137, 203].

Иммунофенотип: опухолевые клетки не экспрессируют обычных пан-В- и пан-Т-миелоидных маркеров. К числу маркеров, выявляемых во всех случаях, относятся: CD45 RB, CD56, CD45RA и CD43, CD68 (в виде локального окрашивания цитоплазмы) (рис. 73), CD4 (рис. 74), CD45RO, CD123. Экспрессия CD2 и CD7 переменная. TdT (рис. 75) и CD34 выявляются в части случаев [80, 93, 136, 144, 203, 239]. Таким образом, данный диагноз устанавливается после тщательного исключения миелоидной, В- или Т-клеточной природы бластных клеток. Наиболее вероятными клетками-предшественниками этой опухоли являются плазматоидные дендритические DC2-клетки [56].

Учитывая терминологическую неточность в обозначении данной лимфомы, допущенную в классификации опухолей гемопоэтической и лимфоидной ткани ВОЗ, в классификации лимфом кожи 2005 г. термин «НК-клеточная бластная лимфома» заменен на «CD4+/CD56+ гематодермальная опухоль» [253].

Грибовидный микоз — преимущественно кожная лимфома, лимфаденопатия встречается на позднем этапе, при диссеминации опухоли. Клинически и морфологически может быть разделен на три стадии: эритематозную, бляшечную и опухолевую. Наиболее существенной морфологической характеристикой грибовидного микоза является эпидермотропизм, т. е. проникновение опухолевых клеток в эпидермис. На ранних стадиях имеется полосовидный, или лихеноидный, инфильтрат, состоящий из лимфоцитов и гистиоцитов. Эпидермотропизм проявляется в виде колонизации базального слоя, одиночных лимфоидных клеток

в эпидермисе, нередко с зоной просветления вокруг ядра (halo) [167]. В бляшечной стадии морфологические изменения имеют более выраженный характер, а эпидермотропизм проявляется в виде характерного для этой опухоли морфологического феномена — микроабсцессов Потрие, которые представляют собой скопления опухолевых клеток в эпидермисе (рис. 76). Лимфоидные клетки имеют мелкие или средние размеры и церебриформные ядра (ядерная мембрана образует углубления, напоминающие извилины головного мозга) (рис. 77). Эти клетки с глубокими инвагинациями ядерной поверхности получили название клеток Лютцнера (Lutzner). Встречаются немногочисленные крупные клетки с такими же ядрами. Хотя этот гистологический признак является высокоспецифичным, но он встречается лишь в меньшей части наблюдений. В опухоли присутствуют реактивные клетки: малые лимфоциты, эозинофильные гранулоциты, клетки Лангерганса, интердигитальные клетки [182,189, 224, 228, 253]. Опухолевая стадия грибовидного микоза проявляется массивной инфильтрацией всех слоев кожи, а иногда и подкожной жировой клетчатки, полиморфной клеточной смесью, в которой обнаруживаются клетки Лютцнера. Встречаются заметно более крупные полиморфные клетки с многодольчатыми ядрами и ободком базофильной цитоплазмы («микотические» клетки). Выделяют несколько вариантов грибовидного микоза, описание которых можно найти в последней классификации первичных кожных лимфом ВОЗ [253].

В лимфатических узлах на начальном этапе болезни может отмечаться морфологическая картина дерматопатической лимфаденопатии, выражающаяся в расширении паракортикальных зон за счет наличия большого количества гистиоцитов, а также пролиферации интердигитальных клеток, имеющих обильную светлую цитоплазму. Церебриформные клетки единичные, не образуют больших скоплений. При прогрессии основного заболевания отмечается частичное, а позднее — полное стирание строения лимфатического узла за счет инфильтрации ткани церебриформными клетками [42, 68, 226].

Типичный иммунофенотип грибовидного микоза: Т-клеточные антигены CD2, CD3, CD4– позитивны, CD5+/-, не экспрессируются CD7, CD8. Аберрантный иммунофенотип с утратой некоторых пан-Т-клеточных антигенов выявляется в значительной

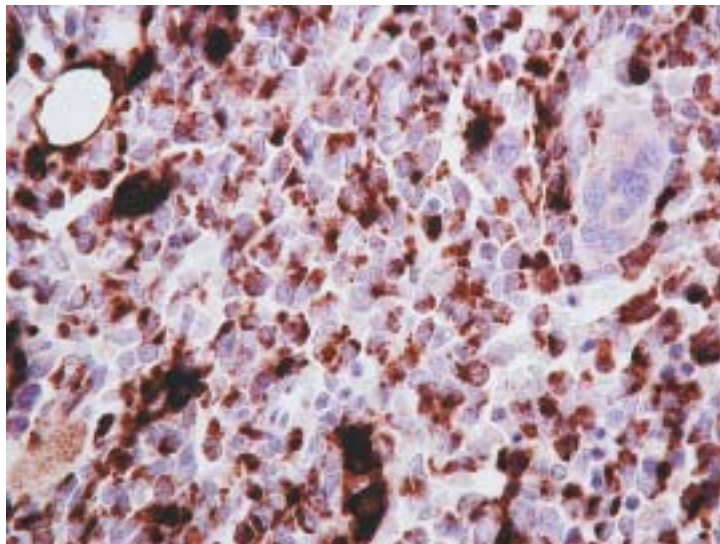


Рис. 73. Бластная NK-клеточная лимфома: экспрессия CD68, преимущественно в виде локального окрашивания цитоплазмы

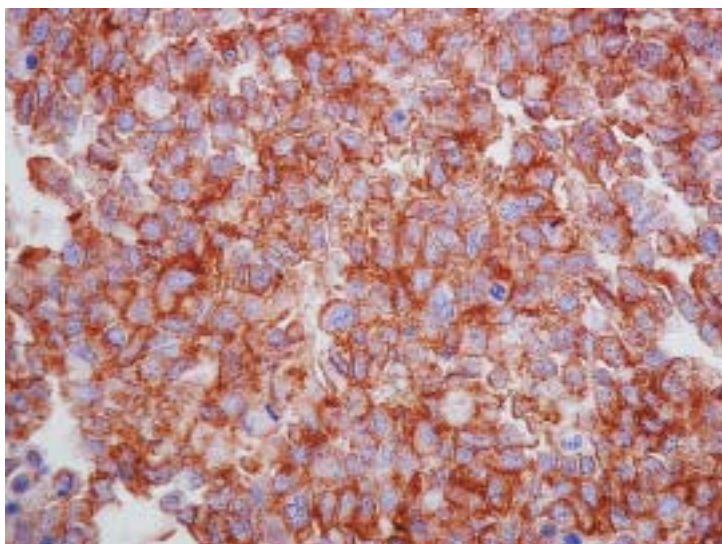


Рис. 74. Бластная NK-клеточная лимфома: интенсивная экспрессия CD4

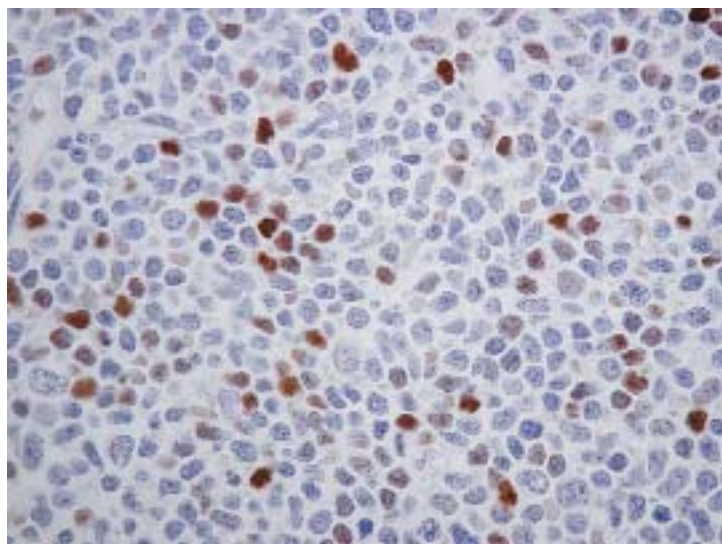


Рис. 75. Бластная НК-клеточная лимфома:
ядерная экспрессия TdT частью опухолевых клеток

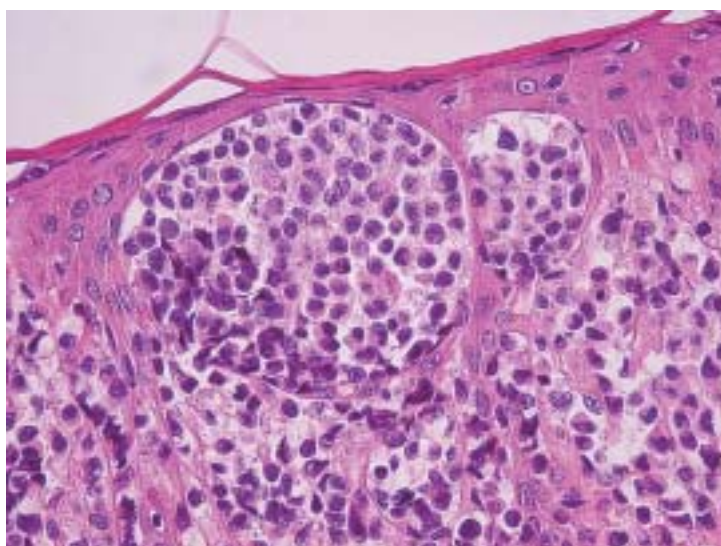


Рис. 76. Грибовидный микоз: скопление опухолевых клеток в эпидермисе
(микробсцесс Потрие). Препарат И. Э. Белоусовой

части наблюдений. Крупные клетки с цитотипическими признаками бластов могут быть CD30-позитивными. Экспрессия белков цитотоксических гранул TIA-1 или гранзима В, как правило, наблюдается при прогрессии заболевания. В редких наблюдениях грибовидного микоза с типичной клинической картиной описан фенотип CD4⁻, CD8⁺ [123, 191, 211, 241, 244, 252, 257].

Синдром Сезари клинически характеризуется эритродермией, лимфаденопатией и циркулирующей опухолевой Т-клеткой с cerebriformными ядрами в крови, что позволяет считать данное заболевание вариантом грибовидного микоза.

Анапластическая крупноклеточная лимфома имеет множество морфологических проявлений, общей чертой которых является наличие определенного количества «диагностических» клеток — клеток с эксцентрично расположенным ядром подковообразной или почкообразной формы и эозинофильно окрашенной зоной в парануклеарной области цитоплазмы (рис. 78). Как правило, описанные клетки имеют крупные размеры, но можно обнаружить более мелкие формы со сходными чертами строения ядра. В части клеток ядро напоминает бублик за счет инвагинации цитоплазмы, встречаются многоядерные формы, в которых ядра расположены в виде цепочки (венка) по периферии цитоплазмы. Описаны клетки, напоминающие диагностические клетки Березовского–Штернберга–Рид. Ядерный хроматин комковатый, видны небольшие базофильные ядрышки. В больших клетках ядрышко одиночное, более крупное. На ранних стадиях заболевания опухоль поражает лимфатический узел частично, нередко отмечается рост опухолевых клеток в синусах, что симулирует метастатический рак. Также встречается паракортикальная локализация больших групп или полей клеток, в поздних фазах поражение носит диффузный характер. В строме возможны явления отека и пролиферации фибробластов; утолщение капсулы, формирование узлов, как при лимфоме Ходжкина с нодулярным склерозом, встречаются редко.

Описаны 3 гистологических варианта лимфомы, возможно сочетание этих вариантов у одного больного [30, 90, 124, 131, 141, 193, 201, 234, 235]:

1. Обычный тип (70% случаев) — образован из плеоморфных крупных клеток, описанных выше. В отдельных клетках выявляется гемофагоцитоз.

2. Лимфогистиоцитарный тип (10% случаев) — в опухоли имеется значительная примесь гистиоцитов, маскирующих опухолевые клетки. Клетки опухоли меньше, чем в обычном типе, нередко сконцентрированы вокруг кровеносных сосудов.

3. Мелкоклеточный тип (5–10%) — в этом случае преобладают клетки мелкого или среднего размера с ядрами неправильной формы. Типичные клетки также присутствуют, часто вокруг сосудов (рис. 79).

Кроме перечисленных выше 3 основных гистологических подтипов в литературе имеются описания более редких вариантов. Саркоматоидный тип характеризуется пучковым или веерообразным ростом овальных или вытянутых клеток на фоне миксоматоза. Морфологически опухоль напоминает злокачественную фиброзную гистиоцитому. В гигантоклеточном типе (около 1–3.3% наблюдений) преобладают клетки очень крупного размера с множественными ядрами. Имеются описания перстневидноклеточного варианта, лимфом, богатых нейтрофильными или эозинофильными гранулоцитами. Все перечисленные редкие подтипы не входят в рамки классификации ВОЗ ввиду отсутствия четких критериев диагностики. Проведенные в последние годы иммуногистохимические и молекулярно-биологические исследования при так называемом лимфогранулематозоподобном варианте позволили прийти к выводу, что большинство случаев, ранее диагностированных как «лимфогранулематозоподобный» вариант крупноклеточной анапластической лимфомы, на самом деле представляют собой классическую лимфому Ходжкина с большим количеством клеток Березовского–Штернберга–Рид. Чаще всего это синцитиальный вариант нодулярного склероза, или вариант с истощением лимфоидной ткани.

Диагностика крупноклеточной анапластической лимфомы невозможна без иммунофенотипирования. Опухолевые клетки обязательно экспрессируют антиген CD30 на мембране или в зоне Гольджи (в виде парануклеарного пятна), экспрессия более выражена в крупных клетках и может быть слабой в клетках меньшего размера (рис. 80, 81) [61, 124, 132, 235].

В настоящее время известен только один маркер, который высокоспецифичен для крупноклеточной анапластической лимфомы, — химерный белок ALK, являющийся продуктом транслокации между хромосомами 2 и 5. Лocus p23 на хромосоме 2

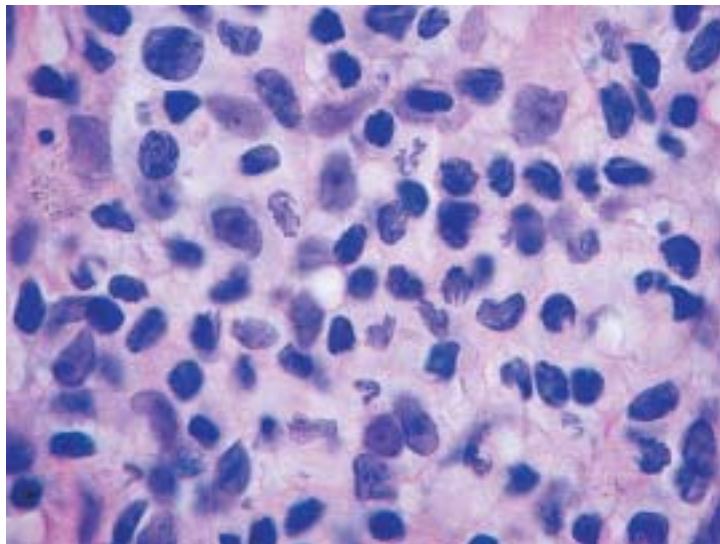


Рис. 77. Грибовидный микоз: церебриформные ядра в опухолевых клетках.
Препарат И. Э. Белоусовой

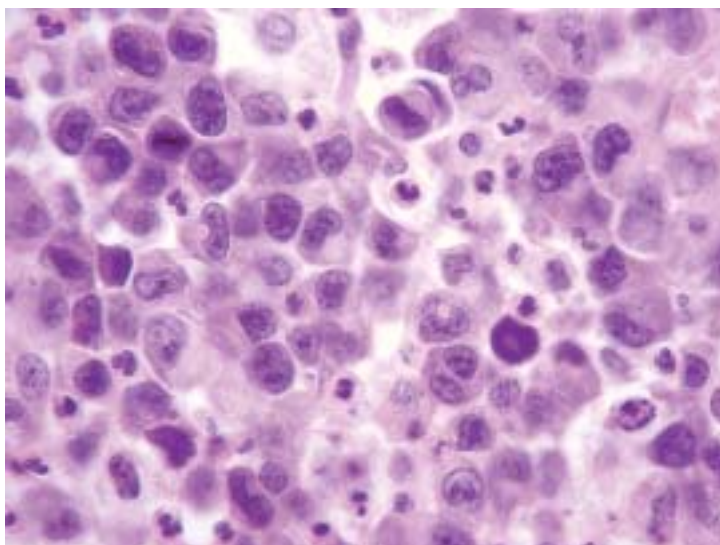


Рис. 78. Анапластическая крупноклеточная лимфома: крупные клетки с ядрами неправильной формы, в том числе «диагностические» клетки с эксцентрично расположенным ядром подковообразной или почкообразной формы; справа от центра — клетка с кольцевидным ядром

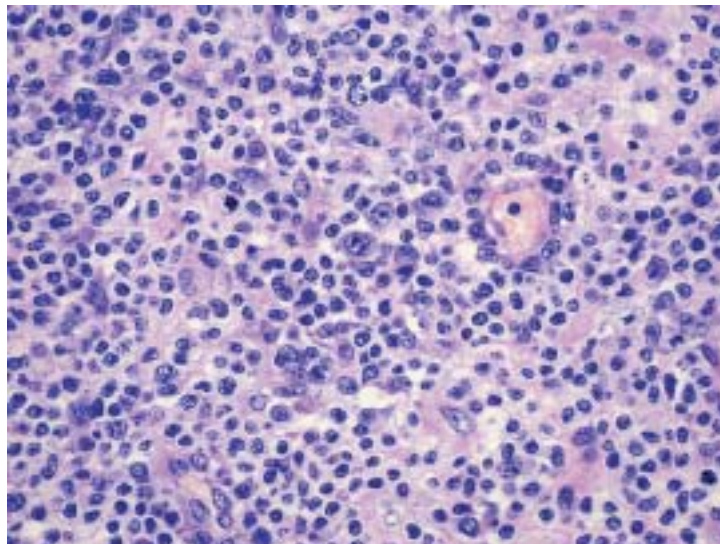


Рис. 79. Анапластическая крупноклеточная лимфома, мелкоклеточный тип: опухолевые клетки расположены преимущественно вокруг кровеносных сосудов

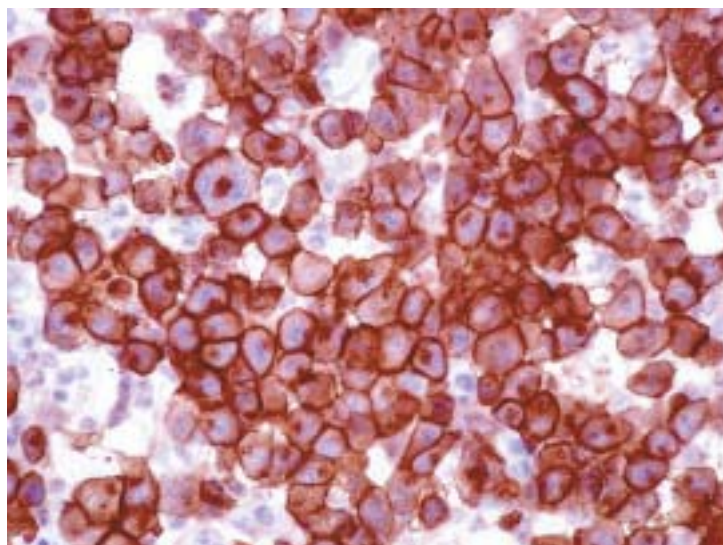


Рис. 80. Анапластическая крупноклеточная лимфома: мембранная и очаговая цитоплазматическая (в зоне Гольджи) экспрессия CD30

кодирует киназу анапластической лимфомы (ALK), трансмембранный рецептор, близкий лейкоцитарным тирозиновым киназам, чья физиологическая экспрессия в постнатальном периоде ограничивается клетками центральной нервной системы. Локализация нормальной («дикой») формы ALK, имеющей молекулярный вес 200 кДа, ограничивается цитоплазмой и клеточной мембраной. Лocus q35 5-й хромосомы содержит ген нуклеофосмина (NPM), кодирующего кислый фосфопротеин (также известный как B23 или нуматрин), локализующийся в ядре в зоне расположения ядрышковых организаторов (AgNOR) [89].

Для выявления транслокации t(2;5) в тканях используются различные методы в том числе, RT-PCR, гибридизация *in situ*. Широкое применение получило иммуногистохимическое определение экспрессии рекомбинантного белка с помощью антитела ALK1, реагирующего с формалино-устойчивым эпитопом цитоплазматической порции белка ALK [213]. Так как белок ALK в норме выявляется только в нервной ткани, обнаружение его в лимфоме свидетельствует об aberrантной экспрессии гена, обусловленной в 80% случаев транслокацией t(2;5).

Белок ALK выявляется в 60-85% случаев крупноклеточной анапластической лимфомы. Иммуногистохимически отмечается ядерная и цитоплазматическая локализация окрашенного продукта (рис. 82, 83) [50, 90, 117]. Цитоплазматическая реакция связана с нормальным расположением белка ALK, а окрашивание ядра обусловлено гетеродимеризацией химерного белка NPM/ALK с «диким» типом гена NPM. Описаны и другие, более редкие варианты цитогенетических аномалий с вовлечением 2-й хромосомы, при этом иммуногистохимически ALK выявляется в цитоплазме или на мембране клеток. Если t(2;5) является уникальной чертой, присущей только крупноклеточной анапластической лимфоме, то другие транслокации с участием гена ALK описаны и в опухолях негемопоэтической природы, в частности, миофибробластической природы, редком варианте диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, нейробластоме и немногочисленных наблюдениях рабдомиосаркомы. В этих опухолях выявляется немутированная форма ALK, а окрашивание носит только цитоплазматический характер.

В опухолевых клетках выявляется один или более Т-клеточных антигенов — CD2, CD3, CD7 CD45RO (рис. 84), хотя воз-

можно утрата части или даже всех из них, что приводит к тому, что до 30–50% опухолей, по данным иммуногистохимии, имеет «нулевой» фенотип [10, 30]. Такие случаи, обследованные на молекулярно-генетическом уровне, имеют признаки Т-клеточного происхождения, поэтому наблюдения с «нулевым» фенотипом включены в одну группу с опухолями, имеющими явные признаки Т-клеточной дифференцировки.

В 50% случаев описана экспрессия антигенов групп крови H и Y (антитело BNH.9). В большинстве случаев клетки анапластической крупноклеточной лимфомы позитивны к EMA [78, 216], в то время как экспрессия общелейкоцитарного антигена CD45RB вариабельна (рис. 85), что может быть причиной неверного диагноза эпителиальной опухоли, если панель применяемых антител недостаточна [61]. CD15 определяется редко и только в единичных клетках. Значительная часть крупноклеточных анапластических лимфом (70–90%) экспрессирует белки цитотоксических гранул — гранзим В, перфорин и TIA-1, что указывает на активированный цитотоксический фенотип [94, 146]. В отличие от лимфомы Ходжкина, клетки анапластической лимфомы экспрессируют кластерин (рис. 86). Этот маркер экспрессируется более чем в 95% опухолей и имеет характерный тип окрашивания в виде зерен, расположенных в зоне Гольджи цитоплазмы [151, 183, 221].

Учитывая специфический характер транслокации t(2;5) и экспрессию ALK в большей части крупноклеточных анапластических лимфом, имеющих ряд типичных гистологических признаков, отличительные клинико-эпидемиологические характеристики, а также благоприятное прогностическое значение экспрессии ALK, ALK-позитивную крупноклеточную анапластическую лимфому рассматривают как отдельную клинико-анатомическую форму заболевания. Морфологическая картина ALK-негативных случаев анапластической крупноклеточной лимфомы описана хуже, пока остается нерешенным вопрос, следует ли расценивать такие случаи как вариант типичной опухоли или как самостоятельное заболевание, для обозначения которого предлагается термин «лимфома из клеток с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неуточненная; анапластический вариант» [124].

Одной из недавно выделенных форм лимфомы является **первичная крупноклеточная анапластическая лимфома кожи**. Необходимость дифференциальной диагностики с системным

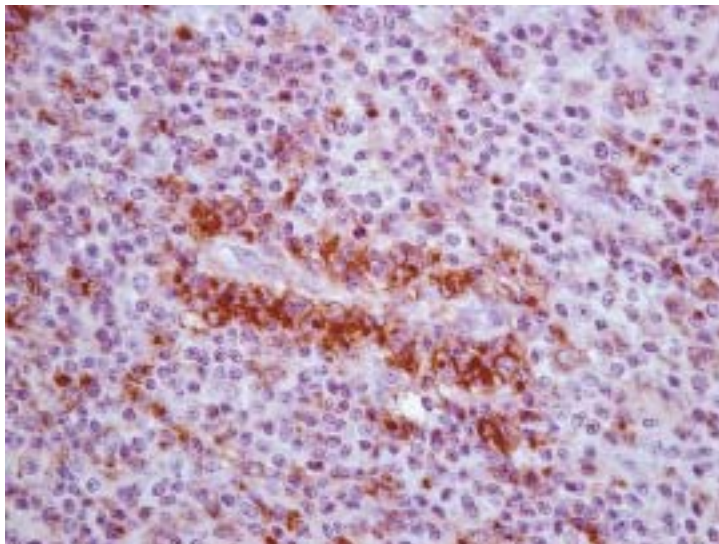


Рис. 81. Анапластическая крупноклеточная лимфома, мелкоклеточный тип: экспрессия CD30 позволяет легче визуализировать опухолевые клетки

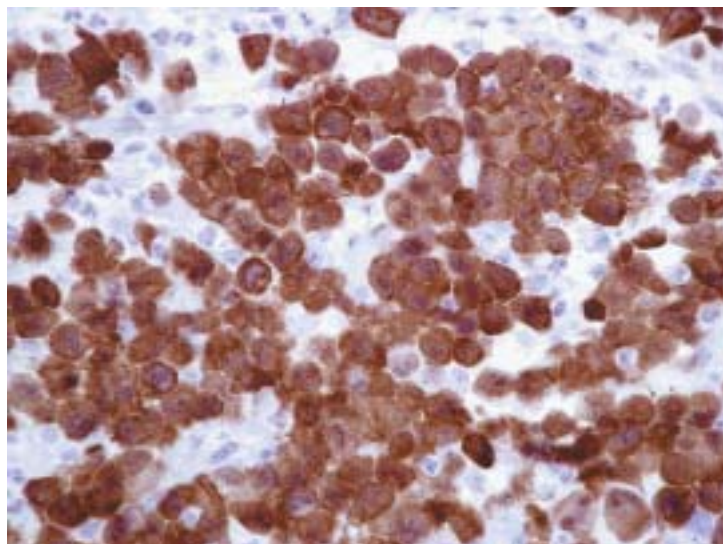


Рис. 82. Анапластическая крупноклеточная лимфома: ядерная и цитоплазматическая экспрессия протеина ALK1

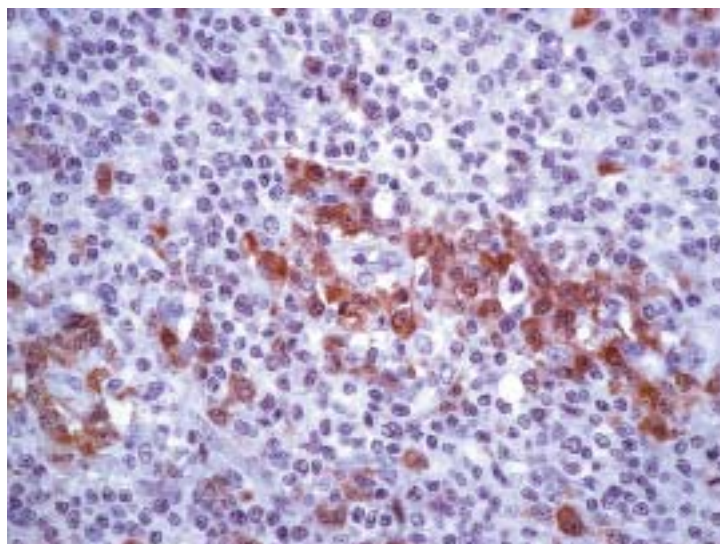


Рис. 83. Анапластическая крупноклеточная лимфома, мелкоклеточный тип: цитоплазматическая экспрессия ALK-протеина

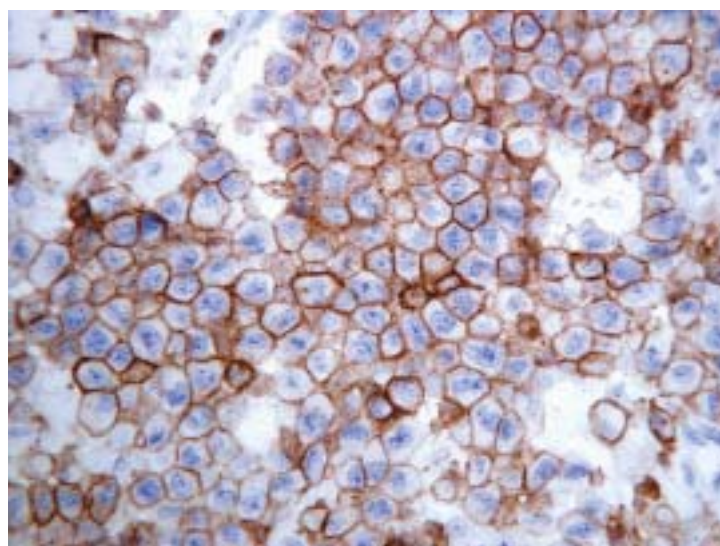


Рис. 84. Анапластическая крупноклеточная лимфома: мембранная экспрессия CD45RO

поражением при анапластической крупноклеточной лимфоме обусловлена разностью клинических подходов.

Опухолевый инфильтрат занимает все слои дермы и переходит на подкожную жировую клетчатку, эпидермис может быть изъязвлен. Морфологически опухоль напоминает анапластическую крупноклеточную лимфому, хотя многоядерные и штернбергоподобные формы встречаются чаще.

При иммунофенотипировании клетки экспрессируют Т-клеточные антигены, CD30 и цитотоксические протеины, но негативны к ЕМА и ALK [37, 133].

Данный тип лимфомы необходимо дифференцировать с лимфоматоидным папулезом — хроническим рецидивирующим заболеванием кожи, напоминающим Т-клеточную лимфому. В дерме гистологически виден клиновидный инфильтрат, образованный атипичными Т-лимфоцитами в сочетании с довольно значительной примесью клеток воспаления: нейтрофильными и эозинофильными гранулоцитами, макрофагами, малыми лимфоцитами. Атипичные Т-клетки могут иметь церебриформные ядра, как при грибковидном микозе, либо напоминать клетки Березовского–Штернберга–Рид.

Иммунофенотипически выявляются Т-клеточные антигены, возможна утрата некоторых из них, CD30 экспрессируется в части наблюдений, присутствуют цитотоксические протеины, ALK — отрицательный.

При **ангиоиммунобластной лимфоме** структура лимфатического узла сохранена частично, могут быть видны небольшие фолликулы. В паракортикальной зоне имеется диффузная инфильтрация полиморфного характера, состоящая из Т-лимфоцитов мелкого и среднего размера, обычно имеющих светлоокрашенную или оптически пустую цитоплазму с четкими границами клеток. Т-лимфоциты перемешаны с эозинофильными гранулоцитами, гистиоцитами, плазматическими клетками, отмечается пролиферация фолликулярных дендритических клеток (рис. 87). Встречаются отдельные иммунобласты, клетки типа Березовского–Штернберга–Рид. Типичной морфологической чертой является пролиферация посткапиллярных венул, которые образуют разветвленную сеть (рис. 88) [8, 81, 97].

Изменения в лимфатических узлах могут быть разделены на 3 типа [18, 217]. Тип I (около 20% наблюдений) характеризуется

сохранением нормального строения лимфатического узла, наличием в корковом слое гиперплазированных В-клеточных фолликулов с истонченной зоной мантии и нечеткими границами. Паракортикальная зона расширена, содержит полиморфно-клеточный инфильтрат, характерный для развернутой стадии ангиоиммунобластной лимфомы, и повышенное количество посткапиллярных венул. В части случаев светлые клетки, окружающие фолликулы, создают впечатление маргинального типа роста опухоли. Светлые клетки также могут внедряться в герминогенные центры (рис. 89). Сеть фолликулярных дендритических клеток может иметь различный вид — в части случаев она соответствует их нормальному состоянию в реактивных фолликулах, но также может быть гиперплазированной и дезорганизованной. Тип II (около 30% случаев) состоит в значительной потере нормального строения, лимфоидные фолликулы мелкие, «выгоревшие», с наличием концентрически расположенных скоплений фолликулярных дендритических клеток. В части случаев сеть дендритических клеток распространяется за пределы фолликулов. Цитологический состав опухоли сходен с гистологическим типом I.

Тип III (50% биопсий) — полное стирание нормальной архитектоники, отсутствие В-клеточных фолликулов. Имеет место морфологическая картина развернутой фазы заболевания.

Опухолевые Т-клетки экспрессируют пан-Т-клеточные маркеры (рис. 90), CD4+ преобладают над CD8+ (рис. 91, 92). Возможна утрата какого-либо из пан-Т-клеточных антигенов, как проявление аберрантного фенотипа. Варибельное количество опухолевых Т-лимфоцитов экспрессирует CD10 (рис. 93) [18, 44, 81, 119]. Окрашивание CD21 или CD23 позволяет выявить развитую сеть фолликулярных дендритических клеток (рис. 94) [20, 158]. В-клеточные зоны обычно редуцированы (рис. 95), однако иммунобласты, присутствующие в опухоли, имеют преимущественно В-клеточный фенотип и содержат вирус Эпштейна–Барр в 95% опухолей [250]; в редких случаях эти клетки могут быть источником трансформации в В-клеточную лимфому [9].

Самая частая форма Т-клеточных лимфом — **лимфома с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неутонченная**. Эта категория лимфом представляет собой сборную группу опухолей различного гистологического строения и локализации, не обладающих существенными клинико-анатомическими

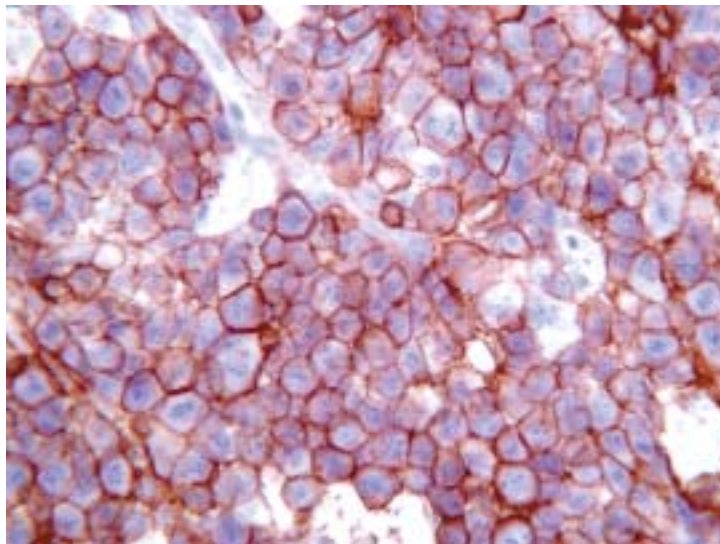


Рис. 85. Анапластическая крупноклеточная лимфома: экспрессия
общейклеточного антигена CD45RB

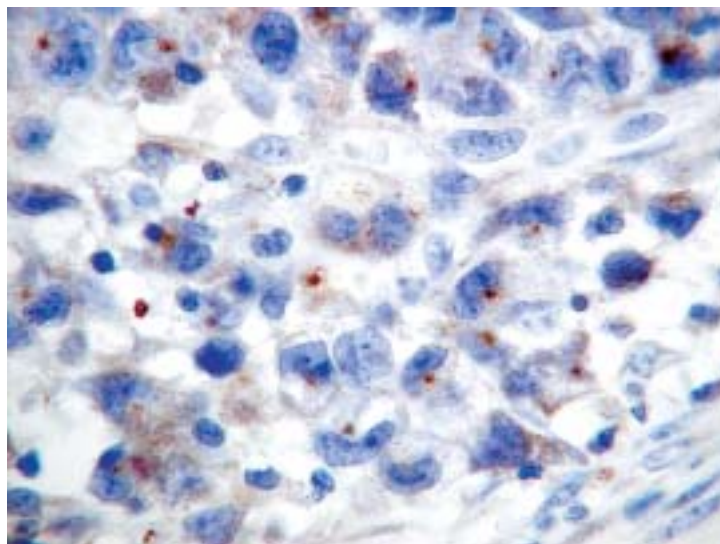


Рис. 86. Анапластическая крупноклеточная лимфома:
парануклеарная цитоплазматическая экспрессия кластерина

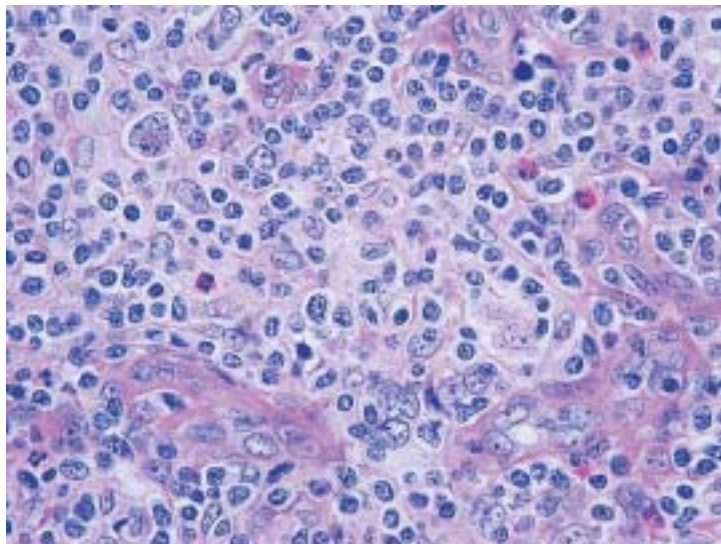


Рис. 87. Ангиоиммунобластная лимфома: полиморфно-клеточный опухолевый пролиферат с наличием лимфоидных клеток разного размера, в том числе клеток со светлой цитоплазмой, эозинофильных гранулоцитов, гистиоцитов



Рис. 88. Ангиоиммунобластная лимфома: разветвленная сеть посткапиллярных венул, импрегация солями серебра по Гордону–Свиту

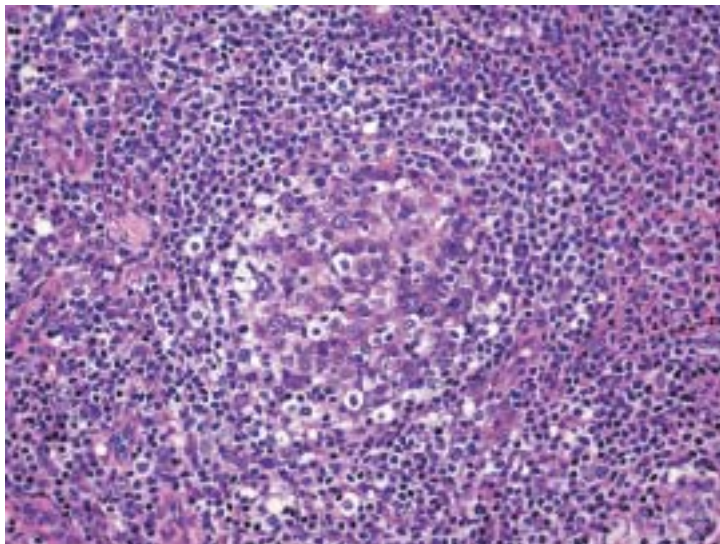


Рис. 89. Ангиоиммунобластная лимфома: В-клеточный фолликул с истонченной зоной мантии, опухолевые клетки со светлой цитоплазмой располагаются в центре размножения и маргинальной зоне

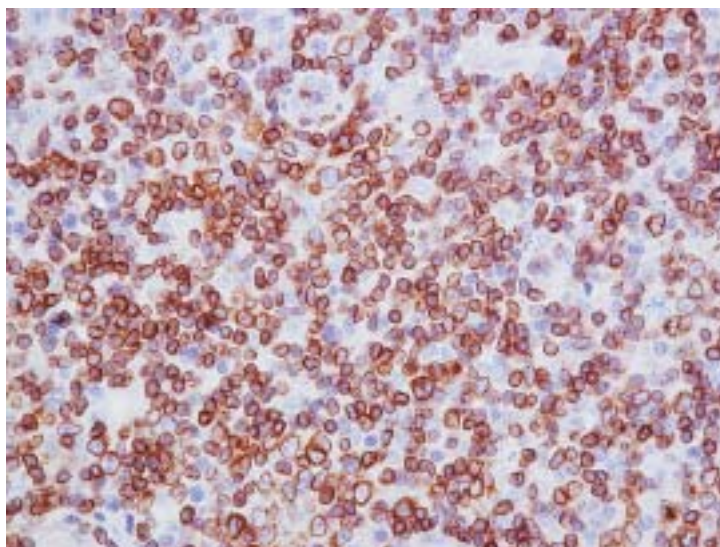


Рис. 90. Ангиоиммунобластная лимфома: экспрессия CD3

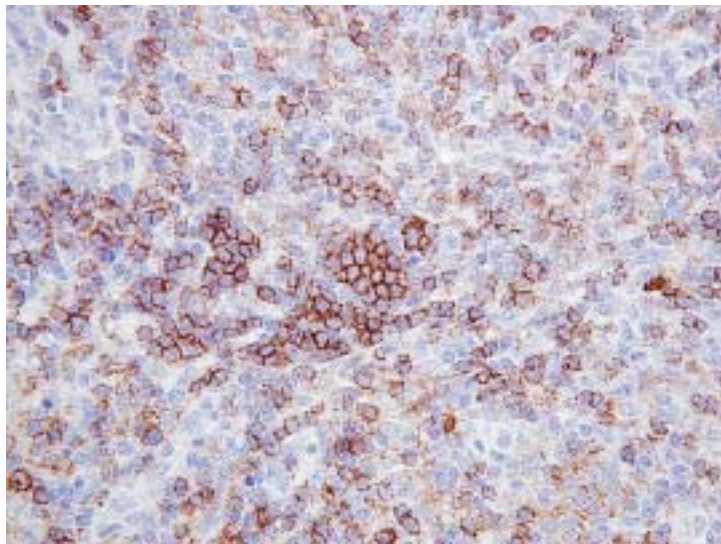


Рис. 91. Ангиоиммунобластная лимфома: экспрессия CD4 в большинстве клеток

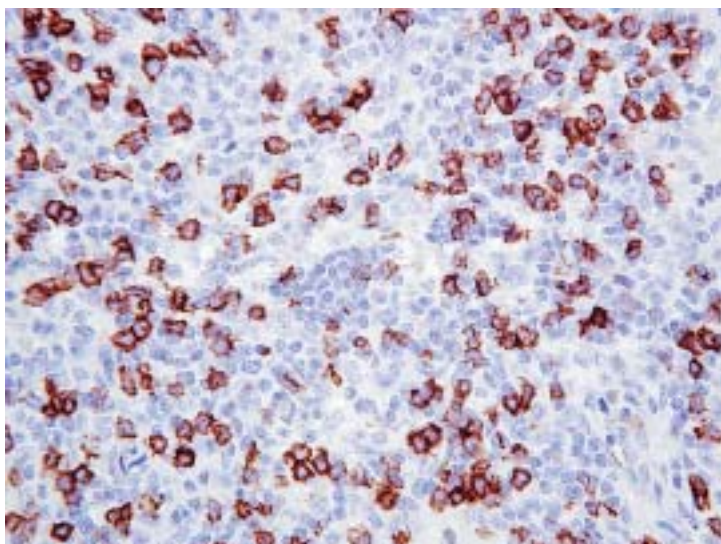


Рис. 92. Ангиоиммунобластная лимфома: та же опухоль, CD8 экспрессирован в немногочисленных клетках

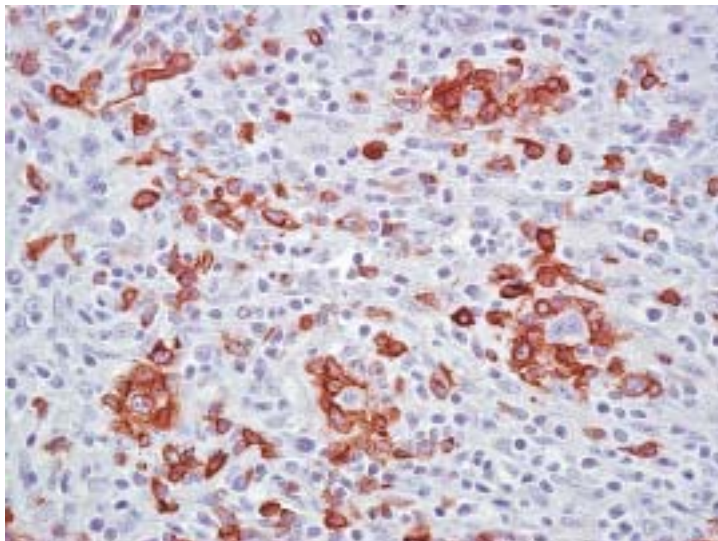


Рис. 93. Ангиоиммунобластная лимфома: экспрессия CD10 в опухолевых клетках, окружающих крупные атипичные клетки

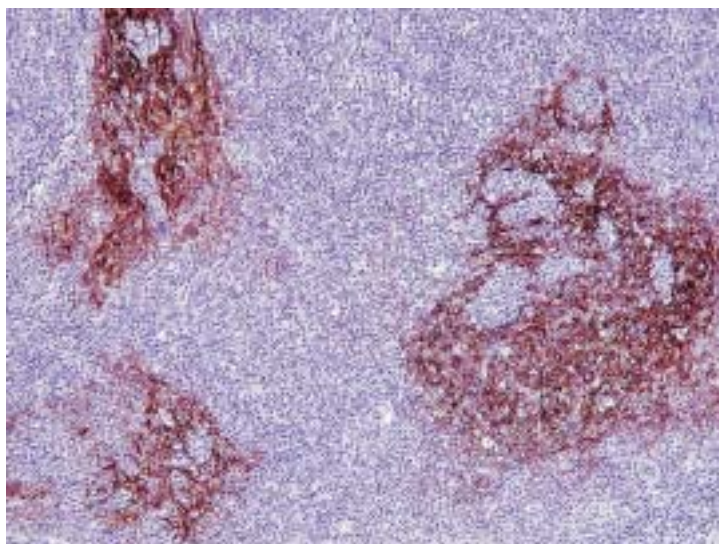


Рис. 94. Ангиоиммунобластная лимфома: CD23 выявляет дезорганизованную сеть фолликулярных дендритических клеток

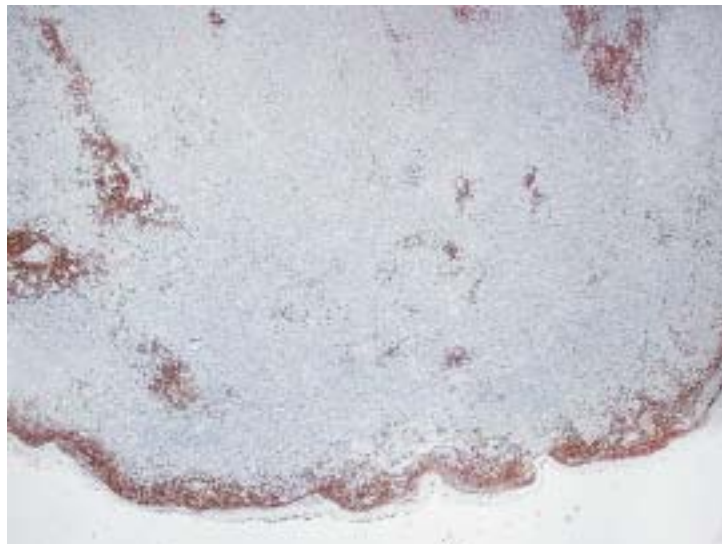


Рис. 95. Ангиоиммунобластная лимфома: CD20 окрашивает немногочисленные резидуальные скопления В-клеток

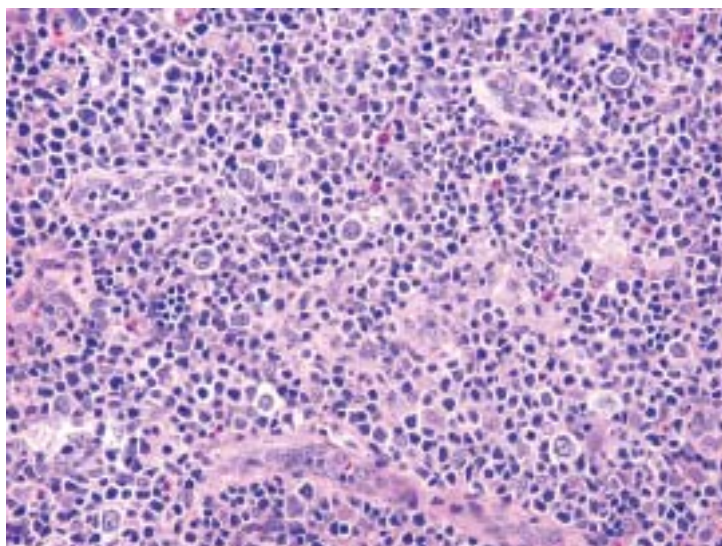


Рис. 96. Лимфома с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неутонченная: преобладают клетки среднего или крупного размера с неправильной формой ядер

признаками, которые позволили отнести бы их к одной из четко очерченных форм Т-клеточных лимфом, перечисленных в классификации ВОЗ. Эпитет «неуточненная», по мнению авторов классификации, должен подчеркнуть отсутствие четких специфических характеристик. Другими словами, данный диагноз используется тогда, когда все прочие формы Т-клеточных лимфом были исключены. Протекает чаще всего с поражением лимфатических узлов, но также возможна и экстранодальная локализация.

В лимфатических узлах отмечается диффузное поражение, в начальных стадиях развития оно может быть ограничено паракортикальной зоной или носить нодулярный характер, цитологически описано множество вариантов. Чаще всего преобладают клетки среднего или крупного размера с неправильной формой ядер, хроматин бывает мелкодисперсным или гиперхромным, в больших клетках прослеживаются ядрышки (рис. 96). Встречаются клетки со светлой цитоплазмой и атипичные формы, напоминающие клетки Березовского–Штернберга–Рид. В части наблюдений основную массу составляют клетки мелкого размера (рис. 97). Полиморфный инфильтрат включает реактивные элементы (эозинофильные гранулоциты, плазматические клетки, эпителиоидные гистиоциты). Количество посткапиллярных венул увеличено [53, 62, 206, 214].

Дополнительно выделяют 2 редких морфологических варианта — лимфому Т-зоны и лимфоэпителиоидный тип (лимфому Леннерта). Гистологической особенностью лимфомы Т-зоны является интерфолликулярный тип роста на фоне сохраненных или даже гиперплазированных лимфоидных фолликулов, который в поздних стадиях заболевания сменяется на диффузный рост. Опухолевые Т-лимфоциты имеют преимущественно мелкий или средний размер, черты ядерного плеоморфизма выражены незначительно, что отличает лимфому Т-зоны от других периферических Т-клеточных лимфом, для которых характерны спектр клеточных форм и выраженные черты ядерной атипичности. Встречаются немногочисленные клетки, напоминающие клетки Березовского–Штернберга–Рид. Реактивные клетки и пролиферация венул также отмечены при данном варианте лимфомы [92].

При лимфоме Леннерта поражение лимфатического узла, как правило, имеет диффузный характер, среди опухолевых клеток преобладают клетки мелкого и среднего размера. Наиболее ха-

рактерной морфологической чертой является наличие многочисленных скоплений эпителиоидных гистиоцитов (рис. 98). Эпителиоидные клетки, как правило, располагаются в виде групп (кластеров), как при токсоплазменном лимфадените, но также возможно обнаружение изолированно лежащих одиночных гистиоцитов или пар клеток. Гистиоциты имеют ядра овальной, вытянутой формы, с очень нежной структурой хроматина, довольно крупными ядрышками, и эозинофильную цитоплазму. Иногда встречаются многоядерные клетки [156, 199]. Гиперплазия посткапиллярных венул практически отсутствует. При прогрессии заболевания может развиваться лимфома крупноклеточного или плеоморфно-клеточного строения, гистиоцитарная пролиферация, как правило, при этом утрачивается.

Иммунофенотип периферической Т-клеточной лимфомы характеризуется экспрессией нескольких Т-клеточных антигенов: CD2, CD3 (рис. 99), CD4 (рис. 100), CD5, CD7, CD8 (рис. 101), CD45RO (рис. 102), в значительной части случаев отмечается aberrантная утрата некоторых из них [111]. Наименее часто утрачивается экспрессия антигенов CD2 и CD3, напротив, CD5 и CD7 отсутствуют почти в половине опухолей [220]. Большая часть лимфом с иммунофенотипом периферических лимфоцитов, неуточненных, имеет фенотип CD4⁺/CD8⁻, вариант CD4⁻/CD8⁺ встречается приблизительно в 6–12% случаев, а при экстранодальной локализации даже чаще — в 43% лимфом [119]. CD30 выявляется преимущественно в крупных клетках, цитотоксические молекулы встречаются редко.

Редкой формой Т-клеточной опухоли является **Т-клеточный лейкоз/лимфома взрослых**, который встречается преимущественно у жителей Японии, стран Карибского бассейна и Центральной Африки и вызывается ретровирусом HTLV-1. Наиболее характерные данные об иммунофенотипе периферических Т-клеточных лимфом суммированы в табл. 5.

В некоторых случаях особенности гистологического строения опухоли лимфоидной ткани, неоднозначность результатов, полученных в результате иммунофенотипирования, или aberrантный иммунофенотип опухолевых клеток делают невозможной верификацию диагноза лимфомы. Это требует применения методов молекулярной генетики, которые позволяют обнаружить диагностически важные неслучайные изменения генома опухолевых клеток.

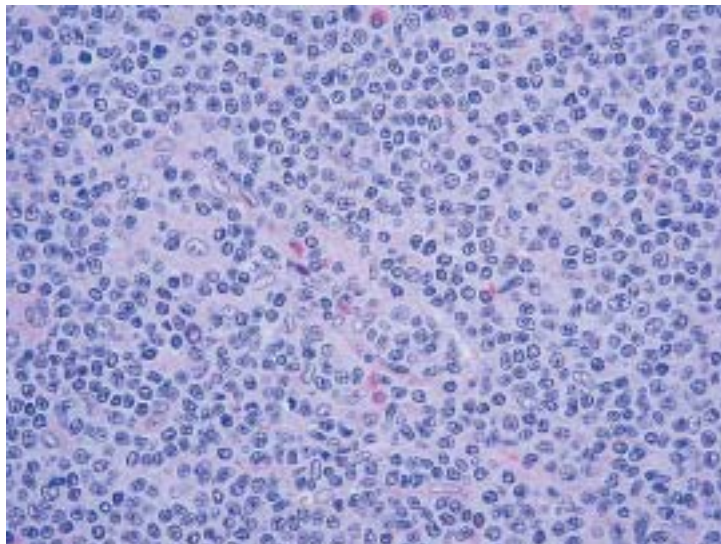


Рис. 97. Лимфома с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неуточненная: основную массу составляют клетки мелкого размера

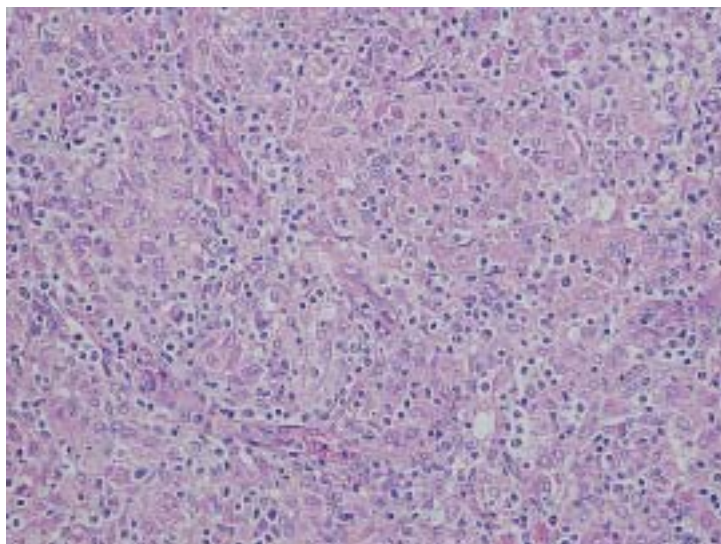


Рис. 98. Лимфома с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неуточненная (лимфома Леннерта): атипичные лимфоидные клетки смешаны с многочисленными эпителиоидными гистиоцитами

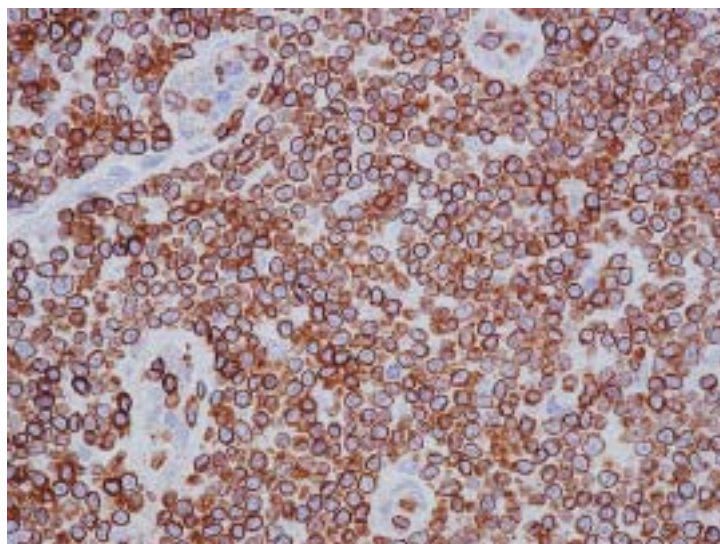


Рис. 99. Лимфома с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неутонченная: выраженная экспрессия CD3

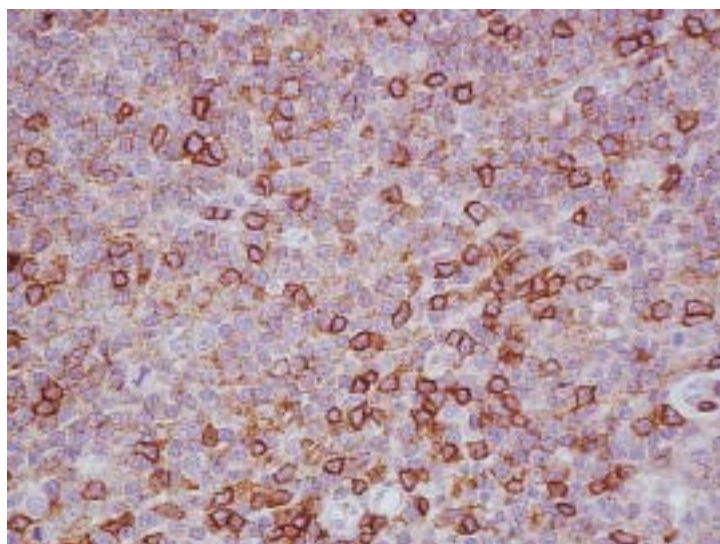


Рис. 100. Лимфома с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неутонченная: та же опухоль, выраженная экспрессия CD4

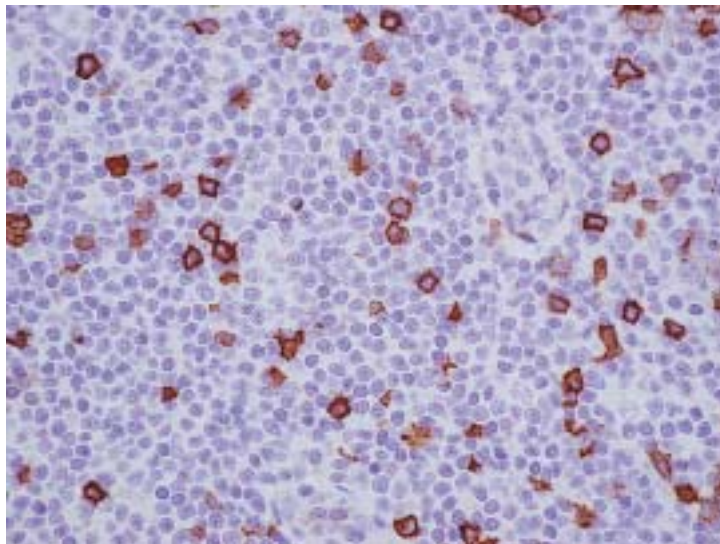


Рис. 101. Лимфома с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неуточненная: та же опухоль, экспрессия CD8 в единичных клетках

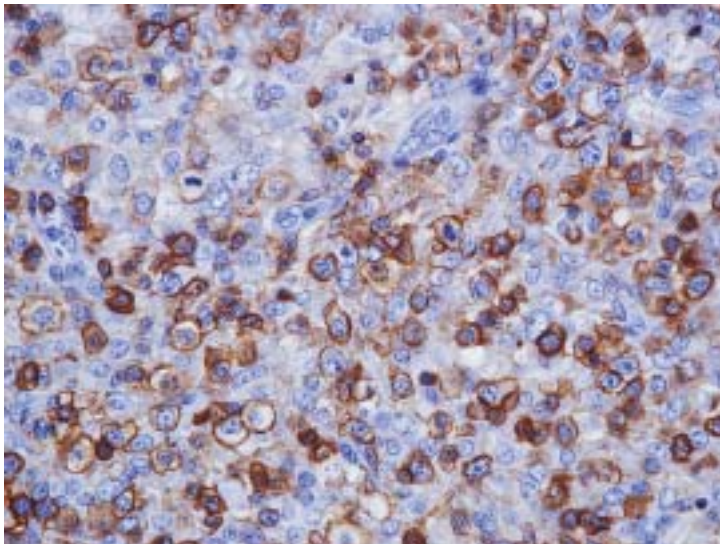


Рис. 102. Лимфома с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неуточненная: умеренно выраженная экспрессия CD45RO в лимфоме Леннерта

Таблица 5

**Иммунофенотип наиболее часто встречающихся форм
Т-клеточных опухолей с фенотипом зрелых лимфоцитов
(M. Vyberg, с изменениями [246])**

| Тип лимфомы | Маркер | | | | | | | | Прочие |
|---|--------|-----|-----|-----|-----|------|------|-------|--------------------------------------|
| | CD3 | CD4 | CD5 | CD7 | CD8 | CD30 | CD56 | TIA-1 | |
| Т-пролимфоцитарный лейкоз | + | +/- | + | + | -/+ | - | - | - | |
| Т-клеточный лейкоз из больших гранулярных клеток | + | -/+ | + | + | +/- | - | -/+ | + | CD57+/- |
| Агрессивный НК-лейкоз | -/+ | - | + | -/+ | - | - | + | + | |
| Экстранодальная Т/НК-клеточная лимфома, назальный тип | -/+ | - | + | -/+ | - | -/+ | + | + | EBV+, CD57- |
| Грибовидный микоз | + | + | + | - | -/+ | - | - | - | CD30+ в крупных клетках |
| Ангиоиммуобластная лимфома | + | +/- | + | + | -/+ | -/+ | - | - | CD10+; CD21+; CD23+ в ФДК |
| Анапластическая крупноклеточная лимфома | -/+ | +/- | - | - | - | + | -/+ | +/- | ALK+/-, EMA+/- класте- рин+ |
| Подкожная панникулитоподобная лимфома | +/- | - | + | +/- | + | - | -/+ | + | |
| Лимфома типа энтеропатии | + | - | - | + | -/+ | -/+ | -/+ | + | CD103+ |
| Гепатолиенальная лимфома | + | - | - | + | -/+ | - | +/- | + | |
| Лимфома с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неуточненная | +/- | +/- | + | +/- | -/+ | -/+ | -/+ | +/- | |

Примечание: (+) – более 90% случаев позитивны; (+/-) – 50–90% случаев позитивны; (-/+) – 10–50% случаев позитивны; (-) – менее 10% случаев позитивны; ФДК – фолликулярные дендритические клетки.

Дифференциальная диагностика реактивных гиперпластических процессов лимфоидной ткани и лимфом с помощью методов молекулярной генетики основывается на диагностике моноклональности. Идентичность перестройки генов тяжелых цепей иммуноглобулинов или генов Т-клеточных рецепторов в изучаемой популяции клеток означает моноклональность и расценивается как аргумент, свидетельствующий в пользу опухолевой природы процесса.

Некоторые неходжкинские лимфомы в своем патогенезе тесно связаны с молекулярными дефектами, которые могут иметь диагностическое значение. Примером диагностически важной неслучайной транслокации, связанной с лимфомами из клеток зоны мантии, может быть $t(11;14)(q13;q32)$, в результате которой возникает сверхэкспрессия BCL-1 (циклин D1/PRAD 1).

Примерно 85–90% всех фолликулярных лимфом характеризуется неслучайной генетической аномалией — $t(14;18)(q32; q21)$. В результате наступает дерегуляция экспрессии нормального гена, располагающегося на 18-й хромосоме, известного как *bcl-2*. Этот ген кодирует белок ядерной мембраны и эндоплазматической сети, который с помощью неизученного механизма не дает клетке погибнуть путем апоптоза. Сверхэкспрессия *bcl-2* в клетках фолликулярной лимфомы обеспечивает удлинение времени жизни опухолевых клеток, препятствуя их запрограммированной гибели. Транслокация *bcl-2* не является патогномоничной для фолликулярных лимфом и встречается в некоторых случаях диффузных В-клеточных крупноклеточных лимфом.

Диагностически и прогностически важной является транслокация $t(2;5)(p23;q35)$, характерная для анапластических крупноклеточных лимфом. Транслокация ведет к слиянию гена нуклеофосмина (*NMP*) и гена киназы анапластической лимфомы (*ALK1*). Это приводит к синтезу химерного белка, который обнаруживается в значительной части случаев анапластических крупноклеточных лимфом.

Другими примерами являются транслокация *bcl-3*, обнаруженная в лимфоцитарных лимфомах, — $t(14;19)(q32;q13)$; перестройка *bcl-6* в диффузных В-клеточных крупноклеточных лимфомах; перестройка *c-myc*, связанная с $t(8;14)(q24;q32)$ в лимфомах Бёркитта; *pac-5* транслокация $t(9;14)(p13;q32)$, выявленная в лимфоцитоматозных лимфомах; *bcl-10* перестройка,

выявленная в MALT-лимфомах при $t(1; 14)(p22;q32)$, или другой генетический дефект MALT-лимфом — $t(11;18)(q21;q21)$, в результате которого экспрессируется aberrантный протеин AP12-MLT.

Следует отметить, что нередко клиническая характеристика опухолевого процесса (в первую очередь локализация) может иметь ключевое значение в дифференциальной диагностике, поскольку не только морфологические признаки лимфом, но и иммунофенотип опухолевых клеток неспецифичны, а молекулярно-генетический анализ часто невозможен из-за разрушения ДНК при гистологической обработке биопсированной ткани или недоступен. Необходимо помнить, что связь между цитологической характеристикой состава опухоли (так называемая гистологическая «степень злокачественности» неходжкинских лимфом) и течением заболевания обнаружена не была, поэтому клиническая практика требует точного нозологического диагноза опухолей лимфоидной ткани на основании интегрированного гистологического, иммуногистохимического, а в некоторых случаях и молекулярно-генетического исследования опухолевого субстрата.

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЛИМФОМЫ ХОДЖКИНА

Лимфома Ходжкина (лимфогранулематоз) — злокачественная опухоль лимфоидной ткани, в которой немногочисленные опухолевые клетки характерного строения располагаются среди преобладающего реактивного клеточного окружения. Выделяют две принципиально различные формы заболевания, отличающиеся друг от друга по эпидемиологическим, клиническим, морфологическим, иммунофенотипическим и молекулярно-биологическим признакам: лимфому Ходжкина, нодулярный тип лимфоидного преобладания и классическую лимфому Ходжкина. Классическая лимфома Ходжкина представлена четырьмя гистологическими вариантами: вариантом с нодулярным склерозом, смешанно-клеточным вариантом, вариантом с истощением лимфоидной ткани и вариантом с большим количеством лимфоцитов.

Гистологический диагноз лимфомы Ходжкина предполагает идентификацию двух неотъемлемых составных частей патологического процесса: 1) диагностических опухолевых клеток Березовского–Штернберга–Рид и клеток Ходжкина, расположенных среди 2) окружающих неопухолевых клеток, формирующих один из типичных гистологических вариантов строения опухоли.

Клетки Березовского–Штернберга–Рид типичного строения — крупные (20–30 мкм) клетки, содержащие 2 или более ядер, либо в ядре выявляются две или более долей. Ядра округлой формы, с четкой ядерной мембраной и небольшим количеством гомогенного гетерохроматина, содержат, как правило, одно крупное (до 1/4 диаметра ядра), округлое, оксифильное, гомогенное ядрышко. В диагностических клетках Березовского–Штернберга–Рид должно быть не менее двух ядрышек в двух долях ядра (по одному

и более в каждой доле). Ядрышки нередко окружены узкой зоной просветления в гетерохроматине, такую картину иногда называют «совиным глазом». В клетках с двудольчатым ядром бывает заметна центральная или зеркальная симметрия строения. Цитоплазма широкая, амфофильная или слабобазофильная, в препаратах, окрашенных азур II–эозином, различима слабоэозинофильная зона перинуклеарного просветления (зона Гольджи) (рис. 103). Одноядерные клетки сходного строения называют клетками Ходжкина (рис. 104) [161]. Встречаются опухолевые клетки с плотной компактной цитоплазмой и пикнотичным бесструктурным ядром – мумифицированные клетки. Лакунарные клетки, характерные для варианта с нодулярным склерозом, обнаруживаются в ткани, фиксированной в формалине, в результате чего объемная цитоплазма клеток сморщивается и клетка остается в «лакуне», сформированной окружающими клетками (рис. 105). Особым вариантом клеток Березовского–Штернберга–Рид являются лимфогистиоцитарные (L&H-клетки) с крупным складчатым, скрученным или многодольчатым ядром, тонкой ядерной мембраной, однородным гетерохроматином, многочисленными базофильными мелкими ядрышками и умеренно развитой бледноокрашенной цитоплазмой (рис. 106). Иногда эти клетки сравнивают с воздушной кукурузой (popcorn-клетки).

Так как клетки, морфологически сходные с клетками Березовского–Штернберга–Рид, могут встретиться при неходжкинских лимфомах и некоторых реактивных изменениях лимфоидной ткани, для постановки диагноза лимфомы Ходжкина необходимо присутствие диагностических клеток в соответствующем реактивном микроокружении.

ЛИМФОМА ХОДЖКИНА, НОДУЛЯРНЫЙ ТИП ЛИМФОИДНОГО ПРЕОБЛАДАНИЯ

Выявляется у 5% больных лимфомой Ходжкина. Ткань лимфатического узла полностью или частично замещена инфильтратом нодулярного строения, часто сочетающегося с зонами диффузного роста. Могут быть различимы резидуальные фолликулы, оттесненные к капсуле узла. Узлы варьируют в размерах, имеют размытые границы, они видны более отчетливо при импрегнации

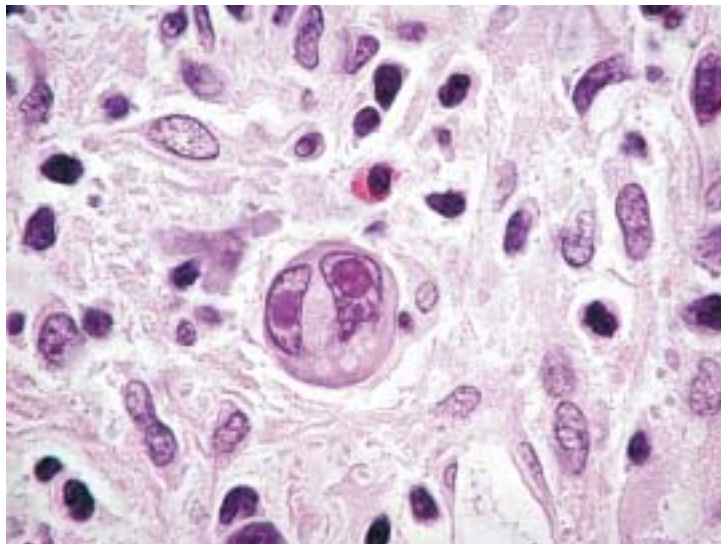


Рис. 103. Диагностическая двуядерная клетка Березовского–Штернберга–Рид с крупными оксифильными ядрышками в каждом из ядер и амффильной цитоплазмой

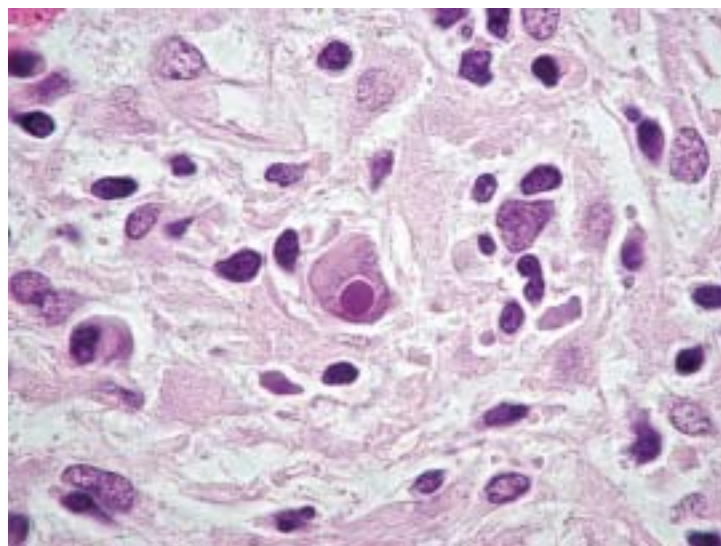


Рис. 104. Одноядерная клетка Ходжкина с крупным оксифильным ядрышком

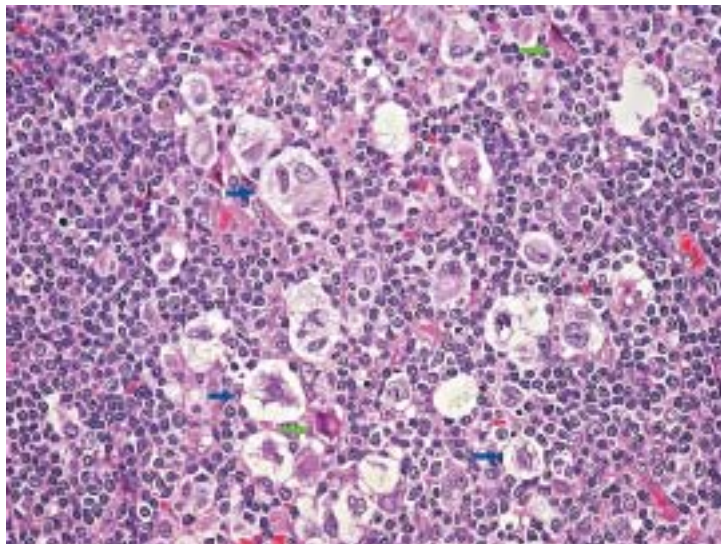


Рис. 105. Лакунарные клетки (синяя стрелка): крупные опухолевые клетки, расположенные в «лакуне» за счет ретракции цитоплазмы; мумифицированные клетки (зеленая стрелка): клетки с пикнотизированными гиперхромными ядрами

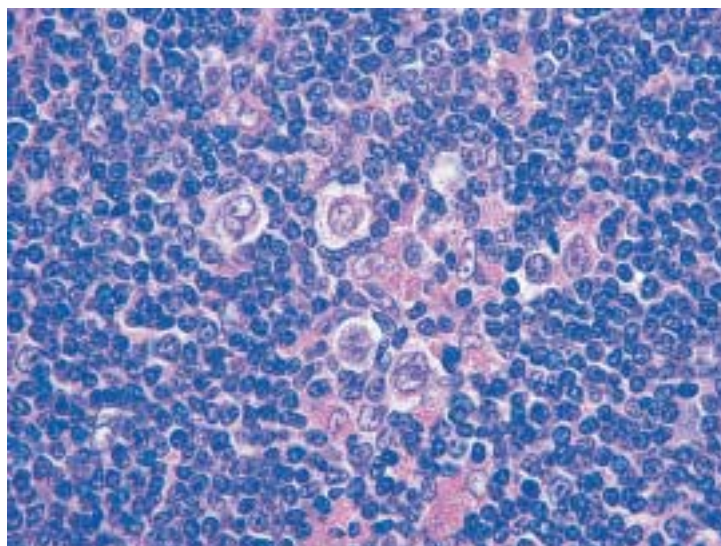


Рис. 106. Лимфогистиоцитарные (L&H-клетки) с многодольчатыми ядрами, многочисленными базофильными мелкими ядрышками и умеренно развитой бледноокрашенной цитоплазмой

ретикулинового каркаса солями серебра. Опухолевые клетки представлены L&H вариантом клеток Березовского–Штернберга–Рид, которые обычно располагаются в центральной зоне нодулярных структур и не образуют явных скоплений. Типичные клетки Березовского–Штернберга–Рид немногочисленны или отсутствуют. Среди клеток инфильтрата преобладают малые лимфоциты, в меньшем количестве обнаруживаются гистиоциты, которые могут образовывать небольшие скопления. На периферии нодулярных образований иногда встречаются реактивные плазматические клетки. Эозинофильные и нейтрофильные лейкоциты почти всегда отсутствуют [14, 166]. В классификации опухолей лимфоидной ткани ВОЗ указывается, что обнаружение хотя бы одной нодулярной структуры характерного строения в ткани, имеющей преимущественно диффузный тип роста, исключает диагноз диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы с обилием Т-лимфоцитов, с которой необходимо дифференцировать этот вариант лимфомы Ходжкина. Однако изучение морфологических изменений в крупной серии наблюдений диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы с обилием Т-лимфоцитов показало, что в части случаев нодулярный тип роста может наблюдаться, но узлы образованы не В-клетками, как в нодулярном типе лимфоидного преобладания лимфомы Ходжкина, а Т-лимфоцитами [220]. Существенно различается и клиническая картина заболеваний — при неходжкинской лимфоме нередко имеются III–IV стадии опухолевого процесса, сопровождающиеся В-симптомами, а для нодулярного типа лимфоидного преобладания лимфомы Ходжкина характерным является бессимптомное, медленно текущее увеличение лимфатического узла (узлов) одной анатомической зоны. Особенности клинической картины должны быть учтены в случае спорной морфологии.

Приблизительно в 18% случаев в пораженном лимфатическом узле встречается прогрессивная трансформация светлых центров размножения — особый тип реактивной гиперплазии. Он характеризуется появлением узлов (или одиночного узла), представляющих собой увеличенный фолликул, в котором светлый центр размножения вытеснен клетками зоны мантии [43]. При обнаружении прогрессивной трансформации светлых центров

размножения в лимфатическом узле, не имеющем признаков нодулярного варианта лимфоидного преобладания лимфомы Ходжкина, следует рекомендовать динамическое наблюдение за больным, так как данный тип реактивной гиперплазии рассматривается многими исследователями как предопухоловое состояние.

В 3–5% случаев нодулярного типа лимфоидного преобладания отмечается прогрессия с развитием диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы.

Иммунофенотип. Опухолевые L&H-клетки экспрессируют В-линейные антигены CD20 (рис. 107) и CD79a, общелейкоцитарный антиген CD45RB (рис. 108) и антиген эпителиальных мембран. В отличие от классических клеток Березовского–Штернберга–Рид не экспрессируют CD15 и CD30, слабая экспрессия CD30 обнаруживается лишь в редких случаях. Большая часть малых лимфоцитов инфильтрата экспрессирует CD20, а L&H-клетки окружены кольцом CD57+ Т-клеток (рис. 109). Такие розетки из Т-лимфоцитов нехарактерны для классического лимфогранулематоза и В-клеточной лимфомы с большим количеством Т-клеток. Выявление с помощью антител к CD21 или CD23 гиперплазированной сети фолликулярных дендритических клеток, образующих шаровидные структуры, подчеркивает нодулярный рисунок строения опухоли [14, 60, 135, 208, 209] (рис. 110).

КЛАССИЧЕСКАЯ ЛИМФОМА ХОДЖКИНА, ВАРИАНТ С НОДУЛЯРНЫМ СКЛЕРОЗОМ

Наиболее распространенный подтип классической лимфомы Ходжкина (до 70% всех случаев). Лимфатический узел может быть поражен полностью или частично. Капсула лимфатического узла значительно утолщена, а в ткани узла обнаруживаются кольца и дуги фиброзной ткани, окружающие округлые образования из опухолевой лимфоидной ткани (рис. 111). В некоторых случаях склероз может быть развит слабо, тогда для выявления фиброзных дуг может оказаться полезной микроскопия в поляризованном свете — коллагеновые волокна выделяются из-за двойного лучепреломления. В классификации опухолей лимфоидной и гемопоэтической ткани ВОЗ указывается, что для того, чтобы отнести лимфому Ходжкина к варианту с нодулярным

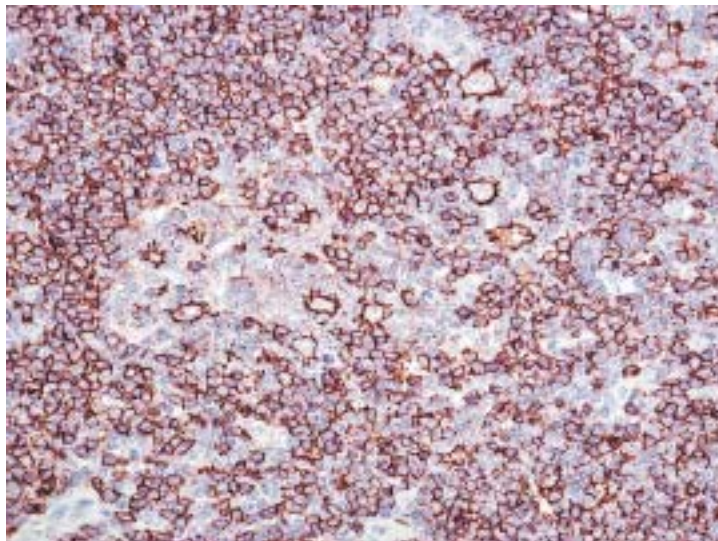


Рис. 107. Лимфома Ходжкина, нодулярный тип лимфоидного преобладания:
экспрессия CD20 опухолевыми (L&H) клетками

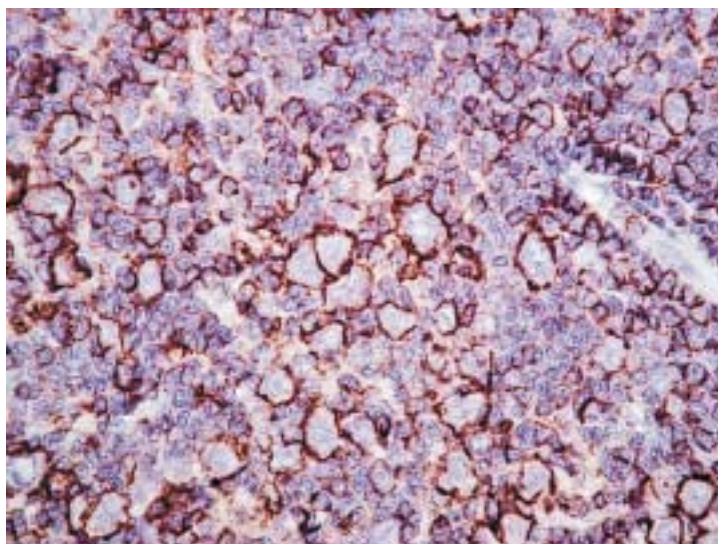


Рис. 108. Лимфома Ходжкина, нодулярный тип лимфоидного преобладания:
экспрессия CD45RB опухолевыми (L&H) клетками

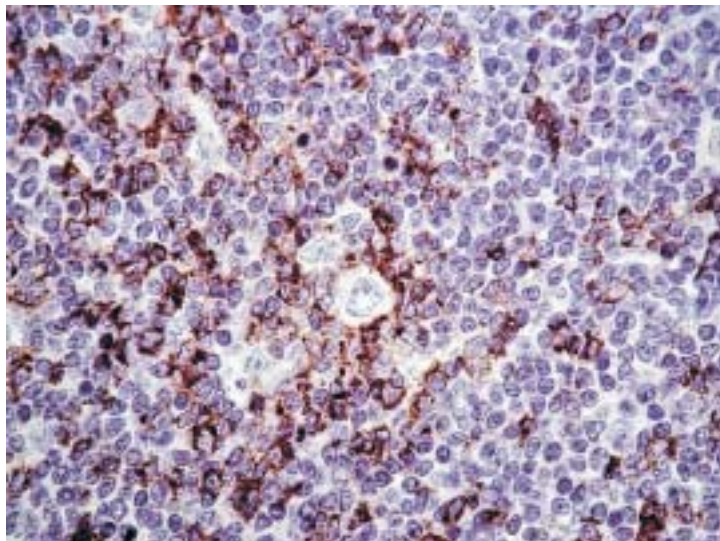


Рис. 109. Лимфома Ходжкина, нодулярный тип лимфоидного преобладания:
CD57+ Т-клетки окружают опухолевые (L&H) клетки

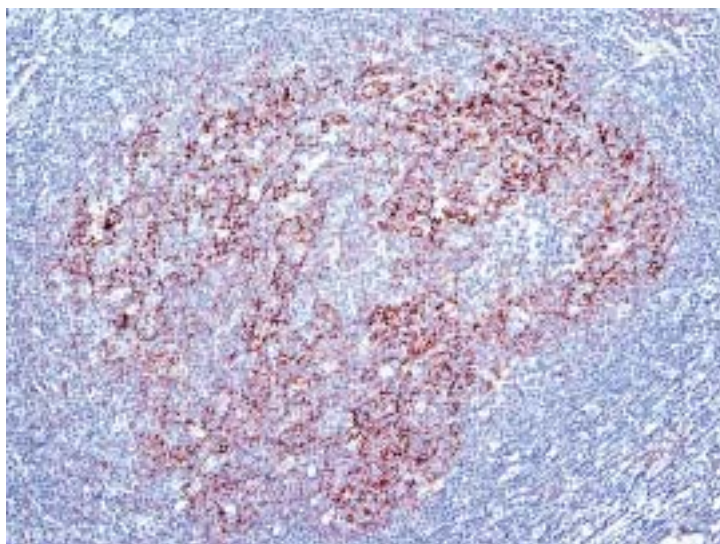


Рис. 110. Лимфома Ходжкина, нодулярный тип лимфоидного преобладания:
гиперплазированная сеть фолликулярных дендритических клеток, экспрессия CD23

склерозом, достаточно обнаружить в опухолевой ткани хотя бы одну нодулярную структуру [128].

В нодулярных образованиях опухолевая ткань состоит из клеток Березовского–Штернберга–Рид, которые при этом гистологическом варианте лимфомы Ходжкина чаще всего имеют вид лакунарных клеток. Опухолевые лакунарные клетки могут располагаться поодиночке, группами или крупными скоплениями, в некоторых случаях они оказываются резко полиморфными (ядра имеют неправильные, уродливые очертания, хроматин гиперхромный) [15]. Обнаружение обширных слоев и скоплений опухолевых клеток характерно для синцитиального варианта нодулярного склероза [33] (рис. 112). Клетки Березовского–Штернберга–Рид типичного строения встречаются редко.

Неопухолевый компонент представлен малыми лимфоцитами, плазматическими клетками, эозинофильными и нейтрофильными гранулоцитами, гистиоцитами и фибробластами. Количественные соотношения опухолевых и неопухолевых клеток меняются не только от случая к случаю, но в пределах одного биоптата. Довольно часто в нодулярных образованиях обнаруживаются очаги некрозов, окруженные слоями опухолевых клеток. В центрах таких очагов отмечается нейтрофильная реакция, напоминающая абсцедирование.

Разделение нодулярного склероза на две группы (градации или степени), предложенное Британской группой изучения лимфом (BNLI), основано на оценке клеточного состава нодулярных структур в биоптате [32]. Ко второй степени относят случаи, в которых: а) более 25% нодулярных структур содержат многочисленные уродливые анаплазированные клетки Березовского–Штернберга–Рид на клеточном фоне без истощения лимфоидной ткани; б) более 25% нодулярных структур характеризуются истощением лимфоидной ткани, особенности строения клеток Березовского–Штернберга–Рид во внимание не принимаются; в) более 80% нодулярных структур обнаруживают фиброзно-гистиоцитарное содержимое с некоторым количеством лакунарных клеток или типичных клеток Березовского–Штернберга–Рид. Синцитиальный вариант также относят к группе 2. Остальные случаи, сомнительные и пограничные, относят к 1 группе. Данные о прогностическом значении выделения этих групп лимфомы Ходжкина с нодулярным склерозом противоречивы, существуют

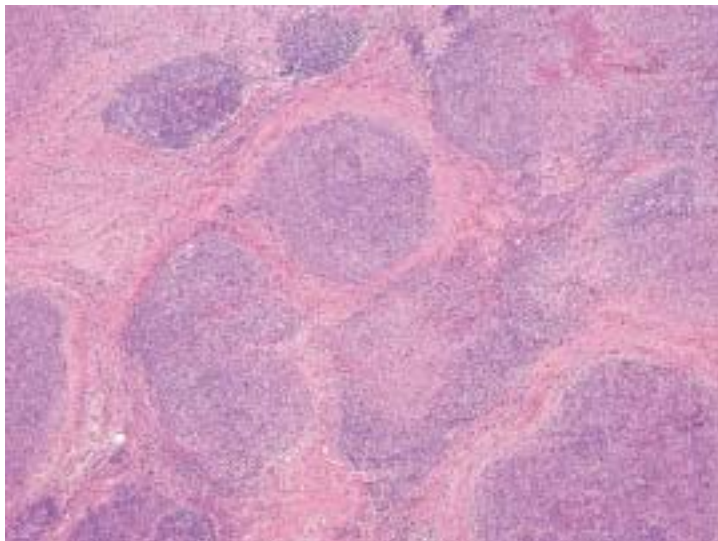


Рис. 111. Классическая лимфома Ходжкина, вариант с нодулярным склерозом: кольца и дуги фиброзной ткани, окружающие округлые образования лимфоидной ткани

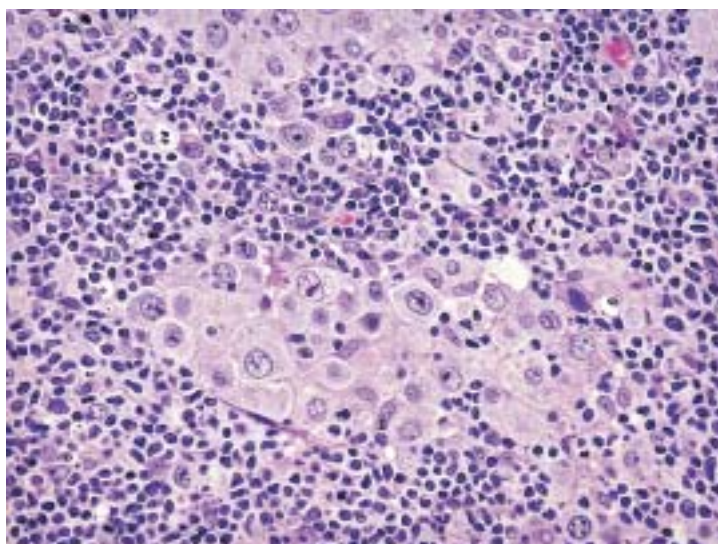


Рис. 112. Классическая лимфома Ходжкина, синцитиальный вариант нодулярного склероза: многочисленные опухолевые клетки, расположенные в виде скоплений

альтернативные методы выделения подгрупп нодулярного склероза, основанные на оценке количества лимфоцитов, эозинофильных лимфоцитов и выраженности анаплазии опухолевых клеток [245]. Классификация ВОЗ рекомендует в гистологическом диагнозе классической лимфомы Ходжкина с нодулярным склерозом указывать группу, к которой этот случай относится, с целью накопления информации о прогностическом значении такого подразделения.

КЛАССИЧЕСКАЯ ЛИМФОМА ХОДЖКИНА, СМЕШАННО-КЛЕТОЧНЫЙ ВАРИАНТ

Смешанно-клеточный вариант диагностируется в 20–25% случаев классической лимфомы Ходжкина. Лимфоидная ткань в лимфатическом узле частично или полностью замещена инфильтратом, в котором клетки Березовского–Штернберга–Рид располагаются среди малых лимфоцитов, лимфоидных клеток среднего размера с угловатыми ядрами, плазматических клеток, гистиоцитов, фибробластов, эозинофильных и нейтрофильных гранулоцитов (рис. 113). Возможен интерфолликулярный рост опухоли с сохранением реактивных фолликулов [85]. Некоторые опухолевые клетки могут напоминать активированные крупные лимфоидные клетки или иммунобласты. Количественный состав реактивно-воспалительного окружения отличается от случая к случаю. Иногда эозинофильные гранулоциты многочисленны и формируют подобие «эозинофильных абсцессов». Встречаются случаи с большим количеством эпителиоидных макрофагов и формированием эпителиоидных гранулем, могут также обнаруживаться очаги некрозов и зоны фиброза. Фиброзная ткань при смешанно-клеточном варианте классической лимфомы Ходжкина не образует слоев, полос или дуг, фиброз часто имеет интерстициальный характер, коллаген не обладает свойством двойного лучепреломления в поляризованном свете.

Согласно критериям классификации ВОЗ, смешанно-клеточный вариант классической лимфомы Ходжкина рассматривается как самостоятельная клиничко-анатомическая форма. Случаи, в которых четкие морфологические признаки какого-либо из вариантов классической лимфомы Ходжкина отсутствуют, следует не относить к смешанно-клеточному варианту, а обозначать как неклассифицируемые.

КЛАССИЧЕСКАЯ ЛИМФОМА ХОДЖКИНА,
ВАРИАНТ С ИСТОЩЕНИЕМ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ

Редкий вариант классической лимфомы Ходжкина, на который приходится не более 1–5% наблюдений. В лимфатических узлах могут быть изменения двух типов. Истощение лимфоидной ткани по типу диффузного фиброза характеризуется довольно однородным диффузным сетчатым фиброзом с наличием аморфного гомогенного эозинофильного бесклеточного вещества в петлях коллагеновых волокон, не обладающих свойством двойного лучепреломления в поляризованном свете. Общее количество клеточных элементов, особенно лимфоцитов, снижено. Диагностические клетки Березовского–Штернберга–Рид редки (рис. 114), хотя могут встречаться участки с повышенным числом опухолевых клеток. При ретикулярном типе резко преобладают и типичные, и уродливые клетки Березовского–Штернберга–Рид, иногда опухоль приобретает саркоматозный вид. Клетки реактивно-воспалительного окружения единичны. Опухолевая ткань при лимфоме Ходжкина с истощением лимфоидной ткани часто некротизируется [27, 187].

КЛАССИЧЕСКАЯ ЛИМФОМА ХОДЖКИНА
С БОЛЬШИМ КОЛИЧЕСТВОМ ЛИМФОЦИТОВ

Диагностируется приблизительно в 5% классической лимфомы Ходжкина. Описаны следующие типы роста: нодулярный (преобладает), диффузный и интерфолликулярный. Опухолевые клетки, как правило, выявляются ближе к периферии узлов, могут быть классического типа, но также встречаются лимфогистиоцитарные клетки и одноядерные формы. Клетки Ходжкина и клетки Березовского–Штернберга–Рид располагаются среди малых лимфоцитов, имеющих морфологию клеток зоны мантии (рис. 115). Гранулоциты и гистиоциты очень редки или отсутствуют. Встречаются фолликулярные структуры с редуцированными центрами размножения [14].

Иммунофенотип. Все варианты клеток Березовского–Штернберга–Рид при классической лимфоме Ходжкина имеют сходный иммунофенотип. Эти клетки экспрессируют CD30 (100% случаев) (рис. 116) и CD15 (75% случаев) (рис. 117) на клеточной мембране и в перинуклеарной зоне цитоплазмы (зоне Гольджи).

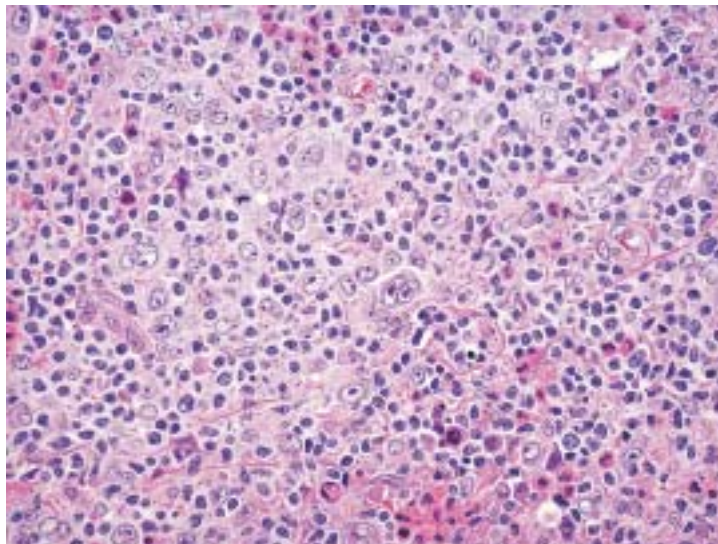


Рис. 113. Классическая лимфома Ходжкина, смешанно-клеточный вариант: опухолевые клетки, расположенные на фоне малых лимфоцитов, эозинофильных гранулоцитов, гистиоцитов (в центре поля зрения диагностическая клетка Березовского–Штернберга–Рид)

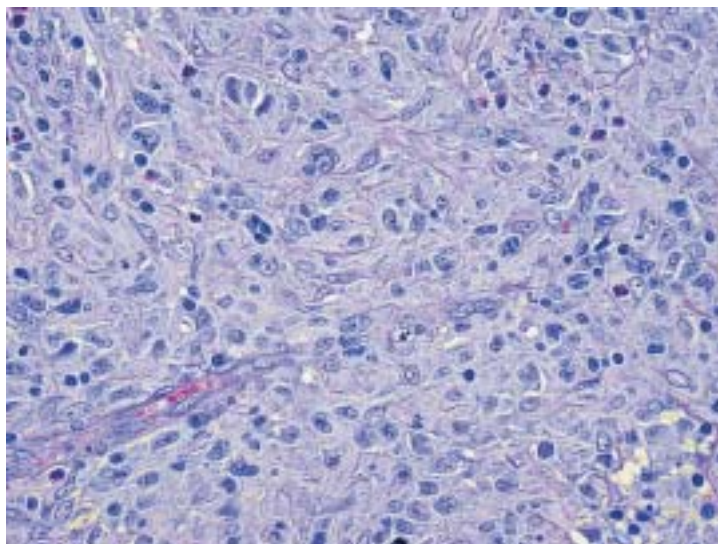


Рис. 114. Классическая лимфома Ходжкина, вариант с истощением лимфоидной ткани: диффузный сетчатый фиброз, немногочисленные лимфоциты, единичные клетки Березовского–Штернберга–Рид

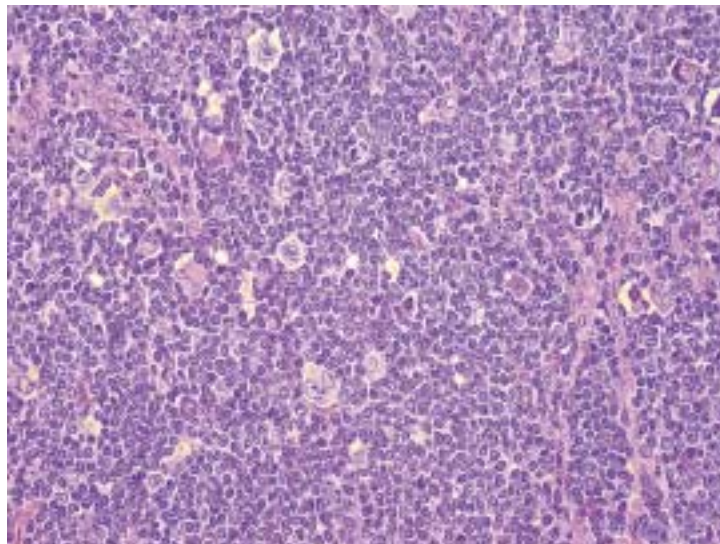


Рис. 115. Классическая лимфома Ходжкина с большим количеством лимфоцитов: клетки Ходжкина и Березовского–Штернберга–Рид располагаются среди малых лимфоцитов, имеющих морфологию клеток зоны мантии

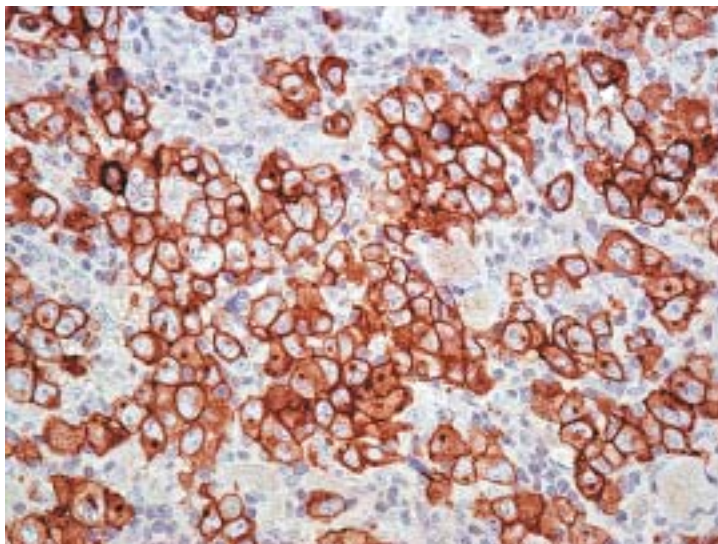


Рис. 116. Классическая лимфома Ходжкина, экспрессия CD30 на мембране и в зоне Гольджи цитоплазмы

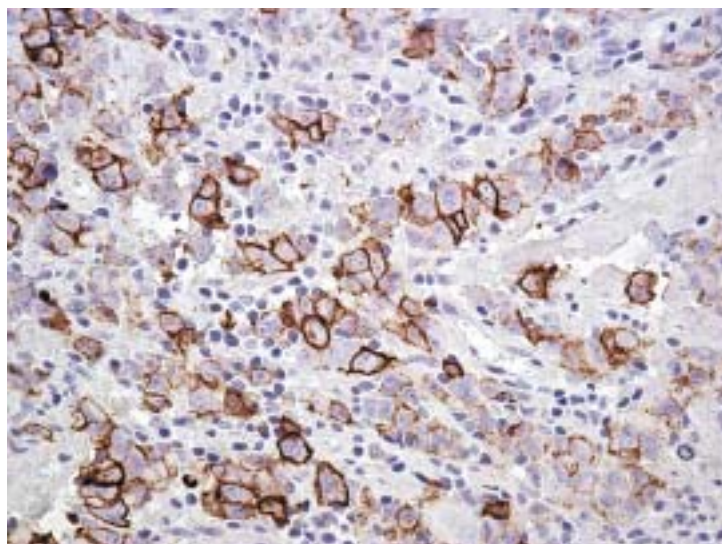


Рис. 117. Классическая лимфома Ходжкина, мембранная экспрессия CD15

Таблица 6

**Иммунофенотип различных типов лимфомы Ходжкина
(M. Vyberg с изменениями [246])**

| Тип лимфомы Ходжкина | Маркер | | | | | | | | |
|---|--------|------|------|------|--------|------|--------|-----|--------------------------------|
| | CD3 | CD15 | CD20 | CD30 | CD45RB | Oct2 | J цепь | EMA | Прочие |
| Лимфома Ходжкина, нодулярный тип лимфоидного преобладания | - | - | + | - | + | + | + | +/- | CD57+ розетки; CD23+ ФДК; EBV- |
| Классическая лимфома Ходжкина | - | +/- | -/+ | + | - | -/+ | - | - | EBV+ |

Примечания: (+) – более 90% случаев позитивны; (+/-) – 50–90% случаев позитивны; (-/+) – 10–50% случаев позитивны; (-) – менее 10% случаев позитивны; ФДК – фолликулярные дендритические клетки; EBV – вирус Эпштейна–Барр.

CD20 экспрессируется приблизительно в 40%, а ЕМА — менее чем в 5% случаев. Также описана экспрессия виментина, фасцина. Опухолевые клетки не экспрессируют CD45RB, J-цепь; кластерин и Т-линейные антигены обнаруживаются в небольшом проценте опухолей [60, 134, 207, 210] (табл. 6). При классической лимфоме Ходжкина с разной частотой в зависимости от гистологического типа выявляется вирус Эпштейна–Барр [113]. Среди лимфоидных клеток неопухолевого окружения преобладают CD4-позитивные Т-клетки, CD8⁺ клетки немногочисленны. Т-клетки нередко обнаруживают экспрессию цитотоксических молекул, CD57 не определяется.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ЛИМФОМ СО СХОДНЫМИ ЧЕРТАМИ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ

В основе гистологического исследования биопсий лимфатических узлов, как и всех других органов и тканей, лежит детальное исследование тканевой структуры (архитектоники) и клеточного состава биоптата. Исследование препаратов, окрашенных гематоксилин-эозином или азур II–эозином, позволяет отнести исследуемую опухоль лимфоидной ткани к одной из групп лимфом, объединенных выраженным морфологическим сходством (табл. 7).

Таблица 7

Признаки, объединяющие лимфомы в группы сходного гистологического строения

1. Пролиферация бластных клеток
2. Диффузная пролиферация мелких клеток
3. Диффузная пролиферация крупных клеток
4. Фолликулярный рост лимфоидной ткани
5. Нодулярный характер роста опухолевой ткани
6. Анапластическая морфология лимфоидных клеток
7. Диффузная полиморфно-клеточная лимфоидная пролиферация

С целью дифференциальной диагностики необходимо выбрать рациональный состав панели иммунологических маркеров (антител), который позволяет различить гистологически сходные варианты лимфом между собой. Учитывая высокую стоимость и трудоемкость иммуногистохимического исследования, набор антител для каждой группы лимфом должен быть минимально достаточным (табл. 8).

Таблица 8

**Состав панелей иммуногистохимических маркеров,
необходимых для дифференциальной диагностики
наиболее часто встречающихся лимфом**

| Дифференциально-диагностический признак | Дифференциально-диагностическая группа | Примерный состав панели иммуногистохимических маркеров |
|---|--|--|
| Пролиферация клеток с морфологией бластов | Т-лимфобластный лейкоз / лимфома В-лимфобластный лейкоз / лимфома Лимфома из клеток зоны мантии, бластоидный вариант Бластная НК-клеточная лимфома Миелоидная саркома | Первый этап: TdT, CD3, CD5, CD79a, CyD1. Второй этап: CD4, CD56, CD68 или миелопероксидаза, лизоцим |
| Диффузная пролиферация мелких лимфоидных клеток | Лимфоцитарная лимфома Лимфоплазмочитарная лимфома В-клеточные лимфомы маргинальной зоны Лимфома из клеток зоны мантии Фолликулярная лимфома 1 ст., с диффузным характером роста Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз | CD3, CD5, CD10, CD20, CD23, CyD1 |
| Фолликулярный рост лимфоидной ткани | Фолликулярная лимфома Фолликулярная гиперплазия | κ, λ, BCL-2, Ki-67 |
| Нодулярный характер роста опухолевой ткани | Фолликулярная лимфома Лимфоцитарная лимфома В-клеточные лимфомы маргинальной зоны Лимфома из клеток зоны мантии Лимфома Ходжкина, нодулярный тип лимфоидного преобладания | Первый этап: CD3, CD20 Второй этап: CD5, CD10, CD23, CyD1 или CD30, CD57, EMA |
| Диффузная пролиферация крупных лимфоидных клеток | Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома Лимфома Бёркитта | CD3, CD10, CD20, BCL-2, Ki-67 |
| Диффузная полиморфно-клеточная лимфоидная пролиферация | Ангиоиммуобластная лимфома Лимфома из клеток с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неуточненная Экстранодальная НК/Т-клеточная лимфома, назальный тип Панникулитоподобная Т-клеточная лимфома подкожной клетчатки Т-клеточная лимфома типа энтеропатии Классическая лимфома Ходжкина, смешанно-клеточный вариант | Первый этап: CD3, CD20, CD30 Второй этап: CD2, CD4, CD5, CD7, CD8, CD10, CD23, CD56, TIA-1, LMP1 или CD15, CD45RB |
| Диффузная пролиферация анаплазированных лимфоидных клеток | Классическая лимфома Ходжкина, с истощением лимфоидной ткани Анапластическая крупноклеточная лимфома | CD3, CD15, CD20, CD30, CD45RB, ALK1, Clusterin, EMA, цитотоксические молекулы |

Общие принципы иммуногистохимического исследования в диагностике лимфом предусматривают применение в каждом случае панели антител (набор, составленный на основании диагностической гипотезы, возникшей в результате гистологического исследования биоптата) и оценку комбинации позитивных и негативных результатов реакции в соответствии с известной информацией о морфологическом строении опухоли и иммунофенотипе опухолевых клеток. Чем вернее предварительное суждение о лимфоме, тем точнее удастся определить состав диагностической панели, что позволяет избежать бессмысленной траты дорогостоящих реактивов и сократить сроки исследования.

Диффузная пролиферация лимфоидных клеток с бластной морфологией характеризуется замещением ткани лимфатического узла довольно однообразным пролифератом из клеток среднего размера (в 1,5–2 раза больше ядра малого лимфоцита). Ядра этих клеток округлые, правильной формы или с неровными, иногда зазубренными контурами. Цитоплазма может быть различима в виде узкого сероватого ободка, фигуры митозов многочисленны. Ключевым признаком, определяющим бластную морфологию опухолевых клеток, является строение ядра. Гетерохроматин в ядрах имеет однородное пылевидное, зернистое или мелкоглыбчатое строение. В некоторых случаях отчетливо видно сетчатое и нежно-петлистое строение хроматина, имеющего вид тонких нитей. Гетерохроматин равномерно распределен по всему объему ядра. Ядра содержат 1–3 небольших полиморфных ядрышка. В отдельных случаях бласты могут содержать в ядрах довольно грубый хроматин в виде мелких глыбок, несколько отличающихся своими размерами, хроматин может быть распределен с увеличением его количества и плотности возле ядерной мембраны.

К опухолям подобного строения относятся лимфобластные лимфомы из клеток-предшественников В-лимфоцитов, лимфобластные лимфомы из клеток-предшественников Т-лимфоцитов, бластоидный вариант лимфомы из клеток зоны мантии и бластная НК-клеточная лимфома (CD4+/CD56+ гематодермальная опухоль).

Характерным цитологическим отличием бластоидного варианта лимфомы из клеток зоны мантии является довольно отчет-

ливая зазубрина в ядре опухолевых клеток или даже глубокая щель, что нехарактерно для лимфобластных лимфом.

Клетки лимфобластных лимфом в некоторых случаях, особенно в биоптатах опухоли средостения, образуют своеобразные параллельные ряды клеток, разделенные едва различимыми пучками коллагеновых волокон. В некоторых биопсиях опухолевые лимфобласты имеют округлые мелкие ядра с плотным конденсированным хроматином, который может быть как однородным, так и грубоглыбчатым. Такой вид опухолевых клеток может приводить к ошибочному диагнозу лимфоцитарной лимфомы. Дифференциальный диагноз должен учитывать следующие особенности этих лимфом (табл. 9):

Таблица 9

Некоторые дифференциально-диагностические отличия лимфобластных и лимфоцитарных лимфом

| Признак | Лимфобластные лимфомы | Лимфоцитарные лимфомы |
|---|------------------------|------------------------|
| Возраст менее 20 лет | Часто | Исключительно редко |
| Псевдофолликулярный рисунок строения | Нехарактерно | Очень часто |
| Однорядные клеточные цепочки | Характерно | Нехарактерно |
| Наличие параиммунобластов | Нехарактерно | Характерно |
| Митотическая активность «Звездное небо» | Высокая Встречается | Низкая Нехарактерно |

Гистологическое исследование не позволяет дифференцировать лимфобластные лимфомы, отличающиеся своей принадлежностью к В- или Т-клеточной линии.

Лимфобластные лимфомы вне зависимости от линейной принадлежности экспрессируют TdT — терминальную дезоксирибонуклеотидилтрансферазу, которая никогда не обнаруживается в клетках опухолей с иммунофенотипом периферических лимфоцитов, к которым относятся бластоидный вариант лимфомы из клеток зоны мантии и лимфоцитарные лимфомы. Лимфобластные

лимфомы из клеток-предшественников В-лимфоцитов обнаруживают цитоплазматическую экспрессию пан-В-клеточного антигена CD79а, значительно реже экспрессируется другой пан-В-клеточный антиген CD20, поэтому в составе дифференциально-диагностической панели предпочтение следует отдать антителам к CD79а. Бластиодный вариант лимфомы из клеток зоны мантии также характеризуется экспрессией CD79а. Лимфобластные лимфомы из клеток-предшественников Т-лимфоцитов в подавляющем большинстве случаев демонстрируют интенсивное *цитоплазматическое* окрашивание с антителами к пан-Т-клеточному антигену CD3, экспрессия другого пан-Т-клеточного антигена CD5 обнаруживается реже. Экспрессия CD5 — характерная черта бластоидного варианта лимфомы из клеток зоны мантии, В-клеточной опухоли, которая никогда не экспрессирует CD3. Необходимо помнить о возможности коэкспрессии CD3 и CD79а в некоторых случаях лимфобластных лимфом из клеток-предшественников Т-лимфоцитов, но в этих случаях CD79а экспрессируется слабо или только в некоторых клетках.

Лимфобластные лимфомы не экспрессируют циклин D1, обнаружение которого в виде отчетливого окрашивания *ядер* большинства клеток отличает бластоидный вариант лимфомы из клеток зоны мантии. Цитоплазматическая экспрессия этого маркера не имеет диагностического значения.

Бластная НК-клеточная лимфома не имеет специфических особенностей гистологического строения, но характеризуется очень яркой клинической картиной заболевания, в которой особое место занимает поражение кожи. Опухолевые клетки имеют преимущественно средний размер, сглаженный хроматин, что придает клеткам бластный вид; в зависимости от типа фиксации видны несколько небольших ядрышек. Иммунофенотип опухолевых клеток бластной НК-клеточной лимфомы характеризуется отсутствием обычных маркеров В-лимфоцитов (CD10, CD20, CD21, CD23), Т-лимфоцитов (CD3, CD5), миелоидных клеток (CD15, CD117, миелопероксидаза), НК-клеток (CD16, CD57), а также CD30, CD34, CD138. Бластные клетки экспрессируют CD4, CD43, CD45RA, CD45RB и CD56. CD68 выявляется в подавляющем большинстве случаев в виде пятнистого окрашивания цитоплазмы в зоне Гольджи. В части случаев антитела к TdT окрашивают от 10 до 80% опухолевых клеток.

Миелоидные (гранулоцитарные) саркомы (миелобластная саркома, монобластная саркома с миелоидной дифференцировкой) образованы клетками с бластной структурой хроматина. Среди клеток с ядрами округлой формы нередко удается обнаружить клетки с ядрами почкообразной (бобовидной) или даже подковообразной формы, которые характерны для миелоцитов и метамиелоцитов. Особенно ценную информацию, указывающую на миелоидную дифференцировку, удастся получить при исследовании срезов, окрашенных азур II–эозином: в цитоплазме опухолевых клеток гранулоцитарных сарком можно обнаружить нейтрофильную или эозинофильную зернистость, которая неразличима при окраске гематоксилин-эозином. Клетки опухоли экспрессируют в различных комбинациях миелопероксидазу, лизоцим, CD15, CD34, CD43, CD68, CD117.

Диффузная пролиферация мелких лимфоидных клеток практически не оставляет сомнений в опухолевой природе процесса при достаточном объеме исследуемой ткани. Обычно обнаруживаются опухолевые массы монотонного строения, замещающие организованную лимфоидную ткань. Характерны инфильтративный рост за пределы капсулы лимфатического узла в перинодальную жировую ткань, мономорфный клеточный состав и более или менее выраженные признаки клеточной атипии. Диагностические проблемы возникают при исследовании небольших или сильнодеформированных биоптатов, когда трудно оценить структуру ткани и строение клеток.

В подавляющем большинстве случаев опухоли диффузного строения из мелких клеток имеют В-клеточный фенотип, очень редким исключением может быть Т-пролимфоцитарный лейкоз. Если иммуногистохимическое исследование указывает на В-линейное происхождение лимфомы мелкоклеточного строения, то круг дифференциальной диагностики ограничивается лимфоцитарной лимфомой, лимфомой маргинальной зоны, лимфомой из клеток зоны мантии, лимфоплазмоцитарной лимфомой и фолликулярной лимфомой 1 степени с диффузным характером роста.

Обнаружение пролиферативных центров («псевдофолликулов»), которые отличаются более светлой окраской из-за преобладания в этих участках менее «зрелых» клеток с меньшим содержанием гетерохроматина в ядрах — пролимфоцитов

и параиммунобластов, позволяет довольно уверенно диагностировать лимфоцитарную лимфому. Опухолевые клетки экспрессируют CD5, отсутствие ядерной экспрессии циклина D1 позволяет отличить лимфоцитарную лимфому от другой В-клеточной опухоли, экспрессирующей CD5 — лимфомы из клеток зоны мантии, для которой нехарактерно появление пролиферативных центров.

При наличии резидуальных лимфоидных фолликулов, окруженных кольцевидными широкими слоями клеток с угловатыми ядрами и объемной бледной цитоплазмой, которые могут заполнять все межфолликулярное пространство, необходимо в первую очередь исключить В-клеточную лимфому маргинальной зоны. При экстранодальной локализации опухоли такого строения для диагноза MALT-лимфомы необходимо наличие *всех* гистологических признаков, характерных для нее, — В-клеток маргинальной зоны/моноцитоподобных В-клеток, реактивных лимфоидных фолликулов, лимфоэпителиальных повреждений, малых лимфоцитов с возможной примесью плазматических клеток, активированных лимфоидных клеток. Отсутствие среди гистологических признаков опухоли лимфоэпителиальных повреждений и реактивных лимфоидных фолликулов не противоречит диагнозу MALT-лимфомы, который должен быть подтвержден отсутствием экспрессии CD5 и циклина D1.

Фолликулярные лимфомы с диффузным характером роста встречаются редко. В эту категорию чаще попадают случаи фолликулярных лимфом с преимущественно диффузным характером роста (зоны с фолликулярным характером роста есть, но занимают менее 25%), которые из-за недостаточного объема биопсированной ткани (инцизионная или пункционная биопсия) не содержат зон фолликулярного роста. Диффузные зоны роста фолликулярной лимфомы 1 степени могут быть весьма похожи на лимфоцитарную лимфому, лимфому из клеток зоны мантии и В-клеточные лимфомы маргинальной зоны. Специфических гистологических признаков для дифференциальной диагностики фолликулярных лимфом 1 степени с диффузным характером роста нет, иммуногистохимическое исследование позволяет выявить экспрессию CD10 (нехарактерную для В-клеточных лимфом маргинальной зоны), отсутствие экспрессии CD5 и циклина D1 (дифференциальная диагностика с лимфоцитарной лим-

фомой и лимфомой из клеток зоны мантии). Экспрессия bcl-6 протеина в ядрах клеток фолликулярных лимфом может быть полезным признаком, но следует помнить о возможности экспрессии этого белка в некоторых случаях В-клеточных лимфом маргинальной зоны.

Плазмоцитарная дифференцировка опухолевых клеток не является уникальным свойством лимфоплазмоцитарной лимфомы и встречается при лимфоцитарных лимфомах, фолликулярных лимфомах и В-клеточных лимфомах маргинальной зоны. Диагноз лимфоплазмоцитарной лимфомы может быть установлен методом исключения в тех случаях, когда характерные гистологические признаки других лимфом отсутствуют. К этим признакам относят псевдофолликулы, фолликулярный рост опухоли, наличие клеток маргинальной зоны или моноцитонных В-клеток.

Фолликулярный рост лимфоидной ткани означает В-клеточную природу опухолевого или гиперпластического процесса, поэтому для установления диагноза нет абсолютной необходимости в иммуногистохимическом исследовании с антителами к В-линейным антигенам.

Опухолевые фолликулы при фолликулярных лимфомах обнаруживаются во всех анатомических зонах лимфатического узла, чаще имеют однообразную форму и примерно одинаковые размеры, чем отличаются от реактивных фолликулов при гиперпластических процессах в лимфатических узлах. Опухолевые фолликулы могут располагаться так тесно, что деформируют друг друга и приобретают отчасти полигональную форму. Тем не менее, между фолликулами в фолликулярной лимфоме практически всегда удается различить более или менее выраженную Т-зону, которая содержит малые лимфоциты, посткапиллярные венулы.

Тщательное исследование под большим увеличением межфолликулярных пространств в фолликулярных лимфомах позволяет всегда обнаружить там центроциты — мелкие угловатые клетки, которые в норме не обнаруживаются вне лимфоидных фолликулов, и крупные лимфоидные клетки с признаками атипичности в виде ядер с глубокими вдавлениями и неправильными контурами ядра. Опухолевые фолликулы не окружает слой малых лимфоцитов, называемый зоной мантии. Четкие концентрические

слои малых лимфоидных клеток — признак, характерный для гиперпластического процесса.

Центроциты и центробласты образуют довольно однородную смесь, и для опухолевых фолликулов поляризация строения нехарактерна. Феномен поляризации связан с расположением более темных центробластов в одной части фолликула, а более мелких и менее плотно расположенных центроцитов — в противоположной, его можно обнаружить в реактивных фолликулах при гиперплазии лимфоидной ткани.

Митотическая и пролиферативная (Ki-67) активность клеток фолликулярной лимфомы обычно невелика, почти всегда она меньше, чем в реактивных фолликулах. Макрофаги в ткани фолликулярной лимфомы почти не фагоцитируют, тогда как в реактивных светлых центрах размножения фолликулов легко обнаружить фагоцитоз обломков ядерного вещества. Внеклеточные белковые эозинофильные депозиты тоже редко обнаруживаются в опухолевых фолликулах, что отличает лимфому от реактивных изменений.

Если при иммуногистохимическом исследовании с помощью антител к легким цепям иммуноглобулинов удастся обнаружить экспрессию клетками фолликулярных центров только одного какого-либо типа цепей (только капша- или только лямбда-цепей), то процесс считают моноклональным и почти наверняка опухолевым. Применение этого метода сильно ограничивает выраженное фоновое окрашивание, обусловленное иммуноглобулинами тканевой жидкости.

В большинстве случаев фолликулярных лимфом выявляется гиперэкспрессия протеина BCL-2 в опухолевых клетках. Частота обнаружения экспрессии BCL-2 протеина в фолликулярных лимфомах из крупных клеток (3 степень) приближается к 76%, в лимфомах из мелких и крупных клеток (2 степень) — к 86% и в лимфомах из мелких клеток (1 степень) — к 100%. В нормальных В-клетках зародышевых центров отсутствует экспрессия протеина bcl-2. Необходимо указать, что bcl-2 протеин выявляется в Т-лимфоцитах, примесь которых в светлых центрах размножения реактивных фолликулов может быть весьма значительной. Поэтому при оценке экспрессии bcl-2 протеина необходимо сравнение одних и тех же участков в препаратах, окрашенных с использованием антител к bcl-2 протеину и к CD3, с мысленным

«вычитанием» Т-лимфоцитов из общего количества BCL-2-позитивных клеток.

В некоторых случаях лимфом из клеток зоны мантии обнаруживается выраженная нодулярность роста. Такие случаи при исследовании гистологических препаратов могут быть ошибочно приняты за фолликулярную лимфому. Проблема легко решается с помощью иммуногистохимического исследования с антителами к CD5 и циклину D1.

Нодулярный (узловатый) тип роста опухолевой ткани создают в лимфоме относительно однообразные сферические или, точнее, шарообразные структуры. Пространственная организация узлов может быть подчеркнута путем окрашивания ретикулинового каркаса (импрегнация солями серебра) либо иммуногистохимического выявления сети из фолликулярных дендритических клеток (экспрессия CD21, CD23).

Нодулярные структуры могут обнаруживаться в лимфоме из клеток зоны мантии, в В-клеточных лимфомах маргинальной зоны, в лимфоцитарной лимфоме и, по определению, в лимфоме Ходжкина с нодулярным типом лимфоидного преобладания. Принципиальным отличием лимфомы Ходжкина с нодулярным типом лимфоидного преобладания от всех других лимфом с нодулярным характером роста является клеточный состав лимфоидной ткани в узлах. В В-клеточных лимфомах — лимфоме из клеток зоны мантии, маргинальной зоны и лимфоцитарной лимфоме — это опухолевые В-клетки и незначительное количество клеток реактивного компонента, в лимфоме Ходжкина — это массив неопухолевых лимфоидных клеток, гистиоцитов и малочисленные, разрозненные, крупные опухолевые клетки. Такое различие позволяет определить две ветви дифференциальной диагностики. Одно направление будет соответствовать анализу опухолевой ткани в соответствии с цитологическим составом и иммунофенотипом В-клеточных лимфом из мелких лимфоидных клеток, а другое направление будет нацелено в первую очередь на изучение структуры и фенотипа крупных опухолевых клеток (L&H варианта клеток Березовского–Штернберга–Рид) и во вторую — их микроокружения.

Для решения о направлении дифференциальной диагностики целесообразно иммуногистохимическое исследование разбить

на два этапа. На первом этапе следует применить антитела к пан-Т- и пан-В-клеточным антигенам (CD3 и CD20). Если в результате будут обнаружены крупные клетки с атипичными ядрами многодольчатого строения и экспрессией на клеточной мембране CD20, часто окруженные кольцом малых Т-лимфоцитов, то дальнейшее исследование должно быть направлено на подтверждение диагноза лимфомы Ходжкина с нодулярным типом лимфоидного преобладания и исключение классических форм лимфомы Ходжкина (CD30, EMA, CD57).

Альтернативное направление дифференциальной диагностики выбирают, если обнаруживаются опухолевые узловатые структуры из мелких В-клеток (CD5, CD10, CD23, CyD1).

Большие трудности могут возникнуть при разграничении лимфомы Ходжкина с нодулярным типом лимфоидного преобладания и диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы с большим количеством Т-лимфоцитов/гистиоцитов. Одна и другая опухоли образованы крупными одиночными атипичными клетками, которые располагаются изолированно среди клеток массивного реактивного фона. Опухолевые клетки сходны по своим цитологическим характеристикам и практически неразличимы иммунофенотипически. В обоих случаях характерна экспрессия общелейкоцитарного антигена, В-клеточных маркеров CD20, в части случаев экспрессируются активационные маркеры CD30 и EMA. Некоторые различия отмечаются при исследовании экспрессии CD79а и BCL-2-протеина, которые чаще обнаруживаются в диффузных В-клеточных крупноклеточных лимфомах с большим количеством Т-клеток/гистиоцитов.

Существенными в этих лимфомах оказываются различия в устройстве реактивного неопухолевого фона. Лимфома Ходжкина с нодулярным типом лимфоидного преобладания образована шаровидной сетью фолликулярных дендритических клеток, заполненной мелкими В-лимфоцитами. В этих В-клеточных нодулярных скоплениях обнаруживаются ячейки, заполненные Т-клетками (CD4+CD57+). В каждом таком скоплении в окружении Т-клеток располагается очень крупная опухолевая В-клетка (L&H). В-клеточная лимфома с большим количеством Т-клеток/гистиоцитов состоит из опухолевых крупных В-клеток среди сплошного диффузного массива Т-лимфоцитов (главным образом CD8+) с примесью гистиоцитов, в ней нет заметного количе-

ства мелких В-лимфоцитов и вообще нет фолликулярных дендритических клеток. В соответствии с существующими критериями обнаружение в опухоли с диффузным ростом хотя бы одного узла, имеющего строение, типичное для лимфомы Ходжкина с нодулярным типом лимфоидного преобладания, исключает диагноз диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы с большим количеством Т-клеток/гистиоцитов.

Диффузная полиморфно-клеточная опухолевая лимфоидная пролиферация при первичной локализации в лимфатических узлах в большинстве случаев связана с ангиоиммунобластной Т-клеточной лимфомой или лимфомой из клеток с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов. Экстранодальная первичная локализация лимфомы полиморфно-клеточного строения характерна для экстранодальной НК/Т-клеточной лимфомы назального типа, подкожной панникулитоподобной Т-клеточной лимфомы и Т-клеточной лимфомы типа энтеропатии.

С целью обнаружения гистологических особенностей, связанных с иммунологическими различиями лимфом, в период внедрения иммуногистохимии в повседневную диагностическую практику проводились исследования «от обратного», в которых анализу подвергались опухоли с установленной принадлежностью к В-, Т- или НК-клеточной линии. Сопоставление иммунофенотипа Т-клеточных лимфом с их гистологическим строением и клиническими особенностями обнаружило, что существуют признаки, которые позволяют с большой вероятностью предположить диагноз Т-клеточной лимфомы с иммунофенотипом периферических (посттимических) лимфоцитов.

Вполне чувствительными и специфичными для предварительного гистологического диагноза являются следующие морфологические признаки принадлежности неходжкинских лимфом полиморфно-клеточного строения к Т-клеточному типу: 1) диффузный характер роста опухоли в лимфатическом узле с поражением в начальных стадиях развития паракортикальной зоны; 2) сохранившиеся лимфоидные фолликулы мелкие, могут иметь вид «выгоревших»; 3) разрушение опухолевым инфильтратом резидуальных фолликулов; 4) большое количество посткапиллярных венул с высоким (набухшим) эндотелием; 4) гнездовый вид расположения (компартаментализация) опухолевых

клеток с образованием групп, разделенных тонкими пучками коллагеновых волокон; 5) широкие вариации размеров клеток опухоли, лимфома образована смесью клеток мелкого, среднего и крупного размера; 6) неправильная форма контура клеточных ядер; 7) отсутствие клеток с расщепленными ядрами; 8) клетки лимфомы имеют светлую или оптически пустую цитоплазму с четкой мембраной, иногда образуя рисунок «булыжной мостовой»; 9) наличие очень крупных полиморфных клеток, в том числе подобных клеткам Березовского–Штернберга–Рид; 10) реактивный компонент в ткани опухоли, состоящий из гистиоцитов, эпителиоидных клеток, эозинофильных лейкоцитов, плазматических клеток.

Строение ангиоиммунобластной Т-клеточной лимфомы отличается наличием резидуальных фолликулов в пораженном лимфатическом узле, довольно часто эти фолликулы имеют вид «выгоревших», т. е. таких, которые имеют малые размеры с малочисленными активированными клетками в своем составе на фоне фиброза и гиалиноза. Другой особенностью является очаговая пролиферация фолликулярных дендритических клеток, особенно интенсивно выраженная возле посткапиллярных венул с набухшим эндотелием. Т-клеточную природу опухоли подтверждает экспрессия Т-линейных антигенов лимфоидными клетками малого, среднего и крупного размера. Экспрессия опухолевыми лимфоцитами в ангиоиммунобластной лимфоме антигена CD10 обнаруживается систематически и может служить дифференциальным признаком. Нередко в опухолевой ткани встречаются крупные активированные В-клетки, относящиеся вместе с малыми В-лимфоцитами, плазматическими клетками, гистиоцитами и эозинофильными гранулоцитами к реактивному компоненту.

Лимфомы из клеток с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неуточненные, могут у разных больных существенно отличаться тканевой организацией и клеточным составом. Это позволяет выделить в опухоли с иммунофенотипом периферических Т-клеток гистологические (цитологические) варианты: плеоморфно-клеточные, лимфоэпителиоидно-клеточный, Т-зоны. Но дифференциальные признаки малоспецифичны и не имеют явной связи с клиническим течением опухоли, поэтому в практической работе выделение гистологических вариантов необязательно.

Гистологическое строение и цитологический состав экстранодальных Т- и НК-клеточных лимфом не обнаруживают сколько-нибудь существенных особенностей, которые могли бы иметь дифференциально-диагностическое значение. Для этой группы лимфом характерен диффузный инфильтрат из опухолевых лимфоидных клеток малого, среднего и крупного размера, реактивных лимфоидных и нелимфоидных клеток, которые образуют смесь в пропорциях, меняющихся от случая к случаю. В мазках-отпечатках в цитоплазме опухолевых лимфоидных клеток иногда удается обнаружить гранулы и заподозрить цитотоксический фенотип. Цитотоксические свойства опухолевых клеток становятся еще одной причиной некрозов в опухоли, а также программированной клеточной гибели клеток — апоптоза. Для экстранодальной НК/Т-клеточной лимфомы назального типа характерен ангиоцентрический и ангиодеструктивный рост опухоли, который становится причиной обширных циркуляторных некрозов. Важно подчеркнуть, что феномен ангиоцентричности лимфо-пролиферативного процесса неспецифичен для какого-то вида лимфомы и может обнаруживаться также в Т-клеточных опухолях (крупноклеточная анапластическая лимфома) и в В-клеточных лимфомах (лимфоматоидный гранулематоз в легких).

Иммуногистохимическое исследование ткани, фиксированной в формалине и залитой в парафин, может не разрешить вопрос о Т- или НК-линейной принадлежности лимфомы. Достоверно подтвердить происхождение опухоли из Т-клеток можно только методами молекулярной генетики. Поликлональные антитела к CD3, пригодные для работы с парафиновыми срезами, выявляют цитоплазматическую ϵ -цепь, присутствующую как в Т-лимфоцитах, так и в НК-клетках. Другие пан-Т-клеточные антитела (CD2, CD7, CD43, CD45RO) также могут экспрессироваться НК-клетками. НК-клетки обнаруживаются с помощью антител к CD16, CD56, CD57, эти же маркеры выявляются на цитотоксических Т-клетках. НК-подобными Т-клеточными лимфомами называют опухоли из цитотоксических Т-клеток, экспрессирующих антигены естественных киллеров.

Экстранодальные НК/Т-клеточные лимфомы в большинстве случаев экспрессируют CD8, редко — CD4, тогда как «периферические» Т-клеточные лимфомы с первичной локализацией в лимфатических узлах преимущественно CD4 позитивны, очень

редко — CD4+CD8+. Большинство истинных НК-клеточных опухолей — CD4-CD8- или CD4-CD8+. Цитотоксические протеины (ТIA-1, гранзим В, перфорин) обнаруживаются в большинстве экстранодальных НК/Т-клеточных лимфом и только в некоторых случаях нодальных «периферических» Т-клеточных лимфом, преимущественно полиморфно-клеточных из средних и крупных клеток.

В лимфомах полиморфно-клеточного строения могут встречаться крупные атипичные многоядерные клетки или клетки с ядрами многодольчатого строения. Наличие в таких ядрах больших ядрышек с ровными контурами и гомогенной стекловидной окраской требует проведения дифференциальной диагностики с классической лимфомой Ходжкина. Типичный иммунофенотип клеток Березовского–Штернберга–Рид предполагает наличие мембранной и очаговой (в зоне Гольджи) экспрессии антигена CD30. Похожее по виду окрашивание могут давать антитела к CD15, но нередко оно может быть очень слабым, в виде малочисленных гранул в цитоплазме, или вообще отсутствовать. Общелейкоцитарный антиген CD45RB обнаруживается на мембране клеток Березовского–Штернберга–Рид редко, выявление этого маркера не исключает диагноза классической лимфомы Ходжкина. В приблизительно 30% случаев клетки Березовского–Штернберга–Рид и клетки Ходжкина экспрессируют пан-В-клеточный антиген CD20, который, в отличие от неходжкинских В-клеточных лимфом, характеризуется слабой или умеренной интенсивностью и неодинаковой степенью окрашивания части опухолевых клеток в одном и том же срезе. Описаны немногочисленные наблюдения классической лимфомы Ходжкина с Т-клеточным фенотипом. Обнаружение интенсивной экспрессии в крупных атипичных клетках лимфомы полиморфно-клеточного строения латентного мембранного протеина LMP-1, кодируемого вирусом Эпштейна–Барр, — сильный аргумент в пользу классической лимфомы Ходжкина. Особенно часто такая ассоциация встречается у пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Диффузная пролиферация крупных лимфоидных клеток — один из наиболее часто встречающихся вариантов строения неходжкинских лимфом. Диффузный тип роста опухоли характеризуется однообразной, монотонной пролиферацией, без какого-либо

тканевого рисунка. Фолликулярные структуры опухолевой природы в лимфомах диффузного строения не встречаются. Определение «крупный» соответствует размерам клеток, которые превышают размеры ядра гистиоцита в 1,5–2 и более раз. Опухолевые клетки довольно однообразны, но могут обнаруживать выраженный полиморфизм. В некоторых случаях в составе опухолевого пролиферата могут обнаруживаться отдельные гигантские клетки, линейные размеры которых значительно превышают размеры ядра гистиоцита.

Гистологические срезы крупноклеточных лимфом диффузного строения под малым увеличением микроскопа выглядят гомогенными, «плоскими» и довольно светлыми. Бледная окраска срезов обусловлена тинкториальными свойствами ядер и цитоплазмы. Ядра крупных опухолевых лимфоидных клеток содержат небольшое количество довольно грубого мелкодисперсного или глыбчатого хроматина, хроматин после фиксации в формалине конденсируется возле ядерной мембраны, центральная зона или почти все ядро в результате оказывается «пустым» и светлоокрашенным. Такие ядра иногда называют пузырьковидными.

Цитоплазма клеток диффузных крупноклеточных лимфом в разных вариантах лимфом существенно отличается по объему. В некоторых из них она окружает ядро едва заметным ободком, в других — она объемная и хорошо развита. Чаще всего цитоплазма окрашивается основными красителями (гематоксилином или азуром) в оттенки синего с разной степенью интенсивности, которая обусловлена большим или меньшим количеством РНК в рибосомах шероховатого ретикулума.

Диффузная пролиферация крупных лимфоидных клеток указывает на наличие опухоли лимфоидной ткани высокой степени злокачественности, как правило, В-клеточного происхождения. Т-клеточные лимфомы характеризуются более полиморфным клеточным составом, и даже в случае преобладания крупных клеток в них всегда присутствуют атипичные лимфоидные клетки меньшего размера и неопухолевые клеточные элементы. Поэтому круг опухолей, внутри которого требуется проводить дифференциальный диагноз в случае выявления диффузной пролиферации крупных атипичных лимфоцитов, достаточно ограничен и включает диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому и лимфому Бёркитта. Для лимфомы Бёркитта типичного

строения более характерны ядра не крупного, а среднего размера. К лимфоидным клеткам среднего размера относят клетки, ядра которых равны ядрам гистиоцитов или незначительно больше их.

Мономорфный клеточный состав, ядра опухолевых клеток среднего размера (равные размерам ядер гистиоцитов, рассеянных в опухоли), четырехугольные и многоугольные контуры клеток и их ядер, мелкие щелевидные пространства вокруг клеток в зонах хорошей фиксации препарата, неоднородная, довольно плотная структура хроматина с наличием нескольких небольших ядрышек, базофильная цитоплазма составляют морфологические черты классической лимфомы Бёркитта. Для нее характерны высокая плотность расположения ядер опухолевых клеток (многогранность контуров ядер), позитивная экспрессия CD10 при отсутствии BCL-2, индекс метки Ki-67 около 100%. Для лимфомы Бёркитта атипичного строения характерны более крупные ядра и заметный полиморфизм опухолевых клеток. Если в опухоли, состоящей из клеток, ядра которых меньше, чем у центробласта, но больше, чем у гистиоцита, имеется картина «звездного неба», необходимо исключить атипичную лимфому Бёркитта.

Наличие в опухоли клеток с морфологией центробластов, иммунобластов и, особенно, клеток с многодольчатыми ядрами делает более вероятным диагноз диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы, что должно быть подтверждено экспрессией пан-В-клеточного антигена CD20 (с редкими исключениями, требующими использования CD79a) и негативной реакцией к CD3. Существенная доля опухолей BCL-2 позитивна, окрашивание с антителами к CD10 варьируемое. Маркер пролиферативной активности Ki-67, как правило, окрашивает менее 95% клеток и в большинстве диффузных В-клеточных крупноклеточных лимфом находится на уровне 30–70%.

В сомнительных случаях необходимо определить экспрессию продукта гена c-myc, но работа с этим маркером технологически трудна.

Между диффузной пролиферацией крупных опухолевых лимфоидных клеток в качестве гистологического признака и диффузными крупноклеточными В-клеточными лимфомами как нозологической формой нет взаимно однозначного соответствия: эта лимфома может иметь анапластическое, полиморфно-клеточное строение или встречаться в виде особенных, редких форм

(медиастинальная склерозирующая, внутрисосудистая, перстневидноклеточная).

Лимфомы анапластического строения характеризуются выраженным полиморфизмом всех клеточных компонентов атипичных клеток. Особенно демонстративны уродливые ядра опухолевых клеток, которые могут иметь неправильную, почкообразную, подковообразную, торообразную (кольцевидную) или эмбрионоподобную форму. Ядрышки часто очень крупные, округлые или неправильной формы, гомогенно-стекловидные или комковатые. Цитоплазма опухолевых клеток может быть также весьма разнообразной: узкой или неравномерно широкой, часто базофильной с эозинофильным перинуклеарным пятном в зоне Гольджи. К опухолям такого строения относятся Т-/0-клеточные крупноклеточные анапластические лимфомы, анапластический вариант диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы и вариант с истощением лимфоидной ткани классической лимфомы Ходжкина. В редких случаях необходимо исключить нелимфоидные опухоли анапластического строения (раки, саркомы, беспигментную меланому).

Проведение иммуногистохимического исследования позволяет однозначно дифференцировать неходжкинские лимфомы, характеризующиеся анапластическим строением, поскольку входящие в эту группу опухоли имеют непересекающиеся иммунофенотипические профили линейной принадлежности. Лимфомы анапластического строения с В-клеточным фенотипом относятся к категории диффузных крупноклеточных В-клеточных лимфом, а опухоли с не-В-клеточным фенотипом (Т- или 0-клеточные) — к анапластическим крупноклеточным лимфомам. Другим маркером с высокой специфичностью, указывающим на Т-/0-клеточные крупноклеточные анапластические лимфомы, который не встречается, за очень редким исключением, в других опухолях, является ALK-протеин. Классическая лимфома Ходжкина характеризуется экспрессией антигена CD30, который обнаруживается во всех случаях Т-/0-клеточных крупноклеточных анапластических лимфом и в части случаев диффузных В-клеточных крупноклеточных лимфом. Различия обнаруживаются в экспрессии общелейкоцитарного антигена, CD15, кластерина и антигена эпителиальных мембран.

* * *

Иммуногистохимический анализ — это метод морфологической дифференциальной диагностики, являющийся важной составной частью патологоанатомической практики. Принципиальным отличием иммуногистохимического анализа от других методов иммунологической диагностики, использующих реакцию антиген–антитело, является структурная специфичность исследования. Это означает, что в исследовании оцениваются не только наличие сигнала (есть окрашивание или нет) и его сила (интенсивность окрашивания), но и пространственное распределение продукта реакции (хромогена) в гистологических структурах (окрашивание мембран, цитоплазмы, ядра клеток или других структурных элементов).

Эффективность этого чувствительного и специфичного метода полностью зависит от качества исходного гистологического материала, что заставляет еще раз подчеркнуть важность адекватной фиксации и проводки тканей. Неоптимальная фиксация может привести к полному или частичному разрушению антигенов. Правильная организация иммуногистохимического анализа возможна только на основе тщательного морфологического изучения изменений в исследуемом органе и формирования оптимальной панели диагностических антител. Практика выполнения иммуногистохимических реакций и анализа результатов врачами других специальностей, например, иммунологами, не может считаться правильной, так как отрывает иммуногистохимические находки от гистологического контекста.

При оформлении результатов микроскопического исследования тканей с применением иммуногистохимических методов следует придерживаться некоторых правил. Микроскопическое исследование должно содержать три составных части: 1) описание гистологического строения исследованных тканей, 2) результаты иммуногистохимического исследования и 3) заключение (диагноз). Обязательно должны быть перечислены все использованные антитела с указанием клонов, описаны все реакции, включая негативные, указаны доля окрашенных опухолевых клеток, интенсивность окрашивания и локализация продукта иммуногистохимической реакции [125]. Необходимость точного указания использованного клона обусловлена разной чувствительностью

и специфичностью различных клонов антител, выявляющих один и тот же антиген. В описании для каждого антитела должны быть указаны детали, которые свидетельствуют о специфическом характере иммунного окрашивания опухолевых клеток. Например: «При иммуногистохимическом исследовании все атипичные лимфоидные клетки интенсивно экспрессируют на мембране CD20 (L26) и умеренно интенсивно — CD5 (4C7), в ядрах интенсивно — циклин D1 (SP4)» или «Антиген пролиферативной активности Ki-S5 экспрессирован в ядрах 70–80% атипичных клеток». Такой же подход используется при описании фонового (неопухолевого) компонента: «Обнаруживается дезорганизованная гиперплазированная сеть фолликулярных дендритических клеток, экспрессирующих CD23 (1B12)». Результаты неспецифического окрашивания, которое может быть вызвано неадекватной первичной гистологической обработкой тканей, или невозможность оценить результат реакции также отмечаются с соответствующими комментариями: «Результаты окрашивания с антителами к общелейкоцитарному антигену CD45RB (PD7/26) неинформативны из-за того, что все атипичные клетки окружены реактивными клетками с собственной интенсивной экспрессией этого антигена, что не позволяет увидеть мембрану атипичных клеток изолированно». Изложение результатов иммуногистохимического исследования в виде перечня антигенов со знаками «плюс» или «минус» рядом с ними диагностического смысла не имеет.

Итоговое заключение обобщает результаты гистологического и иммуногистохимического исследования и содержит диагностический вывод.

В качестве примеров можно предложить следующие протоколы исследований:

«Опухоль с нодулярным типом роста, образованная пролифератом из нескольких полиморфных атипичных лимфоидных клеток, замещает ткань лимфатического узла. Опухолевые клетки средних размеров, имеют ядра неправильной, угловатой формы. В некоторых ядрах видна зазубрина или глубокая борозда. Хроматин однородный, мелкодисперсный, четко различимы мелкие ядрышки. Фигуры митозов немногочисленны.

При иммуногистохимическом исследовании атипичные лимфоидные клетки интенсивно экспрессируют CD20 (L26) на мембране и слабо — CD5 (4C7). Циклин D1 (DCS-6) умеренно интенсивно экспрессирован в ядрах всех атипичных клеток. Не экспрессирова-

ны опухолевыми клетками CD3 (poly), CD10 CALLA (56C6), CD23 (1B12) и BCL-6-протеин (P1F6). Экспрессия CD23 (1B12) фолликулярными дендритическими клетками обнаруживает в нодулярных образованиях сеть этих клеток.

Гистологическое строение опухоли лимфатического узла и иммунофенотип опухолевых клеток соответствуют лимфоме из клеток зоны мантии (ICD-O код 9673/3)».

«В исследованных фрагментах лимфатического узла васкуляризированные широкие фиброзные дуги рассекают на узлы ткань, состоящую из крупных синцитиальных скоплений больших атипичных клеток, малых лимфоцитов, активированных лимфоидных клеток, гистиоцитов, нейтрофильных и эозинофильных гранулоцитов, плазматических клеток. Атипичные клетки имеют большое округлое ядро с одним гомогенным, интенсивно окрашенным, стекловидным ядрышком, встречаются многочисленные дву- и многоядерные уродливые клетки с ядрышком в каждом ядре. Цитоплазма атипичных клеток неоднородная, с явным эозинофильным перинуклеарным пятном.

При иммуногистохимическом исследовании опухолевые клетки обнаруживают сильную мембранную и очаговую (в зоне Гольджи) экспрессию CD30 (Ber-H2), сильно экспрессирован в цитоплазме атипичных клеток фацин (IM20). Не экспрессированы опухолевыми клетками общелейкоцитарный антиген CD45RB (PD7/26), CD3 (poly), CD20 (L26), CD15 (C3D-1), кластерин (7D1) и ALK-протеин (ALK-1).

Гистологическое строение опухоли лимфатического узла и иммунофенотип опухолевых клеток соответствуют классической лимфоме Ходжкина, нодулярный склероз, 2 ст.».

«В исследованном материале — фрагменты ткани опухоли дольчатого строения с массивными фиброзными септами и капсулой. Опухоль имеет очевидное двухкомпонентное строение. Преобладающий компонент образован мелкими лимфоидными клетками с темными округлыми ядрами и почти неразличимым ободком амффильной цитоплазмы. Второй компонент — рассеянные в ткани более крупные клетки с овальными ядрами, которые содержат небольшое количество мелкозернистого гетерохроматина и одно маленькое ядрышко, цитоплазма клеток различима плохо. Встречаются скопления этих клеток с тенденцией к ориентации ядер в одном направлении. Капсула новообразования в отдельных местах инфильтрирована лимфоидными клетками.

При иммуногистохимическом исследовании подавляющее большинство лимфоидных клеток экспрессирует в ядрах TdT (SEN28), в цитоплазме CD3e (poly), на мембране — CD10 CALLA (56C6), CD5 (4C7), CD4 (4B12), CD8 (1A5), что соответствует кортикально-клеточной дифференцировке. TdT-негативные лимфоидные клетки экспрессируют CD3 (poly) на мембране и образуют небольшие, четко отграниченные скопления — медуллярные тимоциты. Лимфоидные клетки не экспрессируют CD20 (L26) и циклин D1 (DCS-6). Более крупные клетки с овальными светлыми ядрами интенсивно экспрессируют цитокератины MNF116 и низкомолекулярные цитокератины (35bH11) в цитоплазме, отростки которой образуют плотную непрерывную сеть. Отростки эпителиальных клеток дают интенсивное окрашивание с антителами L26 (CD20), как это описано для некоторых тимом (Am. J. Surg. Path., 1992, 16: 988–997). Проллиферативная активность (Ki-67) лимфоидных клеток высокая, эпителиальных — низкая.

Гистологическое строение опухоли и результаты иммуногистохимического исследования соответствуют тимоме, преимущественно кортикальной, тип В1. Доступный операционный материал не позволяет оценить степень выраженности инвазивного роста, в объеме исследованного материала тип распространения опухоли — минимальная инвазия».

«В исследованном материале — лимфатические узлы размером от 3 × 5 мм до 6 × 5 мм (7 объектов). Иммуногистохимическое исследование проведено с 3 лимфатическими узлами.

Все лимфатические узлы имеют одинаково измененный рисунок за счет расширения паракортикальной зоны. Краевой и промежуточные синусы различимы. Лимфоидные фолликулы мелкие, располагаются под капсулой, не имеют светлых центров размножения. Строение фолликулов подчеркивает экспрессия В-клетками CD20 (L26) и фолликулярными дендритическими клетками CD23 (1B12). В паракортикальной зоне обнаруживаются Т-клетки малого и среднего размера. Крупные Т-клетки единичны. Т-клетки экспрессируют CD2(AB75), CD3 (poly), CD5 (4C7), CD7 (CD7-272). Субпопуляции CD4 (4B12) позитивных и CD8 (1A5) позитивных клеток по количеству примерно одинаковы. NK-клеток CD56 (1B6) мало. Небольшая часть клеток в паракортикальной зоне экспрессирует TIA-1, granzyme B (11F1), перфорин ((5B10). Не обнаружены атипичные CD30 (Ber-H2) позитивные клетки. В паракортикальной зоне встречаются малочисленные эозинофильные гранулоциты и тучные клетки, заметно гиперплазированы стромальные

нелимфоидные клеточные элементы (фибробласты, гистиоциты, дендритические клетки) и посткапиллярные венулы.

Гистологическое строение лимфатических узлов и результаты иммунофенотипического анализа соответствуют реактивной лимфаденопатии с гиперплазией паракортикальной зоны, что может быть проявлением иммунной реакции клеточного типа. Учитывая возможность развития опухолевого лимфопролиферативного заболевания на фоне гиперпластических процессов в лимфатических узлах, необходимо динамическое диспансерное наблюдение за пациентом у гематолога».

ИССЛЕДОВАНИЕ ТРЕПАНОБИОПСИЙ КОСТНОГО МОЗГА ПРИ ЛИМФОМАХ

I. ИССЛЕДОВАНИЕ ТРЕПАНОБИОПСИЙ КОСТНОГО МОЗГА У БОЛЬНЫХ НЕХОДЖКИНСКИМИ ЛИМФОМАМИ

Обследование системы кроветворения у больных лимфомами должно включать анализ периферической крови, цитологическое исследование пунктата костного мозга и гистологическое исследование трепанобиоптата губчатой кости. Сочетание этих методов повышает информативность обследования больных. Особое значение приобретает гистологическое исследование костного мозга в случаях, когда аспират не удается получить («сухой прокол») [186]. В некоторых случаях диагноз лимфомы устанавливается по трепанобиопсии костного мозга у больного, который обследуется по поводу «беспричинной» лихорадки, цитопении или при сложности оперативного доступа к опухолевой массе (средостение, брюшная полость, полость черепа). Изучение костного мозга больных лимфомами в ходе лечения и после его завершения позволяет оценить ответ на терапию, установить возможный рецидив и получить представление о степени гипоплазии миелоидной ткани.

Поскольку поражение костного мозга при лимфомах часто носит очаговый характер, то при первичном обследовании необходимо выполнять билатеральную трепанобиопсию подвздошных костей и стремиться получать биоптат большего размера [176, 247]. Если у пациента поражение костного мозга обнаружено не было, при выполнении рестадирирования в ходе лечения и для оценки результатов лечения выполняют трепанобиопсию с одной стороны. У больных с поражением костного мозга лимфомой все последующие после первичного обследования трепанобиопсии рекомендуются выполнять с двух сторон.

Длина пригодной для исследования части трепанобиоптата (не имеющей механических повреждений и массивных очагов кровоизлияния) должна быть не менее 2 см [46] (рис. 118). Если большую часть биоптата занимают надкостница, кортикальная пластинка губчатой кости и субкортикальные костно-мозговые ячейки, то трепанобиопсию необходимо повторить.

Выделяет 5 гистологических типов поражения костного мозга:

1. Очаговый/нодулярный — очаговые скопления (инфильтраты) различного размера, состоящие из опухолевых лимфоидных клеток, располагаются в ткани костного мозга; крупные узлы могут соприкасаться с костными трабекулами, этот тип роста нередко сочетается с интерстициальным типом (рис. 119). В первую очередь необходимо исключить реактивный характер изменений. Реактивные лимфоидные инфильтраты присутствуют в норме у 18—47% лиц пожилого возраста, чаще у женщин, а также на фоне заболеваний, сопровождающихся измененными иммунными реакциями. Основные гистологические признаки, используемые при дифференциальной диагностике неопластических, обычно В-клеточной природы, и реактивных лимфоидных инфильтратов в костном мозге, изложены в табл. 10 [143, 148].

Очаговый/нодулярный тип встречается при поражении костного мозга диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомой, лимфомой из клеток зоны мантии, лимфомой из клеток маргинальной зоны, в немногочисленных случаях В-клеточного хронического лимфолейкоза/лимфомы из малых лимфоцитов, многих периферических Т-клеточных лимфом. В очагах поражения ангиоиммунобластной лимфомой отмечаются повышенная васкуляризация и миелофиброз [19, 84, 95, 112, 152, 197].

2. Паратрабекулярный — скопления опухолевых лимфоидных клеток, как правило, на фоне очагового фиброза стромы костного мозга, образуют слои вдоль костных трабекул (рис. 120). Наиболее характерен для фолликулярной лимфомы, но также может встречаться при диффузных крупноклеточных В-клеточных лимфомах, лимфомах из клеток зоны мантии, ангиоиммунобластных лимфомах [48, 84, 232, 238, 249]. Если морфологическими и иммуногистохимическими методами не удастся провести дифференциальную диагностику фолликулярной лимфомы и фолликулярной гиперплазии по биопсии лимфатического узла, то

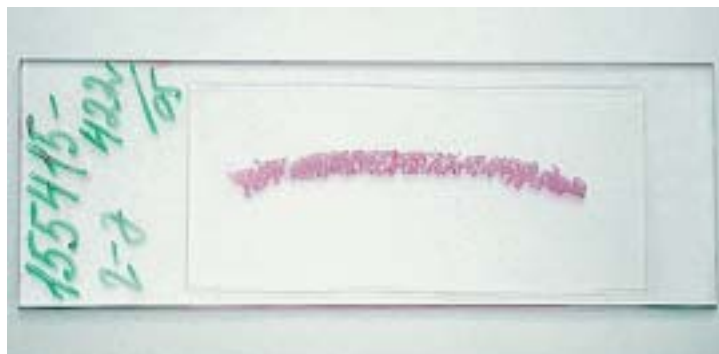


Рис. 118. Трепанобиопсия костного мозга: длина пригодной для исследования части трепанобиоптата должна быть не менее 2 см

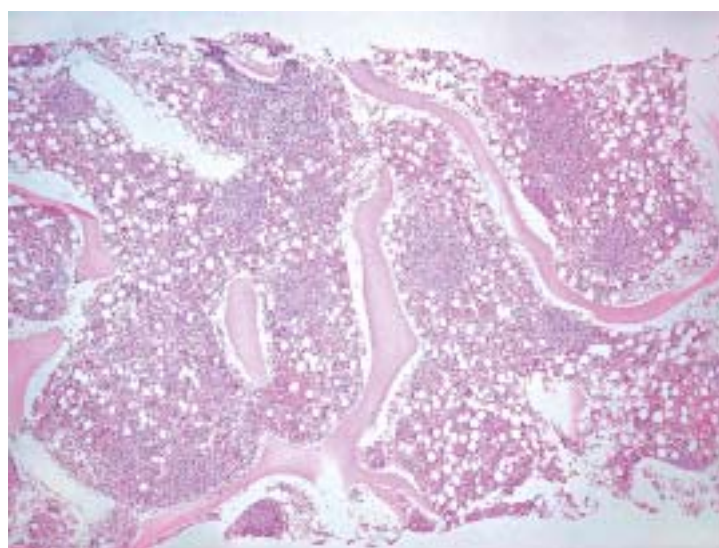


Рис. 119. Нодулярный тип поражения костного мозга

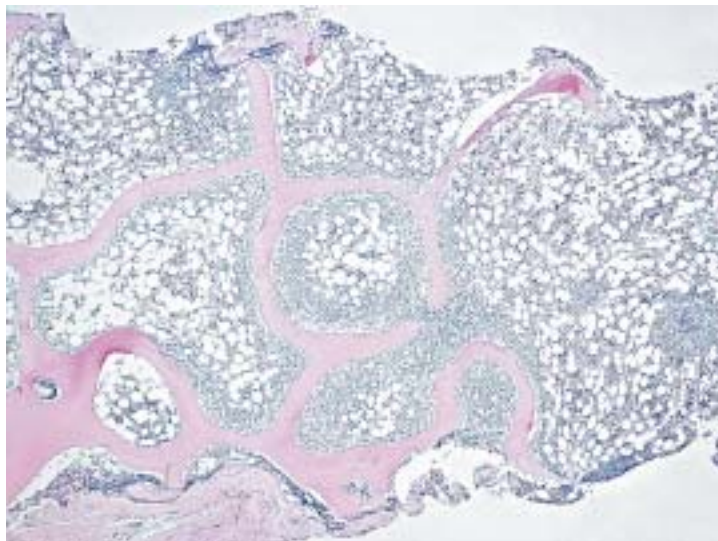


Рис. 120. Паратрабекулярный тип поражения костного мозга

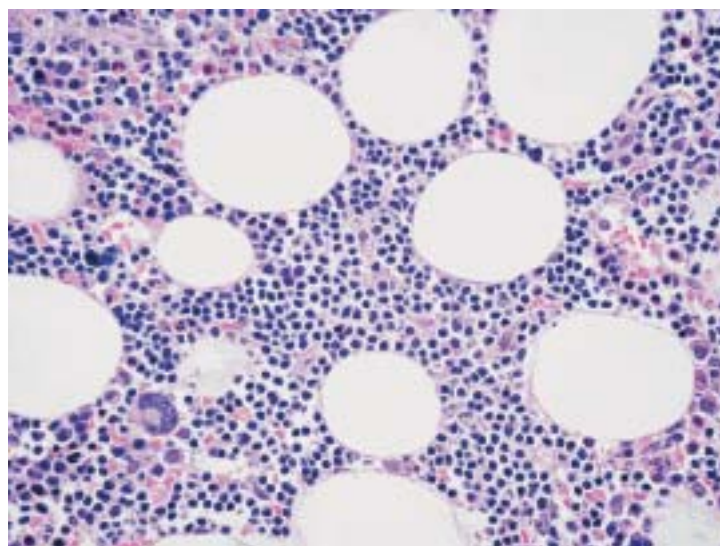


Рис. 121. Интерстициальный тип поражения костного мозга

Таблица 10

**Дифференциально-диагностические признаки
реактивных и опухолевых лимфоидных инфильтратов в костном мозге**

| Реактивная лимфоидная инфильтрация | Опухолевая лимфоидная инфильтрация |
|---|---|
| Случайный тип распределения в ткани, нередкая локализация вблизи сосудов и интертрабекулярно | Чаще паратрабекулярная локализация |
| Обычно имеет четкие границы | Границы нечеткие, за счет инфильтрации окружающей миелоидной ткани |
| Смешанно-клеточный состав (малые, активированные лимфоциты, иммунобласты, гистиоциты, гранулоциты, эндотелиальные клетки) | Обычно мономорфный инфильтрат, клетки с признаками атипии |
| Выраженная пролиферация мелких сосудов | Сосудистая пролиферация не выражена, за исключением отдельных подтипов лимфом |
| Могут быть светлые центры размножения фолликулов | Светлые центры размножения не характерны |
| Фиброз отсутствует | Фиброз характерен |
| Имунофенотипически смесь В- и Т-клеток | Моноклональная опухолевая пролиферация |
| Молекулярно-биологический анализ указывает на поликлональную популяцию | Моноклональная опухолевая пролиферация |

обнаружение опухолевой лимфоидной инфильтрации паратрабекулярного характера свидетельствует в пользу фолликулярной лимфомы.

3. Интерстициальный — опухолевые лимфоидные клетки располагаются между жировыми клетками, замещая миелоидную ткань и не вытесняя жировые клетки (рис. 121); может наблюдаться практически при всех типах лимфом, выраженность поражения варьирует от минимальной (начальные проявления болезни или резидуальное поражение) до значительной. Характерен для В-клеточного хронического лимфолейкоза/лимфомы из малых лимфоцитов, волосатоклеточного лейкоза, плазмноклеточной миеломы, лимфоплазмочитарной лимфомы, также встречается при анапластической крупноклеточной лимфоме и лимфоме

из клеток с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неутонченной [22, 24, 84, 197].

4. Диффузный — опухолевый лимфоидный инфильтрат полностью замещает миелоидную ткань и жировые клетки между соседними костными трабекулами (рис. 122); данный тип поражения описан при многих зрелоклеточных В-клеточных лимфомах, Т-пролимфоцитарном лейкозе, острых лимфобластных лейкозах/лимфобластных лимфомах (иногда в сочетании с некрозами) [22, 84, 147, 197].

5. Интраваскулярный — опухолевые лимфоидные клетки располагаются в просвете кровеносных сосудов костного мозга (рис. 123). Характерен для волосатоклеточного лейкоза, селезеночной лимфомы маргинальной зоны, внутрисосудистой крупноклеточной В-клеточной лимфомы, анапластической крупноклеточной лимфомы, гепатолиенальной лимфомы, Т-клеточного лейкоза из крупных гранулярных лимфоцитов [26, 70, 73, 84, 95, 198].

Поражение костного мозга при анапластической крупноклеточной лимфоме, лимфоплазмоцитарной лимфоме и волосатоклеточном лейкозе также может быть представлено одиночными рассеянными клетками (рис. 124) [24, 26].

При исследовании трепанобиоптатов костного мозга возможны следующие варианты гистологического заключения:

- 1) поражение костного мозга обнаружено;
- 2) поражение костного мозга в объеме исследованного материала не обнаружено;
- 3) трепанобиоптат неинформативен.

В заключении должен быть указан относительный объем опухолевой лимфоидной инфильтрации, полученный с помощью полуколичественной оценки (объем поражения менее 30%, объем поражения между 30 и 70%, объем поражения более 70%).

Необходимо также указывать выраженность фиброза костного мозга и относительный объем очагов некроза, если эти изменения обнаружены в биоптате.

Приблизительно у 40% больных встречается несоответствие гистологического и цитологического строения лимфомы в лимфатическом узле и костном мозге (дискордантные изменения). Чаще клеточный состав опухолевого инфильтрата в костном мозге морфологически характеризуется как более зрелый, чем в лимфатическом узле [69, 142, 219].

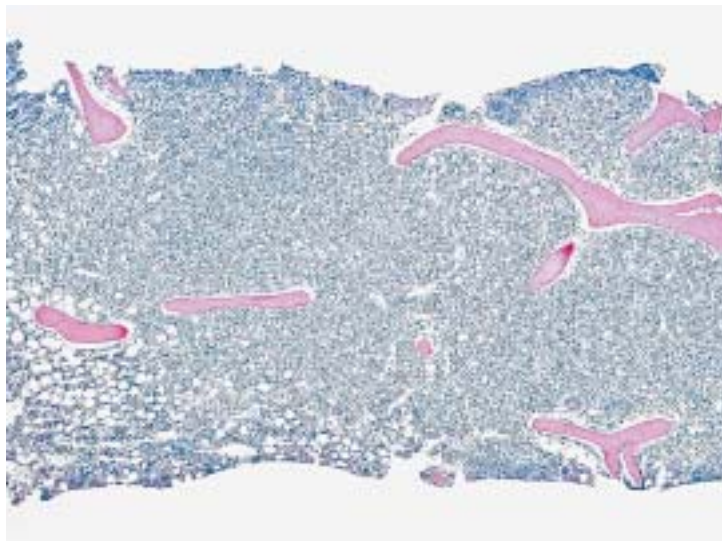


Рис. 122. Диффузная инфильтрация костного мозга

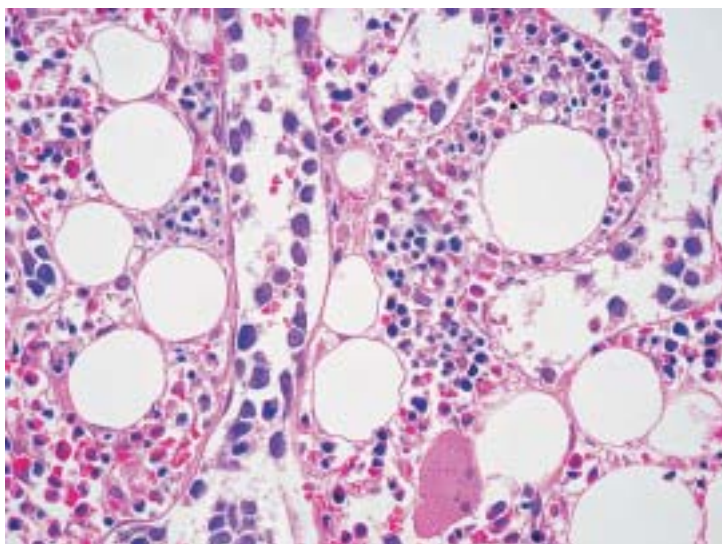


Рис. 123. Интраваскулярный тип поражения костного мозга

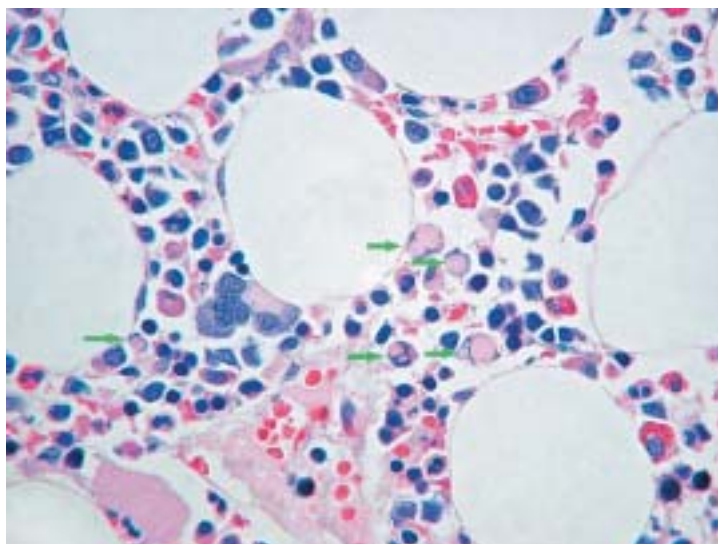


Рис. 124. Одиночное расположение опухолевых клеток при поражении костного мозга лимфоплазмоцитарной лимфомой (зеленая стрелка указывает на клетки с крупными внутриядерными включениями- тельцами Датчера)

II. ИССЛЕДОВАНИЕ ТРЕПАНОБИОПСИЙ КОСТНОГО МОЗГА У БОЛЬНЫХ ЛИМФОМОЙ ХОДЖКИНА

Поражение костного мозга наблюдается приблизительно у 5–15% больных лимфомой Ходжкина, как правило, имеющих продвинутую фазу опухолевого процесса. Вовлечение костного мозга чаще всего отмечается при смешанно-клеточном варианте и нодулярном склерозе. Не следует определять гистологический вариант лимфомы Ходжкина по изменениям в костном мозге, так как особенности микроокружения могут изменить морфологическую картину опухоли.

При первичном обследовании больного с установленным диагнозом лимфомы Ходжкина необходимо выполнять билатеральную трепанобиопсию подвздошных костей и стремиться получить биоптат большего размера [176, 247]. Если у пациента поражение костного мозга обнаружено не было, билатеральную трепанобиопсию выполняют при отсутствии эффекта от проводимой терапии или при прогрессировании заболевания на фоне лечения.

При наличии положительного эффекта лечения (полная ремиссия, недоказанная полная ремиссия, неполная ремиссия) пациентам, не имевшим поражения костного мозга, трепанобиопсию не делают. У больных с поражением костного мозга все последующие после первичного обследования трепанобиопсии выполняются с двух сторон.

При исследовании трепанобиоптатов костного мозга для выяснения степени распространенности лимфомы Ходжкина (стадирования) возможен один из четырех вариантов гистологических изменений [96, 140, 152, 160]:

1) обнаружены типичные клетки Березовского–Штернберга–Рид или клетки Ходжкина на характерном гистологическом фоне, соответствующем вариантам классической лимфомы Ходжкина (рис. 125);

2) на гистологическом фоне, соответствующем вариантам классической лимфомы Ходжкина, или на фоне очагового (диффузного) фиброза костного мозга обнаружены клетки с явной опухолевой морфологией (атипичные клетки), но не имеющие характерных признаков клеток Березовского–Штернберга–Рид и клеток Ходжкина (рис. 126);

3) зоны фиброза или некроза костного мозга (рис. 127);

4) гистологические признаки поражения костного мозга лимфомой Ходжкина не обнаружены, возможны реактивные изменения миелоидной ткани (рис. 128).

У пациентов с морфологически верифицированной по биопсии лимфатического узла лимфомой Ходжкина изменения первого и второго типов определяют как поражение костного мозга. При отсутствии морфологического диагноза лимфомы Ходжкина по биопсии лимфатического узла или другого органа атипичные клетки в очагах поражения костного мозга первого и второго типов должны быть верифицированы с помощью иммуногистохимического метода. Для дифференциального диагноза лимфомы Ходжкина минимальный состав панели должен включать антитела к CD3, CD15, CD20, CD30 (рис. 129), CD45RB, EMA.

У пациентов с морфологически верифицированной по биопсии лимфатического узла лимфомой Ходжкина и клинически установленной I, II или III стадией, при обнаружении изменений третьего типа, ткань трепанобиоптата, оставшаяся в парафиновом блоке, должна быть полностью исследована с помощью

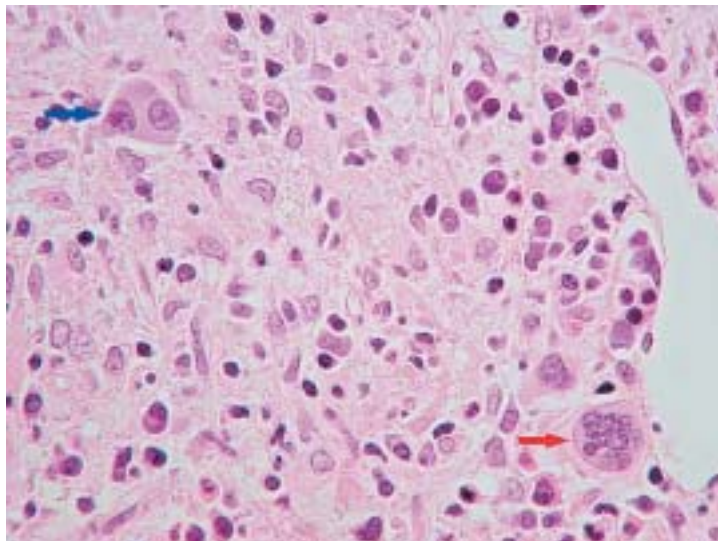


Рис. 125. Диагностическая двуядерная клетка Березовского–Штернберга–Рид в типичном клеточном микроокружении (синяя стрелка); в мегакариоцитах (красная стрелка) ядро многодольчатое, содержит многочисленные мелкие базофильные ядрышки

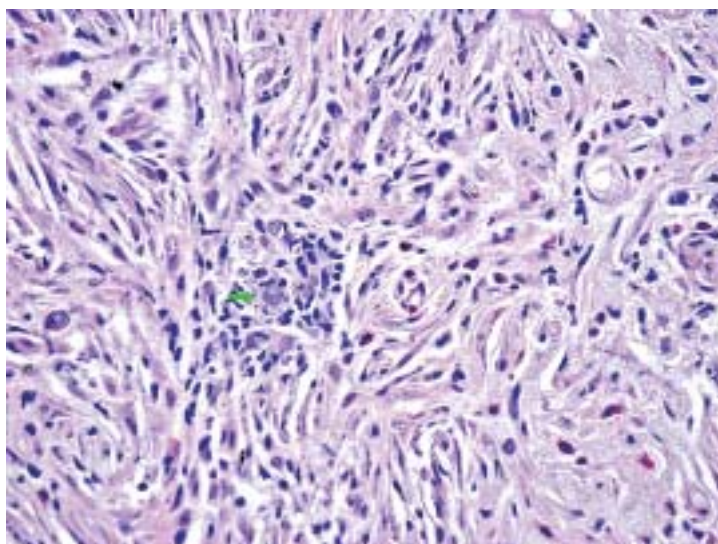


Рис. 126. Группа атипичных опухолевых клеток, окруженная лимфоцитами и эозинофильными гранулоцитами на фоне фиброза костного мозга

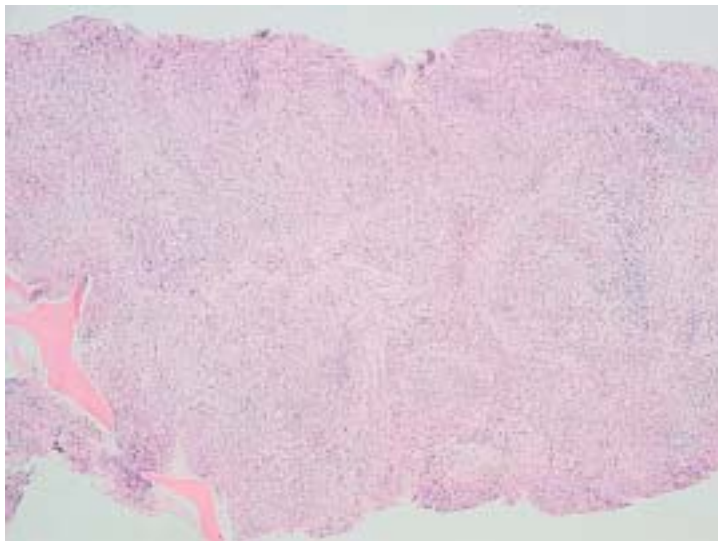


Рис.127. Диффузный фиброз костного мозга, фиброзные прослойки делят ткань на узлы с нечеткими границами

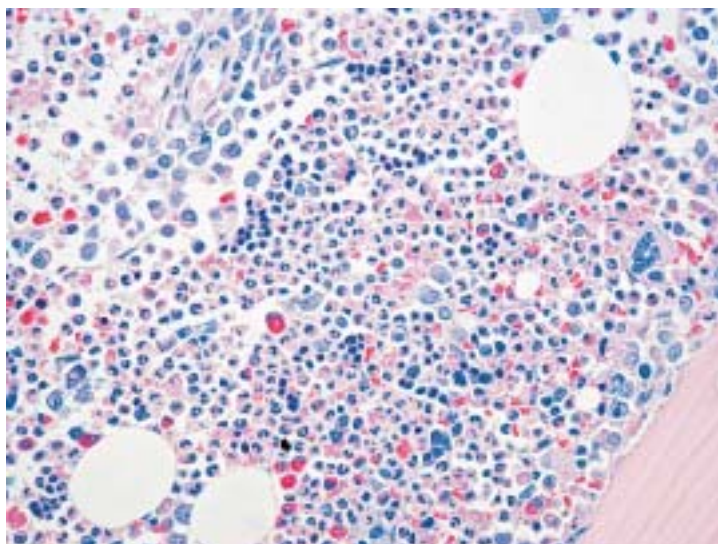


Рис.128. Реактивные изменения костного мозга при лимфоме Ходжкина: гиперплазия гранулоцитарного роста, эозинофилия, плазмоцитоз

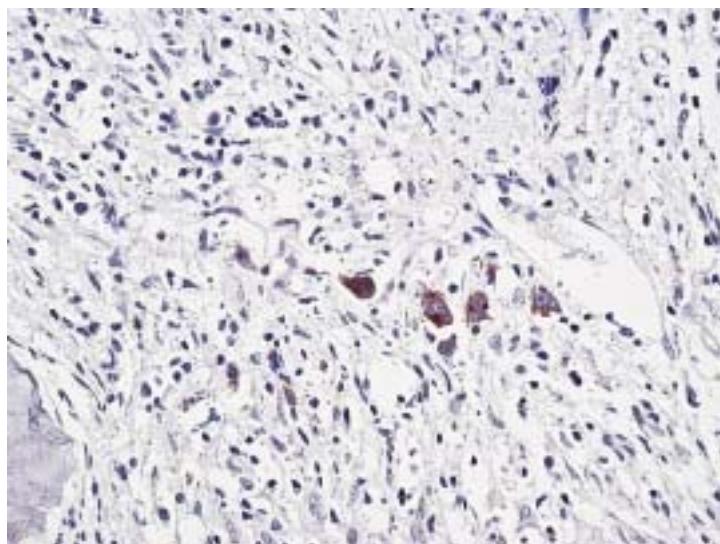


Рис.129. Мембранная экспрессия антигена CD30 в крупных атипичных клетках в очаге поражения костного мозга

серийных ступенчатых срезов. Если в серийных ступенчатых срезах клетки Березовского–Штернберга–Рид и клетки Ходжкина типичного строения обнаружены не будут (в том числе с применением иммуногистохимического исследования с антителами к CD30), билатеральную трепанобиопсию необходимо повторить. Если при повторной билатеральной трепанобиопсии изменения, соответствующие поражению костного мозга лимфомой Ходжкина, не будут обнаружены, необходимо применение лучевых методов оценки состояния костного мозга (МРТ, ПЭТ, сканирование с изотопом галлия).

У пациентов с несомненными проявлениями IV клинической стадии лимфомы Ходжкина изменения костного мозга третьего типа не являются показанием для повторного выполнения трепанобиопсии.

ПОСЛЕСЛОВИЕ

Устраняя ошибки и трудности «гематоксилиновой» онкоморфологии, иммуногистохимия создает собственные. Ключевыми являются вопросы, связанные с рациональным выбором панели антител, оценкой полученных результатов, с вероятностью ложноположительных и ложноотрицательных результатов, перекрестным реагированием антител, гетерогенностью экспрессии антигенов в опухолевой популяции. Поэтому не следует ожидать, что Иммуногистохимия станет сестрой Панацеи.

Патоморфолог, формулируя диагнозы, имеющие для пациента, без преувеличения, судьбоносное значение, должен располагать гистологическими препаратами безукоризненного качества и быть абсолютно уверенным в надежности результата каждой иммуногистохимической реакции. Как показывает личный опыт, возможности патоморфологической лаборатории зависят от профессионализма и ответственности сорудников лаборатории в значительно большей степени, чем от материально-технического обеспечения. Разумеется, без оборудования и реактивов приготовить препараты невозможно, но как часто приходится видеть абсолютно непригодные препараты из лабораторий, оборудованных и обеспеченных по последнему слову гистологической техники!

Тем более приятно высказать искреннюю благодарность сотрудникам отдела иммуногистохимических исследований Ленинградского областного патологоанатомического бюро: врачу-лаборанту А. Козловой, старшему лаборанту Т. Земляной, лаборантам-гистологам Н. Иванчук, О. Бурейко, А. Вишневой, которые, располагая довольно скромными техническими возможностями, сделали гистологические и иммуногистохимические препараты, иллюстрирующие настоящее издание.

И последнее. Авторы с благодарностью примут все критические замечания и отзывы читателей, если у кого-то возникнет желание нам написать: krivolapov@lokb.cor.neva.ru или elenaleenman@yandex.ru.

**Классификация лимфом кожи ВОЗ —
Европейской организации по изучению и лечению рака [253]
Кожные Т- и НК-клеточные лимфомы**

- Грибовидный микоз
- Варианты и подтипы грибовидного микоза
 - Фолликулотропный грибовидный микоз
 - Педжетоидный ретикулез
 - Синдром гранулематозной «вялой» кожи
- Синдром Сезари
- Т-клеточный лейкоз/лимфома взрослых
- Первичные кожные CD30- позитивные лимфопролиферативные заболевания
 - Первичная кожная крупноклеточная анапластическая лимфома
 - Лимфоматоидный папулез
- Панникулитоподобная Т-клеточная лимфома подкожной жировой клетчатки
- Экстранодальная Т/НК-клеточная лимфома, назальный тип
- Первичная кожная лимфома из клеток с иммунофенотипом периферических Т-лимфоцитов, неуточненная
 - Первичная кожная агрессивная эпидермотропная CD8-позитивная Т-клеточная лимфома (предлагаемая категория)
 - Кожная γ/δ Т-клеточная лимфома (предлагаемая категория)
 - Первичная кожная CD4-позитивная плеоморфно-клеточная Т-клеточная лимфома из клеток мелкого/среднего размера (предлагаемая категория)

Кожные В-клеточные лимфомы

- Первичная кожная В-клеточная лимфома из клеток маргинальной зоны
- Первичная кожная фолликулярная лимфома
- Первичная кожная В-клеточная диффузная крупноклеточная лимфома нижних конечностей
- Первичная кожная В-клеточная диффузная крупноклеточная лимфома, прочие типы
 - Внутрисосудистая крупноклеточная В-клеточная лимфома

Опухоли из клеток-предшественников

- CD4/CD56-позитивная гематодермальная опухоль (бластная НК-клеточная лимфома)

ЛИТЕРАТУРА

1. *Извозчиков И. С., Криволапов Ю. А.* и др. Способ подготовки биологического образца к гистологическому исследованию. Патент № 208971. — 1997. — 8 с.
2. *Криволапов Ю. А.* Результаты гистологического и иммуногистохимического исследования первичных биопсий у 400 больных неходжкинскими лимфомами в Северо-Западном регионе России (в соответствии с классификацией ВОЗ). Тер. Арх 2004; Т. 76; № 7: С. 64–70.
3. *Криволапов Ю. А., Иванюк А. В.* Внутрисосудистая крупноклеточная В-клеточная лимфома: описание случая. Вопр Онкол 2003; Т. 49: 743–747.
4. *Криволапов Ю. А., Салтыкова Л. Б., Козлова А. А.* Гистологическая и иммуногистохимическая характеристика диффузных крупноклеточных В-клеточных лимфом. Арх Патол 2000; Вып. 6: С. 19–24.
5. *Леенман Е. Е., Криволапов Ю. А.* Гистологическая и иммуногистохимическая характеристика бластной НК-клеточной лимфомы. Арх Патол. 2005; Вып. 5: С. 35–37.
6. *Леенман Е. Е., Криволапов Ю. А., Морозова Е. В.* Т-клеточная панникулитоподобная лимфома подкожной жировой клетчатки: клинико-морфологический и иммуногистохимический анализ. Арх Патол. 2005; Вып. 2: С. 43–46.
7. *Пробатова Н. А.* Морфологические особенности лимфом в классификации ВОЗ (В-клеточные опухоли). В: Петров С. В., Райхлин Н. Т. (ред). Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. 2 изд. Казань. — Титул 2004: С. 238–245.
8. *Пробатова Н. А., Тутицин Н. Н., Флейшман Е. В.* Основные принципы и диагностические критерии пересмотра Европейско-Американской классификации лимфоидных опухолей (Т-клеточные лимфомы, болезнь Ходжкина). Арх. Патол 1998; Т. 60: С. 61–71.
9. *Abruzzo L. V., Schmidt K., Weiss L. M. et al.* B-cell lymphoma after angioimmunoblastic lymphadenopathy: a case with oligoclonal gene rearrangements associated with Epstein-Barr virus. Blood- 1993; 82 (1): 241–246.
10. *Agnarsson B. A., Kadin M. E.* Ki-1 positive large cell lymphoma. A morphologic and immunologic study of 19 cases. Am J Surg Pathol 1988; 12 (4): 264–274.

11. *Al Saati T., Alibaud L., Lamant L. et al.* A new monoclonal anti-CD7 antibody reactive on paraffin sections. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2001; 9 (4): 289–296.
12. *Alizadeh A. A., Eisen M. B., Davis R. E. et al.* Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000; 403 (6769): 503–511.
13. *Almasri N. M., Iturraspe J. A., Braylan R. C.* CD10 expression in follicular lymphoma and large cell lymphoma is different from that of reactive lymph node follicles. *Arch Pathol Lab Med* 1998; 122 (6): 539–544.
14. *Anagnostopoulos I., Hansmann M. L., Franssila K. et al.* European Task Force on Lymphoma project on lymphocyte predominance Hodgkin disease: histologic and immunohistologic analysis of submitted cases reveals 2 types of Hodgkin disease with a nodular growth pattern and abundant lymphocytes. *Blood* 2000; 96 (5): 1889–1899.
15. *Anagnostou D., Parker J. W., Taylor C. R. et al.* Lacunar cells of nodular sclerosing Hodgkin's disease: an ultrastructural and immunohistologic study. *Cancer* 1977; 39 (3): 1032–1043.
16. *Arber D. A., Jenkins K. A.* Paraffin section immunophenotyping of acute leukemias in bone marrow specimens. *Am J Clin Pathol* 1996; 106 (4): 462–468.
17. *Ashton-Key M., Diss T. C., Isaacson P. G., Smith M. E.* A comparative study of the value of immunohistochemistry and the polymerase chain reaction in the diagnosis of follicular lymphoma. *Histopathology* 1995; 27 (6): 501–508.
18. *Attygalle A., Al-Jehani R., Diss T. C. et al.* Neoplastic T cells in angioimmunoblastic T-cell lymphoma express CD10. *Blood* 2002; 99 (2): 627–633.
19. *Audouin J., Le Tourneau A., Molina T. et al.* Patterns of bone marrow involvement in 58 patients presenting primary splenic marginal zone lymphoma with or without circulating villous lymphocytes. *Br J Haematol* 2003; 122 (3): 404–412.
20. *Bagdi E., Krenacs L., Krenacs T. et al.* Follicular dendritic cells in reactive and neoplastic lymphoid tissues: a reevaluation of staining patterns of CD21, CD23, and CD35 antibodies in paraffin sections after wet heat-induced epitope retrieval. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2001; 9 (2): 117–124.
21. *Bartl R., Frisch B.* Clinical significance of bone marrow biopsy and plasma cell morphology in MM and MGUS. *Pathol Biol (Paris)* 1999; 47 (2): 158–168.
22. *Bartl R., Frisch B., Burkhardt R. et al.* Lymphoproliferations in the bone marrow: identification and evolution, classification and staging. *J Clin Pathol* 1984; 37 (3): 233–254.
23. *Bartl R., Frisch B., Fateh-Moghadam A. et al.* Histologic classification and staging of multiple myeloma. A retrospective and prospective study of 674 cases. *Am J Clin Pathol* 1987; 87 (3): 342–355.

24. *Bartl R., Frisch B., Hill W. et al.* Bone marrow histology in hairy cell leukemia. Identification of subtypes and their prognostic significance. *Am J Clin Pathol* 1983; 79 (5): 531–545.
25. *Bavikatty N. R., Ross C. W., Finn W. G. et al.* Anti-CD10 immunoperoxidase staining of paraffin-embedded acute leukemias: comparison with flow cytometric immunophenotyping. *Hum Pathol* 2000; 31 (9): 1051–1054.
26. *Bayle C., Charpentier A., Duchayne E. et al.* Leukaemic presentation of small cell variant anaplastic large cell lymphoma: report of four cases. *Br J Haematol* 1999; 104 (4): 680–688.
27. *Bearman R. M., Pangalis G. A., Rappaport H.* Hodgkin's disease, lymphocyte depletion type: a clinicopathologic study of 39 patients. *Cancer* 1978; 41 (1): 293–302.
28. *Belaud-Rotureau M. A., Parrens M., Dubus P. et al.* A comparative analysis of FISH, RT-PCR, PCR, and immunohistochemistry for the diagnosis of mantle cell lymphomas. *Mod Pathol* 2002; 15 (5): 517–525.
29. *Bene M. C., Bernier M., Casasnovas R. O. et al.* The reliability and specificity of c-kit for the diagnosis of acute myeloid leukemias and undifferentiated leukemias. The European Group for the Immunological Classification of Leukemias (EGIL). *Blood* 1998; 92 (2): 596–599.
30. *Benharroch D., Meguerian-Bedoyan Z., Lamant L. et al.* ALK-positive lymphoma: a single disease with a broad spectrum of morphology. *Blood* 1998; 91 (6): 2076–2084.
31. *Bennett J. M., Catovsky D., Daniel M. T. et al.* Proposals for the classification of chronic (mature) B and T lymphoid leukaemias. French-American-British (FAB) Cooperative Group. *J Clin Pathol* 1989; 42 (6): 567–584.
32. *Bennett M. H., MacLennan K. A., Easterling M. J. et al.* The prognostic significance of cellular subtypes in nodular sclerosing Hodgkin's disease: an analysis of 271 non-laparotomised cases (BNLI report no. 22). *Clin Radiol* 1983; 34 (5): 497–501.
33. *Ben-Yehuda-Salz D., Ben-Yehuda A., Polliack A. et al.* Syncytial variant of nodular sclerosing Hodgkin's disease. A new clinicopathologic entity. *Cancer* 1990; 65 (5): 1167–1172.
34. *Berger T. G., Voll R. E., Simon M., Jr., Kiesewetter F.* Blastic CD56+ natural killer-cell lymphoma with primary cutaneous manifestation. *Acta Derm Venereol* 2004; 84 (1): 53–56.
35. *Blum K. A., Lozanski G., Byrd J. C.* Adult Burkitt leukemia and lymphoma. *Blood* 2004; 104 (10): 3009–3020.
36. *Bonato M., Pittaluga S., Tierens A. et al.* Lymph node histology in typical and atypical chronic lymphocytic leukemia. *Am J Surg Pathol* 1998; 22 (1): 49–56.
37. *Boulland M. L., Wechsler J., Bagot M. et al.* Primary CD30-positive cutaneous T-cell lymphomas and lymphomatoid papulosis frequently express cytotoxic proteins. *Histopathology* 2000; 36 (2): 136–144.
38. *Boxer L. M., Dang C. V.* Translocations involving c-myc and c-myc function. *Oncogene* 2001; 20 (40): 5595–5610.

39. *Braziel R. M., Arber D. A., Slovak M. L. et al.* The Burkitt-like lymphomas: a Southwest Oncology Group study delineating phenotypic, genotypic, and clinical features. *Blood* 2001; 97 (12): 3713–3720.
40. *Browne P., Petrosyan K., Hernandez A., Chan J. A.* The B-cell transcription factors BSAP, Oct-2, and BOB.1 and the pan-B-cell markers CD20, CD22, and CD79a are useful in the differential diagnosis of classic Hodgkin lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2003; 120 (5): 767–777.
41. *Burke J. S.* Surgical pathology of the spleen: an approach to the differential diagnosis of splenic lymphomas and leukemias. Part II. Diseases of the red pulp. *Am J Surg Pathol* 1981; 5 (7): 681–694.
42. *Burke J. S., Colby T. V.* Dermatopathic lymphadenopathy. Comparison of cases associated and unassociated with mycosis fungoides. *Am J Surg Pathol* 1981; 5 (4): 343–352.
43. *Burns B. F., Colby T. V., Dorfman R. F.* Differential diagnostic features of nodular L & H Hodgkin's disease, including progressive transformation of germinal centers. *Am J Surg Pathol* 1984; 8 (4): 253–261.
44. *Cabecadas J. M., Isaacson P. G.* Phenotyping of T-cell lymphomas in paraffin sections – which antibodies? *Histopathology* 1991; 19 (5): 419–424.
45. *Calaminici M., Piper K., Lee A. M., Norton A. J.* CD23 expression in mediastinal large B-cell lymphomas. *Histopathology* 2004; 45: 619–624.
46. *Campbell J. K., Matthews J. P., Seymour J. F. et al.* Optimum trephine length in the assessment of bone marrow involvement in patients with diffuse large cell lymphoma. *Ann Oncol* 2003; 14 (2): 273–276.
47. *Campo E., Miquel R., Krenacs L. et al.* Primary nodal marginal zone lymphomas of splenic and MALT type. *Am J Surg Pathol* 1999; 23 (1): 59–68.
48. *Canioni D., Brice P., Lepage E. et al.* Bone marrow histological patterns can predict survival of patients with grade 1 or 2 follicular lymphoma: a study from the Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires. *Br J Haematol* 2004; 126 (3): 364–371.
49. *Carbone A., Poletti A., Manconi R. et al.* Intermediate lymphocytic lymphoma encompassing diffuse and mantle zone pattern variants. A distinct entity among low-grade lymphomas? *Eur J Cancer Clin Oncol* 1989; 25 (1): 113–121.
50. *Cataldo K. A., Jalal S. M., Law M. E. et al.* Detection of t(2;5) in anaplastic large cell lymphoma: comparison of immunohistochemical studies, FISH, and RT-PCR in paraffin-embedded tissue. *Am J Surg Pathol* 1999; 23 (11): 1386–1392.
51. *Cavalli F., Isaacson P. G., Gascoyne R. D., Zucca E.* MALT Lymphomas. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2001: 241–258.
52. *Cazals-Hatem D., Lepage E., Brice P. et al.* Primary mediastinal large B-cell lymphoma. A clinicopathologic study of 141 cases compared with 916 nonmediastinal large B-cell lymphomas, a GELA («Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte») study. *Am J Surg Pathol* 1996; 20 (7): 877–888.

53. *Chan J. K.* Peripheral T-cell and NK-cell neoplasms: an integrated approach to diagnosis. *Mod Pathol* 1999; 12 (2): 177–199.
54. *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 (12): 4501–4513.
55. *Chan J. K., Tsang W. Y., Ng C. S.* Clarification of CD3 immunoreactivity in nasal T/natural killer cell lymphomas: the neoplastic cells are often CD3 epsilon+. *Blood* 1996; 87 (2): 839–841.
56. *Chaperot L., Bendriss N., Manches O.* et al. Identification of a leukemic counterpart of the plasmacytoid dendritic cells. *Blood* 2001; 97 (10): 3210–3217.
57. *Chen C. C., Raikow R. B., Sonmez-Alpan E., Swerdlow S. H.* Classification of small B-cell lymphoid neoplasms using a paraffin section immunohistochemical panel. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2000; 8 (1): 1–11.
58. *Chiang A. K., Chan A. C., Srivastava G., Ho F. C.* Nasal T/natural killer (NK)-cell lymphomas are derived from Epstein-Barr virus-infected cytotoxic lymphocytes of both NK- and T-cell lineage. *Int J Cancer* 1997; 73 (3): 332–338.
59. *Child F. J., Mitchell T. J., Whittaker S. J.* et al. Blastic natural killer cell and extranodal natural killer cell-like T-cell lymphoma presenting in the skin: report of six cases from the UK. *Br J Dermatol* 2003; 148 (3): 507–515.
60. *Chittal S. M., Caveriviere P., Schwarting R.* et al. Monoclonal antibodies in the diagnosis of Hodgkin's disease. The search for a rational panel. *Am J Surg Pathol* 1988; 12 (1): 9–21.
61. *Chittal S. M., Delsol G.* The interface of Hodgkin's disease and anaplastic large cell lymphoma. *Cancer Surv* 1997; 30: 87–105.
62. *Chott A., Augustin I., Wrba F.* et al. Peripheral T-cell lymphomas: a clinicopathologic study of 75 cases. *Hum Pathol* 1990; 21 (11): 1117–1125.
63. *Chott A., Dragosics B., Radaszkiewicz T.* Peripheral T-cell lymphomas of the intestine. *Am J Pathol* 1992; 141 (6): 1361–1371.
64. *Chott A., Haedicke W., Mosberger I.* et al. Most CD56+ intestinal lymphomas are CD8+CD5-T-cell lymphomas of monomorphic small to medium size histology. *Am J Pathol* 1998; 153 (5): 1483–1490.
65. *Chott A., Vesely M., Simonitsch I.* et al. Classification of intestinal T-cell neoplasms and their differential diagnosis. *Am J Clin Pathol* 1999; 111 (1 Suppl 1): S68–74.
66. *Chu P. G., Arber D. A.* CD79: a review. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2001; 9 (2): 97–106.
67. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Blood* 1997; 89 (11): 3909–3918.
68. *Colby T. V., Burke J. S., Hoppe R. T.* Lymph node biopsy in mycosis fungoides. *Cancer* 1981; 47 (2): 351–359.

69. *Conlan M. G., Bast M., Armitage J. O., Weisenburger D. D.* Bone marrow involvement by non-Hodgkin's lymphoma: the clinical significance of morphologic discordance between the lymph node and bone marrow. Nebraska Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol* 1990; 8 (7): 1163–1172.
70. *Cooke C. B., Krenacs L., Stetler-Stevenson M. et al.* Hepatosplenic T-cell lymphoma: a distinct clinicopathologic entity of cytotoxic gamma delta T-cell origin. *Blood* 1996; 88 (11): 4265–4274.
71. *Cooper K., Haffajee Z.* bcl-2 and p53 protein expression in follicular lymphoma. *J Pathol* 1997; 182 (3): 307–310.
72. *Cordone I., Matutes E., Catovsky D.* Monoclonal antibody Ki-67 identifies B and T cells in cycle in chronic lymphocytic leukemia: correlation with disease activity. *Leukemia* 1992; 6 (9): 902–906.
73. *Costes V., Duchayne E., Taib J. et al.* Intrasinusoidal bone marrow infiltration: a common growth pattern for different lymphoma subtypes. *Br J Haematol* 2002; 119 (4): 916–922.
74. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol* 2003; 121 (5): 749–757.
75. *Crocker J., Jones E. L., Curran R. C.* Study of nuclear sizes in the centres of malignant and benign lymphoid follicles. *J Clin Pathol* 1983; 36 (12): 1332–1334.
76. *Dabbs D. J.* Diagnostic immunohistochemistry. New York: Churchill Livingstone; 2002. 673 crp.
77. *de Leon E. D., Alkan S., Huang J. C., Hsi E. D.* Usefulness of an immunohistochemical panel in paraffin-embedded tissues for the differentiation of B-cell non-Hodgkin's lymphomas of small lymphocytes. *Mod Pathol* 1998; 11 (11): 1046–1051.
78. *Delsol G., Gatter K. C., Stein H. et al.* Human lymphoid cells express epithelial membrane antigen. Implications for diagnosis of human neoplasms. *Lancet* 1984; 2 (8412): 1124–1129.
79. *Delsol G., Lamant L., Mariame B. et al.* A new subtype of large B-cell lymphoma expressing the ALK kinase and lacking the 2; 5 translocation. *Blood* 1997; 89 (5): 1483–1490.
80. *DiGiuseppe J. A., Louie D. C., Williams J. E. et al.* Blastic natural killer cell leukemia/lymphoma: a clinicopathologic study. *Am J Surg Pathol* 1997; 21 (10): 1223–1230.
81. *Dogan A., Attygalle A. D., Kyriakou C.* Angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2003; 121 (5): 681–691.
82. *Dogan A., Bagdi E., Munson P., Isaacson P.* Cd10 and bcl-6 expression in paraffin sections of normal lymphoid tissue and B-cell lymphomas. *Am. J. Surg. Pathol.* 2000; 24: 846–852.
83. *Dogan A., Du M. Q., Aiello A. et al.* Follicular lymphomas contain a clonally linked but phenotypically distinct neoplastic B-cell population in the interfollicular zone. *Blood* 1998; 91 (12): 4708–4714.
84. *Dogan A., Morice W. G.* Bone marrow histopathology in peripheral T-cell lymphomas. *Br J Haematol* 2004; 127 (2): 140–154.

85. *Doggett R. S., Colby T. V., Dorfman R. F.* Interfollicular Hodgkin's disease. *Am J Surg Pathol* 1983; 7 (2): 145–149.
86. *Dorfman D. M., Pinkus G. S.* Distinction between small lymphocytic and mantle cell lymphoma by immunoreactivity for CD23. *Mod Pathol* 1994; 7 (3): 326–331.
87. *Dorfman D. M., Shahsafaei A.* Usefulness of a new CD5 antibody for the diagnosis of T-cell and B-cell lymphoproliferative disorders in paraffin sections. *Mod Pathol* 1997; 10 (9): 859–863.
88. *Dunphy C. H., Polski J. M., Lance Evans H., Gardner L. J.* Paraffin immunoreactivity of CD10, CDw75, and Bcl-6 in follicle center cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2001; 41 (5-6): 585–592.
89. *Falini B.* Anaplastic large cell lymphoma: pathological, molecular and clinical features. *Br J Haematol* 2001; 114 (4): 741–760.
90. *Falini B., Pileri S., Zinzani P. L. et al.* ALK+ lymphoma: clinico-pathological findings and outcome. *Blood* 1999; 93 (8): 2697–2706.
91. *Farcet J. P., Gaulard P., Marolleau J. P. et al.* Hepatosplenic T-cell lymphoma: sinusal/sinusoidal localization of malignant cells expressing the T-cell receptor gamma delta. *Blood* 1990; 75 (11): 2213–2219.
92. *Feller A. C., Diebold J.* Histopathology of nodal and extra-nodal non-Hodgkin's lymphomas. 3rd ed. Berlin: Springer-Verlag; 2004. 428.
93. *Feuillard J., Jacob M. C., Valensi F. et al.* Clinical and biologic features of CD4(+)CD56(+) malignancies. *Blood* 2002; 99 (5): 1556–1563.
94. *Foss H. D., Demel G., Anagnostopoulos I. et al.* Uniform expression of cytotoxic molecules in anaplastic large cell lymphoma of null/T cell phenotype and in cell lines derived from anaplastic large cell lymphoma. *Pathobiology* 1997; 65 (2): 83–90.
95. *Fraga M., Brousset P., Schlaifer D. et al.* Bone marrow involvement in anaplastic large cell lymphoma. Immunohistochemical detection of minimal disease and its prognostic significance. *Am J Clin Pathol* 1995; 103 (1): 82–89.
96. *Franco V., Tripodo C., Rizzo A. et al.* Bone marrow biopsy in Hodgkin's lymphoma. *Eur J Haematol* 2004; 73 (3): 149–155.
97. *Frizzera G., Kaneko Y., Sakurai M.* Angioimmunoblastic lymphadenopathy and related disorders: a retrospective look in search of definitions. *Leukemia* 1989; 3 (1): 1–5.
98. *Frost M., Newell J., Lones M. A. et al.* Comparative immunohistochemical analysis of pediatric Burkitt lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2004; 121 (3): 384–392.
99. *Gaal K., Sun N. C., Hernandez A. M., Arber D. A.* Sinonasal NK/T-cell lymphomas in the United States. *Am J Surg Pathol* 2000; 24 (11): 1511–1517.
100. *Gaidano G., Pastore C., Capello D. et al.* Molecular pathways in low grade B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 1997; 26 Suppl 1: 107–113.
101. *Gascoyne R. D.* Emerging prognostic factors in diffuse large B cell lymphoma. *Curr Opin Oncol* 2004; 16 (5): 436–441.

102. *Gaulard P., Belhadj K., Reyes F.* Gammadelta T-cell lymphomas. *Semin Hematol* 2003; 40 (3): 233–243.
103. *Go R. S., Wester S. M.* Immunophenotypic and molecular features, clinical outcomes, treatments, and prognostic factors associated with subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: a systematic analysis of 156 patients reported in the literature. *Cancer* 2004; 101 (6): 1404–1413.
104. *Gonzalez C. L., Medeiros L. J., Brazier R. M., Jaffe E. S.* T-cell lymphoma involving subcutaneous tissue. A clinicopathologic entity commonly associated with hemophagocytic syndrome. *Am J Surg Pathol* 1991; 15 (1): 17–27.
105. *Greer J. P., Kinney M. C., Loughran T. P., Jr.* T cell and NK cell lymphoproliferative disorders. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2001: 259–281.
106. *Gupta D., Lim M. S., Medeiros L. J., Elenitoba-Johnson K. S.* Small lymphocytic lymphoma with perifollicular, marginal zone, or interfollicular distribution. *Mod Pathol* 2000; 13 (11): 1161–1166.
107. *Hans C. P., Weisenburger D. D., Greiner T. C.* Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using tissue microarray. *Blood* 2004; 103: 275–282.
108. *Harada H., Kawano M. M., Huang N. et al.* Phenotypic difference of normal plasma cells from mature myeloma cells. *Blood* 1993; 81 (10): 2658–2663.
109. *Harris M., Eyden B., Read G.* Signet ring cell lymphoma: a rare variant of follicular lymphoma. *J Clin Pathol* 1981; 34 (8): 884–891.
110. *Harris N. L., Jaffe E. S., Stein H. et al.* A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994; 84 (5): 1361–1392.
111. *Hastrup N., Ralfkiaer E., Pallesen G.* Aberrant phenotypes in peripheral T cell lymphomas. *J Clin Pathol* 1989; 42 (4): 398–402.
112. *Henrique R., Achten R., Maes B. et al.* Guidelines for subtyping small B-cell lymphomas in bone marrow biopsies. *Virchows Arch* 1999; 435 (6): 549–558.
113. *Herbst H., Niedobitek G., Kneba M. et al.* High incidence of Epstein-Barr virus genomes in Hodgkin's disease. *Am J Pathol* 1990; 137 (1): 13–18.
114. *Hollema H., Poppema S.* T-lymphoblastic and peripheral T-cell lymphomas in the northern part of The Netherlands. An immunologic study of 29 cases. *Cancer* 1989; 64 (8): 1620–1628.
115. *Hoque S. R., Child F. J., Whittaker S. J. et al.* Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: a clinicopathological, immunophenotypic and molecular analysis of six patients. *Br J Dermatol* 2003; 148 (3): 516–525.
116. *Hui P. K., Feller A. C., Lennert K.* High-grade non-Hodgkin's lymphoma of B-cell type. I. Histopathology. *Histopathology* 1988; 12 (2): 127–143.

117. *Hutchison R. E., Banki K., Shuster J. J.* et al. Use of an anti-ALK antibody in the characterization of anaplastic large-cell lymphoma of childhood. *Ann Oncol* 1997; 8 Suppl 1: 37–42.
118. *Hutchison R. E., Finch C., Kepner J.* et al. Burkitt lymphoma is immunophenotypically different from Burkitt-like lymphoma in young persons. *Ann Oncol* 2000; 11 Suppl 1: 35–38.
119. *Ichimura K., Kagami Y., Suzuki R.* et al. Phenotypic analysis of peripheral T/NK cell lymphoma: Study of 408 Japanese cases with special reference to their anatomical sites. *Pathol Int* 2003; 53 (6): 333–344.
120. *Isaacson P. G., Matutes E., Burke M., Catovsky D.* The histopathology of splenic lymphoma with villous lymphocytes. *Blood* 1994; 84 (11): 3828–3834.
121. *Isaacson P. G., Wotherspoon A. C., Diss T., Pan L. X.* Follicular colonization in B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. *Am J Surg Pathol* 1991; 15 (9): 819–828.
122. *Ito M., Kim Y., Choi J. W.* et al. Prevalence of intravascular large B-cell lymphoma with bone marrow involvement at initial presentation. *Int J Hematol* 2003; 77 (2): 159–163.
123. *Izban K. F., Hsi E. D., Alkan S.* Immunohistochemical analysis of mycosis fungoides on paraffin-embedded tissue sections. *Mod Pathol* 1998; 11 (10): 978–982.
124. *Jaffe E. S.* Anaplastic large cell lymphoma: the shifting sands of diagnostic hematopathology. *Mod Pathol* 2001; 14 (3): 219–228.
125. *Jaffe E. S., Banks P. M., Nathwani B.* et al. Recommendations for the reporting of lymphoid neoplasms: A report from the Association of Directors of Anatomic and Surgical Pathology. *Mod Pathol* 2004; 17 (1): 131–135.
126. *Jaffe E. S., Bookman M. A., Longo D. L.* Lymphocytic lymphoma of intermediate differentiation—mantle zone lymphoma: a distinct subtype of B-cell lymphoma. *Hum Pathol* 1987; 18 (9): 877–880.
127. *Jaffe E. S., Chan J. K., Su I. J.* et al. Report of the Workshop on Nasal and Related Extranodal Angiocentric T/Natural Killer Cell Lymphomas. Definitions, differential diagnosis, and epidemiology. *Am J Surg Pathol* 1996; 20 (1): 103–111.
128. *Jaffe E. S., Harris N. L., Stein H., Vardiman J. W.*, eds. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press; 2001. p. 351.
129. *Jaffe E. S., Krenacs L., Raffeld M.* Classification of cytotoxic T-cell and natural killer cell lymphomas. *Semin Hematol* 2003; 40 (3): 175–184.
130. *Jaffe E. S., Longo D. L., Cossman J.* Diffuse B-cell lymphomas with T-cell predominance in patients with follicular lymphoma or «pseudo T-cell lymphoma». *Lab Invest* 1984; 50: 27A–28A.
131. *Kadin M. E.* Primary Ki-1-positive anaplastic large-cell lymphoma: a distinct clinicopathologic entity. *Ann Oncol* 1994; 5 Suppl 1: 25–30.
132. *Kadin M. E.* Anaplastic large cell lymphoma and its morphological variants. *Cancer Surv* 1997; 30: 77–86.

133. *Kadin M. E., Carpenter C.* Systemic and primary cutaneous anaplastic large cell lymphomas. *Semin Hematol* 2003; 40 (3): 244–256.
134. *Kadin M. E., Drews R., Samel A.* et al. Hodgkin's lymphoma of T-cell type: clonal association with a CD30+ cutaneous lymphoma. *Hum Pathol* 2001; 32 (11): 1269–1272.
135. *Kamel O. W., Gelb A. B., Shibuya R. B., Warnke R. A.* Leu 7 (CD57) reactivity distinguishes nodular lymphocyte predominance Hodgkin's disease from nodular sclerosing Hodgkin's disease, T-cell-rich B-cell lymphoma and follicular lymphoma. *Am J Pathol* 1993; 142 (2): 541–546.
136. *Kazakov D. V., Mentzel T., Burg G.* et al. Blastic natural killer-cell lymphoma of the skin associated with myelodysplastic syndrome or myelogenous leukaemia: a coincidence or more? *Br J Dermatol* 2003; 149 (4): 869–876.
137. *Kim Y., Kang M. S., Kim C. W.* et al. CD4+CD56+ lineage negative hematopoietic neoplasm: so called blastic NK cell lymphoma. *J Korean Med Sci* 2005; 20 (2): 319–324.
138. *Kingreen D., Siegert W.* Chronic lymphatic leukemias of T and NK cell type. *Leukemia* 1997; 11 Suppl 2: S46–49.
139. *Kinney M. C.* The role of morphologic features, phenotype, genotype, and anatomic site in defining extranodal T-cell or NK-cell neoplasms. *Am J Clin Pathol* 1999; 111 (1 Suppl 1): S104–118.
140. *Kinney M. C., Greer J. P., Stein R. S.* et al. Lymphocyte-depletion Hodgkin's disease. Histopathologic diagnosis of marrow involvement. *Am J Surg Pathol* 1986; 10 (3): 219–226.
141. *Kinney M. C., Kadin M. E.* The pathologic and clinical spectrum of anaplastic large cell lymphoma and correlation with ALK gene dysregulation. *Am J Clin Pathol* 1999; 111 (1 Suppl 1): S56–67.
142. *Kluin P. M., van Krieken J. H., Kleiverda K., Kluin-Nelemans H. C.* Discordant morphologic characteristics of B-cell lymphomas in bone marrow and lymph node biopsies. *Am J Clin Pathol* 1990; 94 (1): 59–66.
143. *Knowles D. M.* Neoplastic hematopathology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. 1957 p.
144. *Ko Y. H., Kim S. H., Ree H. J.* Blastic NK-cell lymphoma expressing terminal deoxynucleotidyl transferase with Homer-Wright type pseudorosettes formation. *Histopathology* 1998; 33 (6): 547–553.
145. *Kremer M., Ott G., Nathrath M.* et al. Primary extramedullary plasmacytoma and multiple myeloma: phenotypic differences revealed by immunohistochemical analysis. *J Pathol* 2005; 205 (1): 92–101.
146. *Krenacs L., Wellmann A., Sorbara L.* et al. Cytotoxic cell antigen expression in anaplastic large cell lymphomas of T- and null-cell type and Hodgkin's disease: evidence for distinct cellular origin. *Blood* 1997; 89 (3): 980–989.
147. *Krober S. M., Greschniok A., Kaiserling E., Horny H. P.* Acute lymphoblastic leukaemia: correlation between morphological/immunohistochemical and molecular biological findings in bone marrow biopsy specimens. *Mol Pathol* 2000; 53 (2): 83–87.

148. *Krober S. M., Horny H. P., Greschniok A., Kaiserling E.* Reactive and neoplastic lymphocytes in human bone marrow: morphological, immunohistological, and molecular biological investigations on biopsy specimens. *J Clin Pathol* 1999; 52 (7): 521–526.
149. *Kumar S., Green G. A., Teruya-Feldstein J.* et al. Use of CD23 (BU38) on paraffin sections in the diagnosis of small lymphocytic lymphoma and mantle cell lymphoma. *Mod Pathol* 1996; 9 (9): 925–929.
150. *Kumar S., Krenacs L., Medeiros J.* et al. Subcutaneous panniculitic T-cell lymphoma is a tumor of cytotoxic T lymphocytes. *Hum Pathol* 1998; 29 (4): 397–403.
151. *Lae M. E., Ahmed I., Macon W. R.* Clusterin is widely expressed in systemic anaplastic large cell lymphoma but fails to differentiate primary from secondary cutaneous anaplastic large cell lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2002; 118 (5): 773–779.
152. *Lambertenghi-Deliliers G., Annaloro C., Soligo D.* et al. Incidence and histological features of bone marrow involvement in malignant lymphomas. *Ann Hematol* 1992; 65 (2): 61–65.
153. *Lampert I., Catovsky D., Marsh G. W.* et al. The histopathology of prolymphocytic leukaemia with particular reference to the spleen: a comparison with chronic lymphocytic leukaemia. *Histopathology* 1980; 4 (1): 3–19.
154. *Lampert I. A., Wotherspoon A., Van Noorden S., Hasserjian R. P.* High expression of CD23 in the proliferation centers of chronic lymphocytic leukemia in lymph nodes and spleen. *Hum Pathol* 1999; 30 (6): 648–654.
155. *Lamy T., Loughran T. P., Jr.* Clinical features of large granular lymphocyte leukemia. *Semin Hematol* 2003; 40 (3): 185–195.
156. *Lennert K., Feller A. C.* Histopathology of non-Hodgkin's lymphoma (Based on the Updated Kiel Classification). 2 ed. New York: Springer-Verlag; 1992. 312.
157. *Lennert K., Stein H., Kaiserling E.* Cytological and functional criteria for the classification of malignant lymphomata. *Br J Cancer* 1975; 31 SUPPL 2: 29–43.
158. *Leung C. Y., Ho F. C., Srivastava G.* et al. Usefulness of follicular dendritic cell pattern in classification of peripheral T-cell lymphomas. *Histopathology* 1993; 23 (5): 433–437.
159. *Lin B. T., Weiss L. M.* Primary plasmacytoma of lymph nodes. *Hum Pathol* 1997; 28 (9): 1083–1090.
160. *Lukes R.J.* Criteria for involvement of lymph node, bone marrow, spleen, and liver in Hodgkin's disease. *Cancer Res* 1971; 31 (11): 1755–1767.
161. *Lukes R.J., Butler J.J.* The pathology and nomenclature of Hodgkin's disease. *Cancer Res* 1966; 26 (6): 1063–1083.
162. *Macon W. R., Levy N. B., Kurtin P.J.* et al. Hepatosplenic alphabeta T-cell lymphomas: a report of 14 cases and comparison with hepatosplenic gammadelta T-cell lymphomas. *Am J Surg Pathol* 2001; 25 (3): 285–296.

163. *Maitra A., McKenna R. W., Weinberg A. G. et al.* Precursor B-cell lymphoblastic lymphoma. A study of nine cases lacking blood and bone marrow involvement and review of the literature. *Am J Clin Pathol* 2001; 115 (6): 868–875.
164. *Mann R. B., Berard C. W.* Criteria for the cytologic subclassification of follicular lymphomas: a proposed alternative method. *Hematol Oncol* 1983; 1 (2): 187–192.
165. *Martin P., Santon A., Bellas C.* Neural cell adhesion molecule expression in plasma cells in bone marrow biopsies and aspirates allows discrimination between multiple myeloma, monoclonal gammopathy of uncertain significance and polyclonal plasmacytosis. *Histopathology* 2004; 44 (4): 375–380.
166. *Mason D. Y., Banks P. M., Chan J. et al.* Nodular lymphocyte predominance Hodgkin's disease. A distinct clinicopathological entity. *Am J Surg Pathol* 1994; 18 (5): 526–530.
167. *Massone C., Kodama K., Kerl H., Cerroni L.* Histopathologic features of early (patch) lesions of mycosis fungoides: a morphologic study on 745 biopsy specimens from 427 patients. *Am J Surg Pathol* 2005; 29 (4): 550–560.
168. *Matolcsy A., Chadburn A., Knowles D. M.* De novo CD5-positive and Richter's syndrome-associated diffuse large B cell lymphomas are genotypically distinct. *Am J Pathol* 1995; 147 (1): 207–216.
169. *Matutes E.* T-cell Prolymphocytic Leukemia. *Cancer Control* 1998; 5 (1): 19–24.
170. *Matutes E., Brito-Babapulle V., Swansbury J. et al.* Clinical and laboratory features of 78 cases of T-prolymphocytic leukemia. *Blood* 1991; 78 (12): 3269–3274.
171. *Matutes E., Brito-Babapulle V., Worner I. et al.* T-cell chronic lymphocytic leukaemia: the spectrum of mature T-cell disorders. *Nouv Rev Fr Hematol* 1988; 30 (5-6): 347–351.
172. *Matutes E., Morilla R., Owusu-Ankomah K. et al.* The immunophenotype of hairy cell leukemia (HCL). Proposal for a scoring system to distinguish HCL from B-cell disorders with hairy or villous lymphocytes. *Leuk Lymphoma* 1994; 14 Suppl 1: 57–61.
173. *Matutes E., Morilla R., Owusu-Ankomah K. et al.* The immunophenotype of splenic lymphoma with villous lymphocytes and its relevance to the differential diagnosis with other B-cell disorders. *Blood* 1994; 83 (6): 1558–1562.
174. *Matutes E., Polliack A.* Morphological and immunophenotypic features of chronic lymphocytic leukemia. *Rev Clin Exp Hematol* 2000; 4 (1): 22–47.
175. *Menke D. M., Horny H. P., Griesser H. et al.* Primary lymph node plasmacytomas (plasmacytic lymphomas). *Am J Clin Pathol* 2001; 115 (1): 119–126.
176. *Menon N. C., Buchanan J. G.* Bilateral trephine bone marrow biopsies in Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma. *Pathology* 1979; 11 (1): 53–57.

177. *Miranda R. N., Briggs R. C., Kinney M. C.* et al. Immunohistochemical detection of cyclin D1 using optimized conditions is highly specific for mantle cell lymphoma and hairy cell leukemia. *Mod Pathol* 2000; 13 (12): 1308–1314.
178. *Mollejo M., Menarguez J., Lloret E.* et al. Splenic marginal zone lymphoma: a distinctive type of low-grade B-cell lymphoma. A clinicopathological study of 13 cases. *Am J Surg Pathol* 1995; 19 (10): 1146–1157.
179. *Montillo M., Hamblin T., Hallek M.* et al. Chronic lymphocytic leukemia: novel prognostic factors and their relevance for risk-adapted therapeutic strategies. *Haematologica* 2005; 90 (3): 391–399.
180. *Nakamura N., Nakamine H., Tamaru J.* et al. The distinction between Burkitt lymphoma and diffuse large B-Cell lymphoma with c-myc rearrangement. *Mod Pathol* 2002; 15 (7): 771–776.
181. *Nakamura S., Suchi T., Koshikawa T.* et al. Clinicopathologic study of CD56 (NCAM)-positive angiocentric lymphoma occurring in sites other than the upper and lower respiratory tract. *Am J Surg Pathol* 1995; 19 (3): 284–296.
182. *Naraghi Z. S., Seirafi H., Valikhani M.* et al. Assessment of histologic criteria in the diagnosis of mycosis fungoides. *Int J Dermatol* 2003; 42 (1): 45–52.
183. *Nascimento A. F., Pinkus J. L., Pinkus G. S.* Clusterin, a marker for anaplastic large cell lymphoma immunohistochemical profile in hematopoietic and nonhematopoietic malignant neoplasms. *Am J Clin Pathol* 2004; 121 (5): 709–717.
184. *Nathwani B. N., Anderson J. R., Armitage J. O.* et al. Clinical significance of follicular lymphoma with monocytoid B cells. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Hum Pathol* 1999; 30 (3): 263–268.
185. *Nathwani B. N., Metter G. E., Miller T. P.* et al. What should be the morphologic criteria for the subdivision of follicular lymphomas? *Blood* 1986; 68 (4): 837–845.
186. *Navone R., Colombano M. T.* Histopathological trephine biopsy findings in cases of “dry tap” bone marrow aspirations. *Appl Pathol* 1984; 2 (5): 264–271.
187. *Neiman R. S., Rosen P. J., Lukes R. J.* Lymphocyte-depletion Hodgkin's disease. A clinicopathological entity. *N Engl J Med* 1973; 288 (15): 751–755.
188. *Nguyen P. L., Zukerberg L. R., Benedict W. F., Harris N. L.* Immunohistochemical detection of p53, bcl-2, and retinoblastoma proteins in follicular lymphoma. *Am J Clin Pathol* 1996; 105 (5): 538–543.
189. *Nickoloff B. J.* Light-microscopic assessment of 100 patients with patch/plaque-stage mycosis fungoides. *Am J Dermatopathol* 1988; 10 (6): 469–477.
190. *Noorduyn L. A., de Bruin P. C., van Heerde P.* et al. Relation of CD30 expression to survival and morphology in large cell B cell lymphomas. *J Clin Pathol* 1994; 47 (1): 33–37.
191. *Nuckols J. D., Shea C. R., Horenstein M. G.* et al. Quantitation of intraepidermal T-cell subsets in formalin-fixed, paraffin-embedded

- tissue helps in the diagnosis of mycosis fungoides. *J Cutan Pathol* 1999; 26 (4): 169–175.
192. *Orazi A., Cotton J., Cattoretti G.* et al. Terminal deoxynucleotidyl transferase staining in acute leukemia and normal bone marrow in routinely processed paraffin sections. *Am J Clin Pathol* 1994; 102 (5): 640–645.
 193. *Ott G., Bastian B. C., Katzenberger T.* et al. A lymphohistiocytic variant of anaplastic large cell lymphoma with demonstration of the t(2;5)(p23;q35) chromosome translocation. *Br J Haematol* 1998; 100 (1): 187–190.
 194. *Owens M. R., Strauchen J. A., Rowe J. M., Bennett J. M.* Prolymphocytic leukemia: histologic findings in atypical cases. *Hematol Oncol* 1984; 2 (3): 249–257.
 195. *Pangalis G. A., Kyrtsionis M. C., Kontopidou F. N.* et al. Differential diagnosis of Waldenstrom's macroglobulinemia from other low-grade B-cell lymphoproliferative disorders. *Semin Oncol* 2003; 30 (2): 201–205.
 196. *Pangalis G. A., Nathwani B. N., Rappaport H., Rosen R. B.* Acute lymphoblastic leukemia: the significance of nuclear convolutions. *Cancer* 1979; 43 (2): 551–557.
 197. *Pangalis G. A., Roussou P. A., Kittas C.* et al. Patterns of bone marrow involvement in chronic lymphocytic leukemia and small lymphocytic (well differentiated) non-Hodgkin's lymphoma. Its clinical significance in relation to their differential diagnosis and prognosis. *Cancer* 1984; 54 (4): 702–708.
 198. *Parrens M., Dubus P., Agape P.* et al. Intrasinusoidal bone marrow infiltration revealing intravascular lymphomatosis. *Leuk Lymphoma* 2000; 37 (1–2): 219–223.
 199. *Patsouris E., Noel H., Lennert K.* Angioimmunoblastic lymphadenopathy—type of T-cell lymphoma with a high content of epithelioid cells. Histopathology and comparison with lymphoepithelioid cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 1989; 13 (4): 262–275.
 200. *Paulli M., Strater J., Gianelli U.* et al. Mediastinal B-cell lymphoma: a study of its histomorphologic spectrum based on 109 cases. *Hum Pathol* 1999; 30 (2): 178–187.
 201. *Paulli M., Vallisa D., Viglio A.* et al. ALK positive lymphohistiocytic variant of anaplastic large cell lymphoma in an adult. *Haematologica* 2001; 86 (3): 260–265.
 202. *Paydas S., Sahin B., Gonlusen G.* et al. MUC1 expression in plasmacytoma. *Leuk Res* 2001; 25 (3): 221–225.
 203. *Petrella T., Bagot M., Willemze R.* et al. Blastic NK-cell lymphomas (agranular CD4+CD56+ hematodermic neoplasms): a review. *Am J Clin Pathol* 2005; 123 (5): 662–675.
 204. *Pileri S. A., Zinzani P. L., Gaidano G.* et al. Pathobiology of primary mediastinal B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2003; 44 Suppl 3: S21–26.
 205. *Pilozzi E., Pulford K., Jones M.* et al. Co-expression of CD79a (JCB117) and CD3 by lymphoblastic lymphoma. *J Pathol* 1998; 186 (2): 140–143.

206. *Pinkus G. S., O'Hara C. J., Said J. W.* Peripheral/post-thymic T-cell lymphomas: a spectrum of disease. Clinical, pathologic, and immunologic features of 78 cases. *Cancer* 1990; 65 (4): 971–998.
207. *Pinkus G. S., Pinkus J. L., Langhoff E.* et al. Fascin, a sensitive new marker for Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. Evidence for a dendritic or B cell derivation? *Am J Pathol* 1997; 150 (2): 543–562.
208. *Pinkus G. S., Said J. W.* Hodgkin's disease, lymphocyte predominance type, nodular—a distinct entity? Unique staining profile for L&H variants of Reed-Sternberg cells defined by monoclonal antibodies to leukocyte common antigen, granulocyte-specific antigen, and B-cell-specific antigen. *Am J Pathol* 1985; 118 (1): 1–6.
209. *Pinkus G. S., Said J. W.* Hodgkin's disease, lymphocyte predominance type, nodular—further evidence for a B cell derivation. L & H variants of Reed-Sternberg cells express L26, a pan B cell marker. *Am J Pathol* 1988; 133 (2): 211–217.
210. *Pinkus G. S., Thomas P., Said J. W.* Leu-M1—a marker for Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease. An immunoperoxidase study of paraffin-embedded tissues. *Am J Pathol* 1985; 119 (2): 244–252.
211. *Preesman A. H., Toonstra J., van der Putte S. C., van Vloten W. A.* Immunophenotyping on simultaneously occurring plaques and tumours in mycosis fungoides and Sezary syndrome. *Br J Dermatol* 1993; 129 (6): 660–666.
212. *Przybylski G. K., Wu H., Macon W. R.* et al. Hepatosplenic and subcutaneous panniculitis-like gamma/delta T cell lymphomas are derived from different Vdelta subsets of gamma/delta T lymphocytes. *J Mol Diagn* 2000; 2 (1): 11–19.
213. *Pulford K., Lamant L., Morris S. W.* et al. Detection of anaplastic lymphoma kinase (ALK) and nucleolar protein nucleophosmin (NPM)-ALK proteins in normal and neoplastic cells with the monoclonal antibody ALK1. *Blood* 1997; 89 (4): 1394–1404.
214. *Quintanilla-Martinez L., Fend F., Moguel L. R.* et al. Peripheral T-cell lymphoma with Reed-Sternberg-like cells of B-cell phenotype and genotype associated with Epstein-Barr virus infection. *Am J Surg Pathol* 1999; 23 (10): 1233–1240.
215. *Quintanilla-Martinez L., Zukerberg L. R., Ferry J. A., Harris N. L.* Extramedullary tumors of lymphoid or myeloid blasts. The role of immunohistology in diagnosis and classification. *Am J Clin Pathol* 1995; 104 (4): 431–443.
216. *Rassidakis G. Z., Goy A., Medeiros L.J.* et al. Prognostic Significance of MUC-1 Expression in Systemic Anaplastic Large Cell Lymphoma. *Clin Cancer Res* 2003; 9 (6): 2213–2220.
217. *Ree H.J., Kadin M. E., Kikuchi M.* et al. Angioimmunoblastic lymphoma (AILD-type T-cell lymphoma) with hyperplastic germinal centers. *Am J Surg Pathol* 1998; 22 (6): 643–655.
218. *Remstein E. D., Hanson C. A., Kyle R. A.* et al. Despite apparent morphologic and immunophenotypic heterogeneity, Waldenstrom's macroglobulinemia is consistently composed of cells along a morphologic

- continuum of small lymphocytes, plasmacytoid lymphocytes, and plasma cells. *Semin Oncol* 2003; 30 (2): 182–186.
219. *Robertson L. E., Redman J. R., Butler J. J.* et al. Discordant bone marrow involvement in diffuse large-cell lymphoma: a distinct clinical-pathologic entity associated with a continuous risk of relapse. *J Clin Oncol* 1991; 9 (2): 236–242.
220. *Rudiger T., Weisenburger D. D., Anderson J. R.* et al. Peripheral T-cell lymphoma (excluding anaplastic large-cell lymphoma): results from the Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Ann Oncol* 2002; 13 (1): 140–149.
221. *Saffer H., Wahed A., Rassidakis G. Z., Medeiros L. J.* Clusterin expression in malignant lymphomas: a survey of 266 cases. *Mod Pathol* 2002; 15 (11): 1221–1226.
222. *Salhany K. E., Feldman M., Kahn M. J.* et al. Hepatosplenic gammadelta T-cell lymphoma: ultrastructural, immunophenotypic, and functional evidence for cytotoxic T lymphocyte differentiation. *Hum Pathol* 1997; 28 (6): 674–685.
223. *Salhany K. E., Macon W. R., Choi J. K.* et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: clinicopathologic, immunophenotypic, and genotypic analysis of alpha/beta and gamma/delta subtypes. *Am J Surg Pathol* 1998; 22 (7): 881–893.
224. *Santucci M., Biggeri A., Feller A. C.* et al. Efficacy of histologic criteria for diagnosing early mycosis fungoides: an EORTC cutaneous lymphoma study group investigation. European Organization for Research and Treatment of Cancer. *Am J Surg Pathol* 2000; 24 (1): 40–50.
225. *Savage K. J., Monti S., Kutok J. L.* et al. The molecular signature of mediastinal large B-cell lymphoma differs from that of other diffuse large B-cell lymphomas and shares features with classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2003; 102 (12): 3871–3879.
226. *Scheffer E., Meijer C. J., Van Vloten W. A.* Dermatopathic lymphadenopathy and lymph node involvement in mycosis fungoides. *Cancer* 1980; 45 (1): 137–148.
227. *Sen F., Rassidakis G. Z., Jones D., Medeiros L. J.* Apoptosis and proliferation in subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma. *Mod Pathol* 2002; 15 (6): 625–631.
228. *Shapiro P. E., Pinto F. J.* The histologic spectrum of mycosis fungoides/Sezary syndrome (cutaneous T-cell lymphoma). A review of 222 biopsies, including newly described patterns and the earliest pathologic changes. *Am J Surg Pathol* 1994; 18 (7): 645–667.
229. *Shin S. S., Sheibani K.* Monocytoid B-cell lymphoma. *Am J Clin Pathol* 1993; 99 (4): 421–425.
230. *Shiozawa E., Yamochi-Onizuka T., Yamochi T.* et al. Disappearance of CD21-positive follicular dendritic cells preceding the transformation of follicular lymphoma: immunohistological study of the transformation using CD21, p53, Ki-67, and P-glycoprotein. *Pathol Res Pract* 2003; 199 (5): 293–302.

231. Shiratsuchi M., Suehiro Y., Yoshikawa Y. et al. Extranodal multiple involvement of enteropathy-type T-cell lymphoma without expression of CC chemokine receptor 7. *Int J Hematol* 2004; 79 (1): 44–47.
232. Skinnider B. F., Connors J. M., Gascoyne R. D. Bone marrow involvement in T-cell-rich B-cell lymphoma. *Am J Clin Pathol* 1997; 108 (5): 570–578.
233. Soslow R. A., Bhargava V., Warnke R. A. MIC2, TdT, bcl-2, and CD34 expression in paraffin-embedded high-grade lymphoma/acute lymphoblastic leukemia distinguishes between distinct clinicopathologic entities. *Hum Pathol* 1997; 28 (10): 1158–1165.
234. Stein H., Foss H. D., Durkop H. et al. CD30(+) anaplastic large cell lymphoma: a review of its histopathologic, genetic, and clinical features. *Blood* 2000; 96 (12): 3681–3695.
235. Stein H., Mason D. Y., Gerdes J. et al. The expression of the Hodgkin's disease associated antigen Ki-1 in reactive and neoplastic lymphoid tissue: evidence that Reed-Sternberg cells and histiocytic malignancies are derived from activated lymphoid cells. *Blood* 1985; 66 (4): 848–858.
236. Takeshita M., Okamura S., Oshiro Y. et al. Clinicopathologic differences between 22 cases of CD56-negative and CD56-positive subcutaneous panniculitis-like lymphoma in Japan. *Hum Pathol* 2004; 35 (2): 231–239.
237. Tiemann M., Schrader C., Klapper W. et al. Histopathology, cell proliferation indices and clinical outcome in 304 patients with mantle cell lymphoma (MCL): a clinicopathological study from the European MCL Network. *Br J Haematol* 2005; 131 (1): 29–38.
238. Torlakovic E., Torlakovic G., Brunning R. D. Follicular pattern of bone marrow involvement by follicular lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2002; 118 (5): 780–786.
239. Trimoreau F., Donnard M., Turlure P. et al. The CD4+ CD56+ CD116- CD123+ CD45RA+ CD45RO- profile is specific of DC2 malignancies. *Haematologica* 2003; 88 (3): ELT10.
240. Utz G. L., Swerdlow S. H. Distinction of follicular hyperplasia from follicular lymphoma in B5-fixed tissues: comparison of MT2 and bcl-2 antibodies. *Hum Pathol* 1993; 24 (11): 1155–1158.
241. van der Putte S. C., Toonstra J., van Wichen D. F. et al. Aberrant immunophenotypes in mycosis fungoides. *Arch Dermatol* 1988; 124 (3): 373–380.
242. Vasef M. A., Medeiros L. J., Yospur L. S. et al. Cyclin D1 protein in multiple myeloma and plasmacytoma: an immunohistochemical study using fixed, paraffin-embedded tissue sections. *Mod Pathol* 1997; 10 (9): 927–932.
243. Vega F., Medeiros L. J., Bueso-Ramos C. et al. Hepatosplenic gamma/delta T-cell lymphoma in bone marrow. A sinusoidal neoplasm with blastic cytologic features. *Am J Clin Pathol* 2001; 116 (3): 410–419.
244. Vermeer M. H., Geelen F. A., Kummer J. A. et al. Expression of cytotoxic proteins by neoplastic T cells in mycosis fungoides increases with progression from plaque stage to tumor stage disease. *Am J Pathol* 1999; 154 (4): 1203–1210.

245. *von Wasielewski S., Franklin J., Fischer R.* et al. Nodular sclerosing Hodgkin disease: new grading predicts prognosis in intermediate and advanced stages. *Blood* 2003; 101 (10): 4063–4069.
246. *Vyberg M.* DakoCytomation Antibody Algorithm. www.dakocytomation.dk
247. *Wang J., Weiss L. M., Chang K. L.* et al. Diagnostic utility of bilateral bone marrow examination: significance of morphologic and ancillary technique study in malignant. *Cancer* 2002; 94 (5): 1522–1531.
248. *Waring W. S., Wharton S. B., Grant R., McIntyre M.* Angiotropic large B-cell lymphoma with clinical features resembling subacute combined degeneration of the cord. *Clin Neurol Neurosurg* 1999; 101 (4): 275–279.
249. *Wasman J., Rosenthal N. S., Farhi D. C.* Mantle cell lymphoma. Morphologic findings in bone marrow involvement. *Am J Clin Pathol* 1996; 106 (2): 196–200.
250. *Weiss L. M., Jaffe E. S., Liu X. F.* et al. Detection and localization of Epstein-Barr viral genomes in angioimmunoblastic lymphadenopathy and angioimmunoblastic lymphadenopathy-like lymphoma. *Blood* 1992; 79 (7): 1789–1795.
251. *Went P. T., Zimpfer A., Pehrs A. C.* et al. High specificity of combined TRAP and DBA.44 expression for hairy cell leukemia. *Am J Surg Pathol* 2005; 29 (4): 474–478.
252. *Whittam L. R., Calonje E., Orchard G.* et al. CD8-positive juvenile onset mycosis fungoides: an immunohistochemical and genotypic analysis of six cases. *Br J Dermatol* 2000; 143 (6): 1199–1204.
253. *Willemze R., Jaffe E. S., Burg G.* et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood* 2005; 105 (10): 3768–3785.
254. *Wong K. F., Chan J. K., Matutes E.* et al. Hepatosplenic gamma delta T-cell lymphoma. A distinctive aggressive lymphoma type. *Am J Surg Pathol* 1995; 19 (6): 718–726.
255. *Wotherspoon A. C.* A critical review of the effect of *Helicobacter pylori* eradication on gastric MALT lymphoma. *Curr Gastroenterol Rep* 2000; 2 (6): 494–498.
256. *Wotherspoon A. C., Ortiz-Hidalgo C., Falzon M. R., Isaacson P. G.* *Helicobacter pylori*-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. *Lancet* 1991; 338 (8776): 1175–1176.
257. *Wu H., Telang G. H., Lessin S. R., Vonderheid E. C.* Mycosis fungoides with CD30-positive cells in the epidermis. *Am J Dermatopathol* 2000; 22 (3): 212–216.
258. *Ye H., Dogan A., Karran L.* et al. BCL10 expression in normal and neoplastic lymphoid tissue. Nuclear localization in MALT lymphoma. *Am J Pathol* 2000; 157 (4): 1147–1154.
259. *Zukerberg L. R., Medeiros L. J., Ferry J. A., Harris N. L.* Diffuse low-grade B-cell lymphomas. Four clinically distinct subtypes defined by a combination of morphologic and immunophenotypic features. *Am J Clin Pathol* 1993; 100 (4): 373–385.

**Основные руководства
по морфологической диагностике
опухолей лимфоидной ткани**

1. *Chan J. K. C.* Tumors of the lymphoreticular system, including spleen and thymus. In: Fletcher C. D. M. (ed.) Diagnostic histopathology of tumors. Vol. 2. New York: Churchill Livingstone; 2000. С. 1099–1317.
2. *Isaacson P. G., Norton A. J.* Extranodal lymphomas. Edinburgh; New York: Churchill Livingstone; 1994. 340 с.
3. *Jaffe E. S.* Surgical pathology of the lymph nodes and related organs. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders; 1995. 659 с.
4. *Knowles D. M.* Neoplastic hematopathology. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. 1957 с.
5. *Warnke R. A., Weiss L. M., Chan J. K. C.* et al. — Tumors of the lymph nodes and spleen. — Atlas of Tumor Pathology. — 3rd Series. — Fasc. 14. — Washington: Armed Forces Inst. Path., 1995.
6. *Feller A. C., Diebold J.* — Histopathology of nodal and extranodal non-H-dgkin's lymphomas. Based on the WHO classification. 3rd completely rev. and updated ed. Berlin; New York: Springer; 2004. 428 с.

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|--|-----|
| Методические основы морфологической диагностики лимфом | 5 |
| Вопросы эпидемиологии и классификации злокачественных заболеваний лимфоидной ткани | 36 |
| Гистологическая и иммуногистохимическая диагностика неходжкинских лимфом | 41 |
| Гистологическая и иммуногистохимическая диагностика лимфомы Ходжкина | 132 |
| Дифференциальная диагностика лимфом со сходными чертами гистологического строения | 148 |
| Исследование трепанобиопсий костного мозга при лимфомах .. | 171 |
| Приложение | 185 |
| Литература | 186 |

**Шанс на новую жизнь для больных
с В-клеточными неходжкинскими лимфомами**



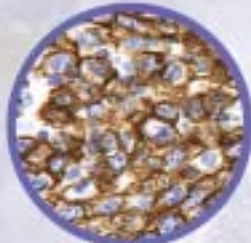
«Ф.Хоффманн-Ля Рош Лтд.», Базель, Швейцария
125445, Москва, ул. Смольная, 24Д
Тел.: 258 2777, факс: 258 2771
<http://www.roche.ru>



МАБТЕРА®
РИТУКСИМАБ
ВОЗРОЖДАЯ К ЖИЗНИ



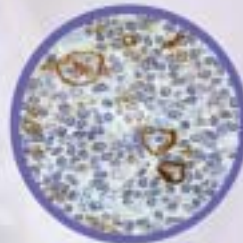
**Полный спектр реагентов
для иммунофенотипирования лимфом**
- специфические маркеры
- чувствительные системы визуализации
- дополнительные реагенты



CD 20 Кат. No M0755
Диффузная крупноклеточная
В лимфома



CD8 Кат. No M 7103
Крупноклеточная гранулярная
лимфоцитарная Т лимфома



CD30 Кат. No M0751
Лимфома Ходжкина

**Реагенты DAKO –
помощь в точной диагностике,
определении прогноза течения заболевания,
назначении адекватной терапии.**



Компания AMTEO M –
официальный дистрибьютор
DAKO в России
www.amteo.ru

ЗАО «AMTEO M»
123032, Москва, ул. Б. Дегунинская, 3
т.к. 1493 | 811-25-78, e-mail: am@amteo.ru
194101, Санкт-Петербург, ул. Никольская, 13а, оф. 330
т.к. 18121 333-64-67, 18121 322-64-68, ф.к. 21932-64-69
e-mail: material@amteo.ru

Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH

ТЕХНОЛОГИИ БУДУЩЕГО



Инновационные системы анализа и обработки изображений третьего тысячелетия

Широкое применение компьютера и специализированных цифровых камер в области исследования биологических объектов в патоморфологии, иммуногистохимии, генетики дает возможность получить оптимальное решение поставленных задач

МИКРОСКОПЫ

Лабораторные и исследовательские, прямые и инвертированные, для проходящего и отраженного света, флуоресценции, поляризации и других методов микроскопии.



МИКРОТОМЫ

Самые и ротационные, компактные и стационарные микрономы-криостаты, оборудование для заточки микрономных ножей, системы для проводки заливки и окраски гистопрепаратов для оптической и электронной микроскопии, ультрамикротомы

КОМПЛЕКСНОЕ ОСНАЩЕНИЕ

гистологических, патологоанатомических, цитологических, гистико-диагностических лабораторий

Представительство в России:

Офис в Москве:

107140, г. Москва 3-я Красногвардейская ул., д.3, 1 этаж
Тел. (495) 234-23-32, факс: (495) 234-42-16, E-mail: leicam@sol.ru

Офис в Санкт-Петербурге:

Васильевский остров, Напечная ул., д.16, офис 217-219
Тел./факс (812) 356-24-46, E-mail: leicas@ctinet.ru

www.leica-microsystems.ru

Юрий Александрович Криволапов
Елена Ефремовна Леенман

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЛИМФОМ

Корректор *С. Н. Павлюченкова*

Оригинал-макет изготовлен ООО «ИПК «КОСТА»
г. Санкт-Петербург, Новочеркасский пр., д. 58, оф. 413,
тел. 7 (812) 445-10-02

Подписано в печать 27.06.2006. Формат 60 × 90 ¹/₁₆.
Бумага офсетная. Печать офсетная. Гарнитура Peterburg.
Объем 13 п. л. Тираж 1000 экз.

Отпечатано в типографии ООО «ИПК БИОНТ»
199026, Санкт-Петербург, Средний пр., д. 86

ISBN 5-91258-007-5



9 78 5 9 1 2 5 8 0 0 7 9