

Опыт изучения лимфомы красной пульпы селезенки

Л.С. АЛЬ-РАДИ¹, Т.Н. МОИСЕЕВА¹, У.Л. ДЖУЛАКЯН¹, К.И. ДАНИШЯН¹, А.М. КОВРИГИНА¹,
С.М. ГЛЕБОВА¹, С.А. ЛУГОВСКАЯ², В.Н. ДВИРНЬК¹, А.Н. ХВАСТУНОВА³, И.А. ЯКУТИК¹,
В.Г. САВЧЕНКО¹

¹ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия; ²ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последиplomного образования» Минздрава России, Москва, Россия; ³ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия

Резюме

Цель исследования. Обобщить опыт гематологов по диагностике и дифференциальной диагностике лимфомы красной пульпы селезенки (ЛКПС).

Материалы и методы. За 2013—2014 гг. в ФГБУ ГНЦ выполнено исследование биоптатов 87 селезенки, удаленных при различных В-клеточных лимфопролиферативных заболеваниях. В 4 (4,6%) случаях на основании морфологического, иммуногистохимического, иммунофенотипического, молекулярного исследований биоптата селезенки, проб крови, костного мозга (КМ) установлен диагноз ЛКПС.

Результаты. Во всех случаях ЛКПС наблюдалась значительная спленомегалия, лимфоцитоз от 56 до 94% (в 2 случаях с лейкоцитозом $55 \cdot 10^9$ и $75 \cdot 10^9/\text{л}$), циркуляция «ворсинчатых» лимфоцитов с фенотипом CD20⁺(ярко), CD11c^{±/±}, CD103(слабо)^{±/±}, LAIR-1⁺, CD25⁻, CD5⁻, CD10⁻, CD23⁻, не содержащих тартратустойчивую кислотную фосфатазу, без мутации BRAFV600E. КМ с незначительной лимфоидной инфильтрацией CD20⁺, CD25⁻, Annexin 1⁻, Cyclin D1⁻. Масса селезенки составила в среднем 3900 г (1450—9500 г), в ткани выявлена лимфоидная инфильтрация красной пульпы с фенотипом CD20⁺, DBA.44⁺, CD25⁻, Annexin 1⁻, Cyclin D1⁻, CD103⁻, CD123⁻, CD27⁻, очагово CD11c[±] и TRAP[±]. Пациенты наблюдаются в ремиссии заболевания: 2 больных после спленэктомии (СЭ), 2 после СЭ и химиотерапии кладрибином и ритуксимабом.

Заключение. ЛКПС — редкая патология, предполагать которую следует при значительной спленомегалии и лимфоцитозе с ворсинчатыми формами лимфоцитов, имеющими лишь часть маркеров классического ВКЛ, при скудном поражении КМ. Стандартом диагностики и лечения является СЭ. Дифференциальный диагноз с ЛКМЗ и ВКЛ имеет четкие критерии, с в-ВКЛ — не определен.

Ключевые слова: лимфома селезенки, красная пульпа, волосатоклеточный лейкоз.

Experience in investigating splenic red pulp lymphoma

L.S. AL-RADI¹, T.N. MOISEEVA¹, H.L. JULHAKYAN¹, K.I. NTANISHYAN¹, A.M. KOVRIGINA¹, S.M. GLEBOVA¹,
S.A. LUGOVSKAYA², V.N. DVIRNYK¹, A.N. KHVASTUNOVA³, I.A. YAKUTIK¹, V.G. SAVCHENKO¹

¹National Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia; ²Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia; ³Dmitry Rogachev Federal Research-and-Clinical Center for Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology, Moscow, Russia

Aim. To generalize hematologists' experience of the diagnosis and differential diagnosis of splenic red pulp lymphoma (SRPL).

Materials and methods. Eighty-seven splenic biopsy specimens taken from patients with different B-cell lymphoproliferative diseases were examined in the Hematology Research Center in 2013—2014. The diagnosis of SRPL was based on the morphological, immunohistochemical, immunophenotypic, and molecular examinations of the splenic biopsy specimens, blood and bone marrow (BM) tests in 4 (4.6%) cases.

Results. There was significant splenomegaly in all SRPL cases, lymphocytosis in 56 to 94% (leukocytes, 55 and $75 \cdot 10^9/\text{l}$ in 2 cases), circulation of hairy lymphocytes with the phenotypes CD20⁺ (markedly), CD11c^{±/±}, CD103^{±/±} (weakly), LAIR-1⁺, CD25⁻, CD5⁻, CD10⁻, and CD23⁻, which did not contain tartate-resistant acid phosphatase, without BRAFV600E mutation, BM with insignificant lymphoid infiltration of CD20⁺, CD25⁻, Annexin 1⁻, and Cyclin D1⁻. The weight of the spleen averaged 3900 g (1450-9500 g); its tissue exhibited lymphoid infiltration of the red pulp with the phenotypes CD20⁺, DBA.44⁺, CD25⁻, Annexin 1⁻, Cyclin D1⁻, CD103⁻, CD123⁻, CD27⁻, focal CD11c[±], and TRAP[±]. Four patients (2 after splenectomy (SE) and 2 after SE and chemotherapy with cladribine and rituximab) are being followed up in remission.

Conclusion. SRPL is a rare disease that should be presumed to be in significant splenomegaly and lymphocytosis with hairy lymphocytes, which have only some markers for classical hairy cell leukemia (HCL), in minor BM lesion. SE is the standard for diagnosis and treatment. The differential diagnosis of SRPL with HCL has clear criteria and that with HCL-v is undetected.

Keywords: splenic lymphoma, red pulp, hairy cell leukemia.

ВКЛ — волосатоклеточный лейкоз
в-ВКЛ — вариантная форма ВКЛ
ИГХИ — иммуногистохимическое исследование
ИФН-α — интерферон-α
КМ — костный мозг
КП — красная пульпа

КПС — КП селезенки
КФ — кислая фосфатаза
ЛКМЗ — лимфома из клеток маргинальной зоны селезенки
ЛКПС — лимфома с диффузным поражением КП селезенки
ЛУ — лимфатические узлы
СЭ — спленэктомия

Известно, что селезенка может вовлекаться в патологический процесс при самых разных лимфопролиферативных заболеваниях как агрессивных, так и зрелоклеточных. К зрелоклеточным лимфопролиферативным заболеваниям с преимущественным вовлечением селезенки до недавнего времени относили две нозологии: лимфому из клеток маргинальной зоны селезенки (ЛКМЗ) и волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), включая сюда же вариантную форму волосатоклеточного лейкоза (в-ВКЛ). Эти заболевания при сходной во многом клинической картине различаются иммунофенотипом лимфоидных клеток и характером вовлечения селезенки — с поражением белой пульпы при ЛКМЗ и красной пульпы (КП) при ВКЛ и в-ВКЛ [1–5]. В то же время регулярно обнаруживаются случаи заболеваний с клиническими и лабораторными признаками, промежуточными между ЛКМЗ и ВКЛ. Такие атипичные случаи часто обозначались как вариант ЛКМЗ с ворсинчатыми лимфоцитами [6]. Однако с начала 2000-х годов появились описания селезеночной лимфомы с сочетанием клинико-морфологических признаков, отличных как от ЛКМЗ, так и от ВКЛ, и характеризующейся диффузным поражением красной пульпы селезенки (КПС), что обозначено как В-клеточная лимфома с диффузным поражением КПС [7, 8]. В связи с этим в классификацию Всемирной организации здравоохранения (2008) для В-клеточных зрелоклеточных лимфом селезенки, не подпадающих под описание существующих нозологических форм, введена предварительная категория «селезеночная лимфома/лейкоз неклассифицируемая». В эту группу в настоящее время отнесены два заболевания: лимфома с диффузным поражением КПС (ЛКПС) и вариантная форма в-ВКЛ [9].

Имеется всего несколько серий описаний ЛКПС [7, 10–12]. В обобщающей статье эта патология характеризуется как редкое (менее 1% всех лимфом) зрелоклеточное лимфопролиферативное заболевание медленного течения [12]. К типичным проявлениям ЛКПС относят массивную спленомегалию, лейкомизацию, выражающуюся лейкоцитозом с лимфоцитозом, возникновение заболевания преимущественно в старшем возрасте и некоторое преобладание мужчин среди заболевших. Однако эти клинические признаки не являются дифференцирующими для зрелоклеточных лимфопролиферативных заболеваний, поэтому в диагностике указанных нозологий важная роль принадлежит морфологическому, фенотипическому и молекулярному методам исследования [1, 6, 13]. Интерпретация результатов сопряжена со значительными трудностями ввиду частого обнаружения маркеров, общих для этих заболеваний.

Сведения об авторах:

Моисеева Татьяна Николаевна — зав. отд.-нием

Джулакян Унан Левонович — с.н.с.

Данишян Карен Исмаилович — зав. отд.-нием

Ковригина Алла Михайловна — зав. отд.-нием

Глебова Светлана Михайловна — врач-патологоанатом

Луговская Светлана Алексеевна — проф. каф. лабораторной диагностики

Двирнык Валентина Николаевна — зав. отд.-нием

Хвастунова Алина Николаевна — м.н.с.

Якутик Игорь Александрович — аспирант

Савченко Валерий Григорьевич — ген. директор, акад. РАН

В доступной нам отечественной литературе описаний данной патологии мы не встретили. В статье мы приводим собственные наблюдения нескольких случаев ЛКПС.

Материалы и методы

В исследование включены пациенты со спленомегалией, которым в 2013–2014 гг. выполнена спленэктомия (СЭ) и на основании гистологического исследования биоптата селезенки в ФГБУ ГНЦ МЗ РФ установлен диагноз ЛКПС согласно критериям классификации ВОЗ (2008). Для исключения сходных лимфопролиферативных заболеваний выполнены исследования морфологии и иммунофенотипа лимфоидных клеток крови, костного мозга (КМ), селезенки, а также иммуногистохимическое исследование (ИГХИ) биоптатов КМ и селезенки, определение тартратустойчивой кислой фосфатазы (КФ), мутации V600E гена *BRAF* (*BRAFV600E*) в лимфоидных клетках, парапротеина в сыворотке крови. Морфологию клеток оценивали при стандартной окраске по Романовскому—Гимзе мазков крови, аспирата КМ, отпечатков селезенки, а также мазков крови и селезенки, обогащенных лимфоидными клетками, абсорбированными моноклональными антителами, фиксированными на подложке (метод биочипа). Иммунофенотип определяли по стандартной методике на проточном цитофлюориметре FACSCanto II («Becton & Dickinson» — BD, США) с использованием программного обеспечения FACSDiva (BD). Панель маркеров включала моноклональные антитела CD3, CD16, CD56, CD14, CD45, CD20, CD23, CD19, CD5, CD43, CD10, CD38, *slg κ* , *slg λ* , CD103, CD11c, CD25, FMC-7, LAIR-1. ИГХИ выполняли на фиксированных формальном тканях в парафиновых блоках по стандартной методике с использованием панели антител, включающей CD20, CD3, CD25, CD11c, CD103, CD27, CD123, DBA.44, Annexin1, Cyclin D1. Тартратустойчивую КФ определяли методом Гольдберга—Барка. Мутацию V600E гена *BRAF* выявляли методом аллельспецифичной полимеразной цепной реакции в реальном времени. Моноклональную секрецию определяли с помощью иммунохимического исследования с проведением электрофореза белков сыворотки крови и концентрированной мочи.

Результаты

Клинические симптомы. По результатам исследования удаленной селезенки диагноз ЛКПС установлен у 4 пациентов — 2 мужчин и 2 женщин в возрасте от 52 лет до 71 года (средний возраст 58,5 года). У всех пациентов клинические проявления заболевания отсутствовали или были настолько скудными (незначительная слабость, легкий кожный геморрагический синдром), что заболевание выявлено случайно при выполнении клинического анализа крови и/или ультразвукового исследования брюшной полости. У всех больных отмечена выраженная, но бессимптомная спленомегалия (у одного больного — на всю брюшную полость до гребня правой подвздошной кости), без увеличения висцеральных и периферических лимфатических узлов (ЛУ). Одна больная перенесла до СЭ септический эпизод. Клинические и лабораторные характеристики заболевания отражены в **табл. 1**.

Согласно приведенным данным в клиническом анализе крови у всех больных выявлен лимфоцитоз при нормальном ($5,0 \cdot 10^9/\text{л}$) или повышенном ($55,0 \text{—} 75,0$) $\cdot 10^9/\text{л}$ количестве лейкоцитов. Количество лимфоцитов колебалось от 56 до 94% (в среднем 77%), ворсинчатые лимфоци-

Контактная информация:

Аль-Ради Любовь Саттаровна — с.н.с.; 125167 Москва, Новый Зыковский пр-д, 4; тел.: +7(495)612-4866; e-mail: lalradi@gmail.com

Таблица 1. Характеристика обследованных пациентов

Признак	Пациент №1	Пациент №2	Пациент №3	Пациент №4
Пол	Ж	Ж	М	М
Возраст, годы	71	58	53	52
В-симптомы	Нет	Нет	Нет	Нет
Спленомегалия (масса селезенки, г)	1450	2450	9500	2200
ЛУ	Нет	Нет	Нет	Нет
Гемоглобин, г/л	119	119	124	137
Лейкоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	5	5	55	75
Тромбоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	80	126	42	130
Лимфоциты, %	81	56	94	77
Моноциты, %	3	7	0	14
Миелограмма (лимфоциты, %)	36	7	85	69
Трепанобиоптат (инфильтрация КМ)	Определяется только при ИГХИ	Очагово-интерстициальная	Умеренная интерстициальная	Определяется только при ИГХИ
Тартратустойчивая КФ	\pm	Не выявлена	Не выявлена	Не выявлена
Мутация BRAFV600E	Не выявлена	То же	То же	То же
Моноклональная секреция	То же	" "	" "	" "

ты составляли от 12 до 85% (в среднем 48%). Моноцитопения отмечена только у одного больного. Содержание гемоглобина было в норме или незначительно снижено до 119 г/л. Тромбоцитопения выявлена у всех больных, однако количество тромбоцитов $< 50 \cdot 10^9/\text{л}$ и кожный геморрагический синдром имелись лишь у одного пациента.

В миелограмме у 3 пациентов лимфоцитоз составлял от 36,4 до 85%, с ворсинчатыми лимфоцитами от 6,8 до 60%; у одной больной лимфоцитоз и ворсинчатые лимфоциты в миелограмме не выявлены. Вовлечение КМ в трепанобиоптате было скудным, а у 2 пациентов лимфоидная инфильтрация обнаруживалась лишь при выполнении ИГХИ.

Тартратустойчивая КФ в лимфоидных клетках крови отсутствовала у 3 больных и выявлялась в небольшом проценте клеток у одной пациентки. Мутация V600E гена *BRAF* и моноклональная секреция исследованы у всех больных и не выявлены ни в одном случае. Стандартное цитогенетическое исследование выполнено у 1 пациента (№4) с лейкоцитозом $75 \cdot 10^9/\text{л}$, обнаружен нормальный кариотип 46 XY.

Морфологическое и фенотипическое исследования. В крови опухолевые клетки циркулировали у всех пациентов, в препарате эти клетки имели вид зрелых лимфоидных клеток средних размеров с округлым гиперхромным ядром, широкой и у отдельных клеток обрывчатой цитоплазмой. В мазках, выполненных при аспирации КМ, аналогичные клетки выявлены у 3 больных. В цитологическом препарате отпечатка селезенки содержались зрелые лимфоидные клетки мелких и средних размеров с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, округлым гиперхромным ядром, у некоторых клеток с неровными контурами цитоплазмы.

Гистологическое исследование селезенки выявило нарушение ее структуры, редукцию фолликулов, резкое полнокровие КП. В тяжках КП выявлялась диффузная инфильтрация лимфоидными клетками мелких и средних размеров с округло-овальными и неправильной формы ядрами, умеренно выраженной светлой цитоплазмой. Отмечены расширение синусов, заполнение некоторых си-

нусов мелкими лимфоидными клетками с описанной морфологией, часть синусов полнокровна, стенки артериол утолщены.

В гистологическом препарате КМ в 2 случаях (пациенты №1 и 4) лимфоидная инфильтрация четко не определялась и выявлялась только при дополнительном ИГХИ. В 2 других случаях среди элементов миелопоэза определялась умеренная интерстициальная или очагово-интерстициальная лимфоидная инфильтрация из клеток небольших размеров с округло-овальными и слегка неправильной формы ядрами, умеренно выраженной светлой цитоплазмой. Очажки фиброза выявлены только в одном случае (пациент №3). Сравнительная морфологическая картина цитологических и гистологических препаратов крови, КМ, селезенки приведена **на рисунке на цв. вкладыше**.

При ИГХИ лимфоидная В-клеточная инфильтрация КМ обнаруживалась во всех случаях. При этом в клетках лимфоидного инфильтрата биоптатов КМ и селезенки обнаруживалась мономорфная экспрессия CD20 и экспрессия DBA.44 в отсутствие экспрессии маркеров CD25, Annexin1, Cyclin D1, а также CD103, CD123, CD27. Умеренная или слабая экспрессия маркеров CD11c и TRAP выявлялась очагово, не на всех лимфоидных клетках (табл. 2).

Фенотип лимфоидных клеток в каждом случае не зависел от исследуемого субстрата (кровь, КМ, селезенка). При исследовании фенотипа лимфоидных клеток в 2 случаях определен клон κ и в 2 — клон λ В-лимфоцитов с экспрессией маркеров CD20 (ярко), CD11c, LAIR-1, с умеренной или слабой экспрессией CD103, без экспрессии маркеров CD25, CD5, CD10, CD23. В связи с этим заключение по фенотипу формулировалось как «вариантная форма волосатоклеточного лейкоза» (табл. 3).

Удаление селезенки выполнено в качестве первой линии лечения у 3 пациентов, еще у одной больной СЭ предшествовало лечение интерфероном- α (ИФН- α) в дозе 3 млн МЕ подкожно 3 раза в неделю в течение 6 мес, не давшее существенного эффекта. Масса удаленной селезенки составила в среднем 3900 г (от 1450 до 9500 г). Две паци-

Таблица 2. Иммуногистохимическая характеристика биоптатов КМ и селезенки

Маркер	КМ				Селезенка			
	пациент №1	пациент №2	пациент №3	пациент №4	пациент №1	пациент №2	пациент №3	пациент №4
CD20	+	+	+	+	+	+	+	+
CD25	—	—	—	—	—	—	—	—
Annexin1	нд	±	—	—	—	—	—	—
CyclinD1	—	±	—	—	нд	—	—	—
TRAP	нд	±	±	—	—	±	+	±
DBA.44	±	нд	нд	+	нд	нд	+	+
CD103	—	нд	нд	нд	—	нд	—	нд
CD11c	—	нд	нд	±	—	±	±	±
CD123	нд	±	нд	—	—	—	—	—
CD27	нд	нд	нд	—	—	нд	нд	—

Примечание. Здесь и в табл. 3: ± — экспрессия маркера на части клеток; нд — маркер не исследован.

Таблица 3. Иммунофенотип лимфоцитов крови и селезенки

Маркер	Кровь				Селезенка			
	пациент №1	пациент №2	пациент №3	пациент №4	пациент №1	пациент №2	пациент №3	пациент №4
κ/λ	λ	κ	λ	κ	λ	нд	λ	κ
CD20 bright	+	+	+	+	+	нд	+	+
CD5	—	—	—	—	—	нд	—	—
CD10	—	—	—	—	—	нд	—	—
CD23	—	—	—	—	—	нд	—	—
CD25	—	—	—	—	—	нд	—	—
CD103	+	—	±	+	+	нд	±	+
CD11c	±	+	+	+	+	нд	+	+
LAIR-1	+	+	+	+	+	нд	+	+

Таблица 4. Виды лечения

№ пациента	Пол/возраст, годы	Лечение				результат
		первая линия	вторая линия	третья линия		
1	Ж/71	ИФН-α	СЭ	—	Ремиссия	
2	Ж/58	СЭ	—	—	"	
3	М/53	СЭ	ХТ	—	"	
4	М/52	СЭ	ИФН-α	ХТ	"	

Примечание. ХТ — химиотерапия (кладрибин, ритуксимаб).

ентки (№1 и 2) находятся под наблюдением без лечения в течение 22 и 10 мес соответственно, двум другим больным (№3 и 4) в связи с сохранением или нарастанием лейкоцитоза с абсолютным лимфоцитозом проведено лекарственное лечение кладрибином 0,1 мг/кг/сут, на курс 7 подкожных инъекций (у одного больного — с предварительным применением ИФН-α 3 млн МЕ подкожно 3 раза в неделю в течение 3 мес, снизившим количество лейкоцитов в 3 раза), с последующим курсом применения ритуксимаба 375 мг/м² на курс 4 внутривенных вливания с интервалом 3 мес (табл. 4).

После лечения все больные наблюдаются без признаков активности заболевания. Средняя длительность наблюдения за больными составляет 16 мес (от 7 до 28 мес), длительность наблюдения после СЭ — 13 мес (от 7 до 22 мес).

Обсуждение

За двухлетний период 2013—2014 гг. в ФГБУ ГНЦ МЗ РФ выполнено 79 СЭ у больных с В-клеточными лимфо-

пролиферативными заболеваниями и осуществлен консультативный пересмотр 8 биоптатов селезенки при В-клеточных лимфомах. Таким образом, в нашем наблюдении ЛКПС составила 4,6% (4 из 87) В-клеточных лимфо-пролиферативных заболеваний, подтверждаемых при СЭ. Мы наблюдаем еще 5 пациентов со сходными клинико-лабораторными данными, но поскольку им не выполнялась СЭ, мы не можем пока с уверенностью подтвердить диагноз ЛКПС.

В литературе указывается, что ЛКПС является редким заболеванием и составляет, вероятно, 0,5—1% от всех неходжкинских лимфом (частоту точнее оценить невозможно, поскольку опубликовано всего несколько исследований). В то же время этот вид лимфомы может составлять почти 10% от всех В-клеточных лимфом, диагностируемых после СЭ [8, 11]. Исследователи полагают, что до СЭ некоторые случаи ЛКПС скрываются под маской варианта ЛКМЗ с ворсинчатыми лимфоцитами [11]. Следует, однако, учесть, что в опубликованных сериях диагноз ЛКПС подтвержден при СЭ у всех больных только в 2 ис-

следованиях [7, 11], в то время как в исследовании с максимальным числом наблюдений (37 больных) селезенка исследована только у 9 [12].

Основная проблема заключается в дифференциальной диагностике ЛКПС с близкими разновидностями лимфопролиферативных заболеваний — ВКЛ, в-ВКЛ, ЛКМЗ. Трудности дифференциальной диагностики связаны с одинаковыми клиническими проявлениями, схожей морфологией опухолевых лимфоидных клеток, а также отсутствием специфического маркера для каждого из этих заболеваний и наличием многих общих CD-маркеров, отличающихся иногда лишь степенью экспрессии.

Диагностика ЛКПС обсуждается в немногочисленных статьях с сериями наблюдений 37, 17 и 4 пациента [7, 8, 11]. Автором наибольшего количества наблюдений является исследователь из Франции А. Traverse-Glehen [12], подробно анализировавший эти обобщенные 58 случаев заболевания.

Клиническая картина. Основным клиническим симптомом ЛКПС является выраженная спленомегалия, иногда с увеличением ЛУ ворот печени и/или селезенки, но без явной периферической лимфаденопатии. Это объединяет ее с клинической картиной ЛКМЗ, в отличие от ВКЛ и в-ВКЛ, где ведущими в большинстве случаев служат проявления цитопенического синдрома, возникающего вследствие лимфоидной инфильтрации КМ. Для ЛКПС свойствен умеренный лимфоцитоз без панцитопении — цитопения возникает редко, при массивной спленомегалии [12]. Однако и при ВКЛ нередки случаи течения заболевания с массивной спленомегалией и умеренной компенсированной цитопенией. В обобщенном анализе документированных случаев ЛКПС отмечено также преобладание среди заболевших лиц мужского пола (соотношение мужчин:женщин от 1,64 до 2,4), преимущественно пожилого возраста (средний возраст 65,5 года), что совпадает с возрастной и гендерной характеристикой пациентов при ВКЛ [12].

В наблюдаемой нами группе больных основным признаком заболевания, как и в описанных сериях ЛКПС, являлась клинически бессимптомная спленомегалия, лишь у одного пациента с гигантской селезенкой имелся легкий кожный геморрагический синдром и у одной больной клиническая картина заболевания дебютировала с тяжелого инфекционного процесса. Соотношение мужчин и женщин оказалось равным 1, средний возраст пациентов — несколько моложе описываемого (58,5 года).

Цитология. При ЛКПС всегда имеется циркуляция в крови «ворсинчатых» лимфоцитов. Существующие описания характеризуют лимфоциты при ЛКПС как лимфоидные клетки малого и среднего размера, с круглыми или овальными ядрами, иногда эксцентрично расположенным плотным или скомканным хроматином. Цитоплазма часто увеличена, умеренно базофильна, с характерными цитоплазматическими отростками. Ядрышки очень маленькие или вовсе не видны. Обычно ворсинчатые клетки не единичные, а составляют более 50% лимфоидных клеток периферической крови [8]. Однако лимфоидные клетки с цитоплазматическими выростами имеются при всех дифференцируемых с ЛКПС лимфопролиферативных заболеваниях (т.е. ВКЛ, в-ВКЛ, ЛКМЗ), и их морфология

может варьировать в широких пределах («ворсинки», волнообразные и фестончатые выросты цитоплазмы). Таким образом, надежных различий по цитологии клеток при обсуждаемых заболеваниях нет. Считается, что для в-ВКЛ характерно наличие ворсинчатых лимфоцитов с более рыхлым, «омоложенным» хроматином ядра и наличием отчетливого ядрышка, однако этот признак также не универсален. По нашему мнению, попытки найти четкие морфологические различия «ворсинчатых» лимфоцитов при ЛКПС, ЛКМЗ, ВКЛ и в-ВКЛ можно считать неудовлетворительными.

Гистология и ИГХИ биоптата КМ. В представленной нами небольшой серии наблюдений КМ у всех пациентов был клеточным, легкий очаговый фиброз выявлен только в одном случае. Лимфоидная инфильтрация была умеренной интерстициальной или очагово-интерстициальной. В 2 случаях вовлечение КМ достоверно обнаруживалось только после проведения ИГХИ. При ИГХИ КМ выявлены рассеянные и расположенные небольшими скоплениями лимфоидные клетки, несущие маркеры CD20, DBA.44, но без экспрессии маркеров CD25, CD103, CD123, Annexin1, Cyclin D1. Очагово на небольшой части клеток выявлялась экспрессия TRAP (тартратустойчивой КФ) и CD11c. Различий по гистологической и иммуногистохимической картине КМ в зависимости от наличия или отсутствия лейкоцитоза не выявлено.

В опубликованных описаниях ЛКПС КМ также обычно был клеточный, с хорошим гемопоэтическим резервом, незначительным фиброзом и интрасинусоидальной лимфоидной инфильтрацией, с интерстициальным или очаговым поражением; описаны также межтрабекулярные поражения КМ. При окрашивании ретикулиновых волокон степень фиброза может быть легкой (0—1). При ИГХИ выявляются экспрессия CD20 и DBA.44, отрицательны маркеры CD5, CD23, MUM-1 (как и при ВКЛ), однако в отличие от ВКЛ отсутствует экспрессия Annexin1 и CyclinD1. В 30% случаев ЛКПС описана экспрессия p53 [7, 8, 11, 12]. Эти данные позволяют отличить ЛКПС от ВКЛ, но не позволяют дифференцировать ЛКПС и ЛКМЗ. Так, при гистологическом и иммуногистохимическом сравнении трепанобиоптатов 32 пациентов с ЛКМЗ и 14 больных с ЛКПС отмечено единственное, но недостоверное различие — по степени лимфоидной инфильтрации КМ, менее выраженной при ЛКПС [14]. Следует, однако, уточнить, что в этом исследовании не использовали маркеры CD25, CD11c, CD103 и CD123.

Гистология и ИГХИ биоптата селезенки. В связи со сходством клиники, цитологии и фенотипа, основная роль в дифференциальной диагностике между ЛКПС и ЛМЗС принадлежит гистологическому и гистохимическому исследованию удаленной селезенки, которое считается «золотым стандартом» диагностики ЛКПС [14]. При макроскопическом исследовании селезенка на срезе имеет однородную красно-коричневую поверхность без крапа. Микроскопическое исследование позволяет выявить стертость структуры селезенки и мономорфный диффузный характер инфильтрации КП, с замещением или атрофией белой пульпы, могут присутствовать остаточные лимфоидные фолликулы. Клетки, фиксированные в формалине, имеют круглое гиперхромное ядро со скомканным хроматином и базофилией цитоплазмы, напоми-

ная внешний вид плазмочитов. В некоторых случаях клетки могут быть большими, с неправильной формой ядра, имеющего менее скомканный хроматин. В некоторых случаях описание мелких и крупных клеток может быть связано с морфологическими признаками трансформации. Изменения в ЛУ ворот селезенки и печени четко не описаны. ИГХИ селезенки позволяет выявить диффузную инфильтрацию малых В-клеток, экспрессирующих CD20, DBA.44, без экспрессии CD5, CD23, CD43, MUM-1 и Annexin1 [12]. Однако имеется описание одного случая лимфомы с диффузным поражением КПС, где выявлена экспрессия маркера Annexin1 (обычно отсутствующего при ЛКПС) [15]. Могут быть обнаружены зрелые плазматические клетки, экспрессирующие CD138. В 30% случаев обнаружена положительная реакция на p53. Окрашивание на CyclinD1 всегда отрицательное [12].

В описываемой нами группе больных исследование селезенки во всех случаях выявляло нарушение архитектоники органа с выраженной инфильтрацией КПС. Собственно это является определяющим различием ЛКПС с ЛКМЗ. Результаты ИГХИ соответствовали описанным критериям ЛКПС и выявляли в клетках лимфоидного инфильтрата красной пульпы селезенки мономорфную экспрессию CD20 и экспрессию DBA.44 в отсутствие экспрессии маркеров CD25, Annexin1, Cyclin D1, а также CD103, CD123, CD27. Умеренная или слабая экспрессия маркеров CD11c и TRAP выявлялась очагово, не на всех лимфоидных клетках. Различий по гистологической и иммуногистохимической картине селезенки, как и в картине КМ, в зависимости от наличия или отсутствия лейкоцитоза не выявлено.

Тем не менее вопрос о дифференциальном диагнозе с в-ВКЛ оставался открытым. Цитологические препараты крови и селезенки, а также гистологические и иммуногистохимические препараты КМ и селезенки консультированы с проф. М.А. Piris — экспертом-патологом Испанского национального научного центра онкологии (СНИО), соавтором одной из серий наблюдений ЛКПС [11]: после пересмотра препаратов и выполнения исследования p53 (отрицательно) сделано заключение о принадлежности исследованных случаев к ЛКПС.

Фенотип лимфоидных клеток. В имеющихся описаниях при ЛКПС проточная цитометрия выявляет опухолевые лимфоидные В-клетки, экспрессирующие поверхностные иммуноглобулины IgM+IgD, IgM+IgG, или только IgM, IgG; клон κ и λ выявляется с равной частотой. Для этих клеток характерны яркая экспрессия В-клеточных маркеров CD20 и CD22, экспрессия FMC7, умеренная экспрессия CD11c, в редких случаях может определяться слабая или частичная экспрессия CD103 [16]. Отсутствует экспрессия CD123 и CD25. В большинстве случаев опухолевые клетки не экспрессируют CD38, CD24, CD27. Козэкспрессия CD5 и CD23 (характерная для хронического лимфолейкоза) отсутствует, но в 30% случаев может выявляться экспрессия CD5 [12]. Таким образом, фенотип лимфоидных клеток дает возможность отличить ЛКПС от типичной формы ВКЛ, однако не позволяет достоверно различить этот вид лимфомы и в-ВКЛ и ЛКМЗ. Есть рекомендация с рядом оговорок использовать для этого оценку степени экспрессии CD11c по интенсивности флуоресценции [16].

Мы выявляли у всех больных ЛКПС клон В-лимфоцитов (с равной частотой κ или λ) с экспрессией маркеров

CD20 (ярко), LAIR-1, CD11c, с умеренной или слабой экспрессией CD103 и без экспрессии CD25. Такой фенотип может соответствовать как в-ВКЛ, так и ЛКПС, поэтому не удивительно, что результат проточной цитометрии всегда интерпретировался в лаборатории как более привычная врачам «вариантная форма ВКЛ».

Тартратустойчивая КФ. В обсуждаемой литературе по ЛКПС не приведены данные об активности тартратустойчивой КФ в лимфоидных клетках. Известно, что тартратустойчивая КФ является ярким маркером типичного ВКЛ и помогает отличить его от ЛКМЗ и в-ВКЛ, при которых выявляется редко и бывает слабовыражена [17]. В обследованной нами группе больных тартратустойчивая КФ в лимфоидных клетках крови выявлялась у 2 пациентов, но определялась лишь в небольшом (4 и 10) проценте клеток, хотя лимфоцитоз у этих пациентов был значительным (81 и 94%, при числе лейкоцитов $5 \cdot 10^9$ и $55 \cdot 10^9$ /л соответственно).

Мутация V600E гена BRAF и мутационный статус V-генов IgH. В опубликованных сериях наблюдений ЛКПС мутация BRAFV600E не исследовалась, поскольку выявлена сравнительно недавно — в 2011 г. [18]. После сенсационного обнаружения этой мутации почти в 100% случаев ВКЛ она закономерно считается маркерной для ВКЛ, хотя крайне редко выявляется при других В-клеточных лимфопролиферативных заболеваниях (единичные случаи хронического лимфолейкоза, В-пролимфоцитарного лимфолейкоза). Мы предсказуемо не выявили мутацию V600E гена BRAF ни у одного пациента с ЛКПС. Тем не менее имеется описание единичного BRAFV600E-положительного случая при неклассифицируемой лимфоме/лейкозе селезенки [19].

Исследование мутационного статуса V-генов IgH нами выполнено в одном случае (№4). Выявлен мутированный статус V-генов IgH (VH4-59, D5-5, JH4, гомология 93,7%). По данным литературы, такое исследование выявляет мутированный статус в большинстве случаев, с наличием соматических гипермутаций IgVH генов семействIGHV3-23 и IGHV4-34, характерных и для ВКЛ [8].

Моноклональная секреция. Описано наличие в ряде случаев у больных с ЛКПС незначительного количества парапротеина (IgM, IgG или их сочетание), однако не указывается, совпадает ли легкая цепь моноклонального белка с клоном опухолевой лимфоидной популяции [12]. Возможно в ряде случаев моноклональная секреция связана не с лимфопролиферативным заболеванием, а является моноклональной гаммапатией неясного значения. Во всяком случае диагностическое значение этого феномена точно не определено.

Цитогенетика. Хотя цитогенетические и молекулярные данные при ЛКПС ограничены в связи с редкостью данного заболевания и немногочисленными исследованиями, более чем в 60% случаев клональных хромосомных аномалий не обнаружено. Если цитогенетическую поломку удавалось обнаружить, то чаще всего это была делеция del17q, полная трисомия 18-й хромосомы и частичная трисомия хромосомы 3q, ни в одном случае не выявлены транслокации t(11;14)(q13;q32) и t(14;18) [8]. В одном случае обнаружена del(8)(p11) [7].

Дифференциальный диагноз. Как обсуждалось ранее, ЛКПС необходимо в основном дифференцировать от

ЛКМЗ, ВКЛ и в-ВКЛ. Сходство с ЛКМЗ заключается в одинаковой клинической картине, идентичном фенотипе лимфоидных клеток и схожей картине инфильтрации КМ. Обращается внимание на меньшую степень инфильтрации КМ, однако основным критерий, позволяющий разделить эти два заболевания, — гистологическое исследование селезенки, выявляющее вовлечение белой (при ЛМЗС) или красной (при ЛКПС) пульпы. Клинические и лабораторные отличия заболевания от классического ВКЛ отчетливей: для ЛКПС типично отсутствие цитопении (часто лейкоцитоз), умеренная лимфоидная инфильтрация КМ при хорошей сохранности трехросткового гемопоэза, отсутствие экспрессии CD25, Annexin1, Cyclin D1 при вариабельности экспрессии CD11c, CD103, DBA.44, отсутствие мутации BRAFV600E. Максимальные трудности подстерегают врача при дифференцировании ЛКПС с в-ВКЛ — все клинические и лабораторные критерии настолько схожи, что возникает обоснованное предположение, не являются ли две эти нозологии единым заболеванием? Во всяком случае однозначных клинических и лабораторных критериев дифференциального диагноза ЛКПС и в-ВКЛ, по нашему мнению, в настоящее время не описано. Одним из дифференциально-диагностических признаков, отличающих ЛКПС от в-ВКЛ, может являться незначительное вовлечение КМ без признаков угнетения гемопоэза при ЛКПС.

Лечение и прогноз. В связи с малым числом наблюдений единой тактики лечения ЛКПС не разработано, однако все исследователи сходятся во мнении, что при этом длительно доброкачественно текущем заболевании во многих случаях возможна выжидательная тактика, а при появлении показаний к лечению в качестве первой линии целесообразна СЭ. При необходимости последующего лечения применяется иммунохимиотерапия; ИФН- α , ритуксимаб \pm аналоги пурина (кладрибин, пентостатин, флударабин) или ритуксимаб \pm СОР/СНОР-подобные курсы. Прогноз при ЛКПС в целом благоприятный — общая выживаемость выше, чем при ЛКМЗ, а медиана продолжительности жизни без прогрессирования заболевания составляет более 10 лет [8]. Тем не менее у больных с ЛКПС описаны случаи прогрессии заболевания с вовлечением кожи, печени, яичек, трансформации в нодальную диффузную В-крупноклеточную лимфому, а также развитие острого миелоидного лейкоза [11]. По нашему небольшому опыту, применение ИФН- α недостаточно эффективно, СЭ оказалась достаточной лечебной опцией для 2 пациентов без лейкоцитоза, в то время как у больных с лейкоцитозом СЭ не привела к нормализации количества лейкоцитов, и для достижения ремиссии заболевания этим пациентам потребовалось последующее лечение кладрибином и ритуксимабом.

Заключение

ЛКПС, введенная в классификацию ВОЗ 2008 г. в раздел неклассифицируемых лимфом/лейкозов селезенки,

как предварительная новая нозологическая единица, представляет собой зрелоклеточное В-лимфопротеративное заболевание с хроническим доброкачественным течением, чаще возникает в старшей возрастной группе, с небольшим преобладанием мужчин среди заболевших. В клинической картине ЛКПС доминирует выраженная, но малосимптомная изолированная спленомегалия с лимфоцитозом, без моноцитопении, без выраженной цитопении, часто с лейкоцитозом. В образцах крови при ЛКПС выявляется значительное количество ворсинчатых лимфоцитов, не содержащих ни тартрат-устойчивую КФ, ни мутацию BRAFV600E. В КМ обнаруживается умеренная или крайне незначительная интерстициальная или очаговоинтерстициальная инфильтрация, без признаков угнетения нормального гемопоэза и обычно без признаков фиброза. Гистологическое исследование селезенки выявляет нарушение ее архитектоники с диффузной инфильтрацией лимфоидными клетками КП и атрофией белой пульпы.

Иммунофенотипирование лимфоидных клеток при ЛКПС выявляет клон κ или λ В-лимфоцитов CD20⁺⁺, CD22⁺⁺, FMC7⁺, CD11c[±], CD103^{-/±}, CD25⁻, CD123⁻, CD5^{-/+}, CD23⁻, CD38⁻, CD24⁻, CD27⁻. Гистохимическое исследование КМ обнаруживает экспрессию маркеров CD20 и DBA.44, отсутствие CD25, CD103, CD123, Annexin1, Cyclin D1. Часть клеток может слабо экспрессировать TRAP и CD11c. ИГХИ селезенки подтверждает диффузную инфильтрацию КП В-лимфоидными клетками CD20⁺, DBA.44⁺, CD5⁻, CD23⁻, CD43⁻, MUM1⁻, Annexin1⁻, CyclinD1, p53^{-/+}.

ЛКПС необходимо дифференцировать от ряда сходных лимфопротеративных заболеваний, в первую очередь ЛКМЗ, ВКЛ, в-ВКЛ. Дифференциальный диагноз с ЛКМЗ и ВКЛ имеет четкие критерии, в то время как различия с в-ВКЛ не определены. Видимо, дифференциальный диагноз двух столь схожих патологий, как ЛКПС и в-ВКЛ будет возможным лишь при выявлении маркерной мутации или же дальнейшее изучение сольет ЛКПС и в-ВКЛ в единую нозологию.

Течение ЛКПС длительное, в лечении первостепенная роль отводится СЭ, за которой следует применение ИФН- α , ритуксимаба в режиме монотерапии и в сочетании с аналогами пурина (кладрибин, пентостатин, флударабин) или с курсами СОР/СНОР (циклофосфан, винкристин, адриабластин, преднизолон).

Мы надеемся, что данная работа послужит подспорьем для анализа и дифференциального диагноза при лимфомах селезенки, в результате которого появится большая ясность в понимании ЛКПС.

Выражаем благодарность Е.Ю. Варламовой — заведующей лабораторией гуморального иммунитета ФГБУ ГНЦ за исследование моноклональной секреции, и Т.Н. Обуховой — заведующей кариологической лабораторией ФГБУ ГНЦ за цитогенетическое исследование.

Конфликт интересов отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

1. Traverse-Glehen A, Baseggio L, Salles G, Felman P, Berger F. Splenic marginal zone B-cell lymphoma: a distinct clinicopathological and molecular entity. Recent advances in ontogeny and classification. *Curr Opin Oncol*. 2011;23(5):441-448. doi:10.1097/CCO.0b013e328349ab8d.
2. Chacon JI, Mollejo M, Munoz E, Algara P, Mateo M, Lopez L, Andrade J, Carbonero IG, Martinez B, Piris MA, Cruz MA. Splenic marginal zone lymphoma: clinical characteristics and prognostic factors in a series of 60 patients. *Blood*. 2002;100:1648-1654. doi:http://dx.doi.org/.
3. Berger F, Felman P, Thieblemont C, Pradier T, Baseggio L, Bryon PA, Salles G, Callet-Bauchu E and Coiffier B. Non-MALT marginal zone B-cell lymphomas: a description of clinical presentation and outcome in 124 patients. *Blood*. 2000;95:1950-1956. doi:http://dx.doi.org/.
4. Franco V, Florena AM, Lannitto E. Splenic marginal zone lymphoma. *Blood* 101: 2464-2472, 2003. Osciard D, Owen R and Johnson S: Splenic marginal zone lymphoma. *Blood Rev*. 2005;19:39-51. doi:10.1182/blood-2002-07-2216.
5. Arcaini L, Lazzarino M, Colombo N, Burcheri S, Boveri E, Pauli M, Morra E, Gambacorta M, Cortelazzo S, Tucci A, Ungari M, Ambrosetti A, Menestrina F, Orsucci L, Novero D, Pulsoni A, Frezzato M, Gaidano G, Vallisa D, Minardi V, Tripodo C, Callea V, Baldini L, Merli F, Federico M, Franco V. Iannitto E: Splenic marginal zone lymphoma: a prognostic model for clinical use. *Blood*. 2006;107: 4643-4649. doi:10.1182/blood-2005-11-4659.
6. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, Sultan C. 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. doi:10.1136/jcp.42.6.567.
7. Mollejo M, Algara P, Mateo MS, Sanchez-Beato M, Lloret E, Medina MT, Piris MA. Splenic small B-cell lymphoma with predominant red pulp involvement: a diffuse variant of splenic marginal zone lymphoma? *Histopathology*. 2002;40(1):22-30. doi:10.1046/j.1365-2559.2002.01314.x.
8. Traverse-Glehen A, Baseggio L, Bauchu EC, Morel D, Gazzo S, Ffrench M, Verney A, Rolland D, Thieblemont C, Magaud JP, Salles G, Coiffier B, Berger F, Felman P. Splenic red pulp lymphoma with numerous basophilic villous lymphocytes: a distinct clinicopathologic and molecular entity? *Blood*. 2008;111(4):2253-2260. doi:10.1182/blood-2007-07-098848.
9. Swerdlow SH. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th ed. IARC Lyon, France; 2008.
10. Traverse-Glehen A, Baseggio L, Callet-Bauchu E, Ffrench M, Coiffier B, Salles G, Felman P, Berger F. Hairy cell leukaemia-variant and splenic red pulp lymphoma: a single entity? *Br J Haematol*. 2010;150(1):113-116. doi:10.1111/j.1365-2141.2010.08153.x.
11. Kanellis G, Mollejo M, Montes-Moreno S, Rodriguez-Pinilla SM, Cigudosa JC, Algara P, Montalban C, Matutes E, Wotherpoon A, Piris MA. Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma: revision of a series of cases reveals characteristic clinicopathological features. *Haematologica*. 95(7):1122-1129,2010. doi:10.3324/haematol.2009.013714.
12. Traverse-Glehen A, Baseggio L, Salles G, Coiffier B, Felman P, Berger F. Splenic diffuse red pulp small-B cell lymphoma: toward the emergence of a new lymphoma entity. *Discov Med*. 2012(71):253-265.
13. Аль-Ради Л.С., Пивник А.В., Зыбунова Е.Е., Моисеева Т.Н., Бердышева И.А., Конева Е.А., Дубницкая М.Г. Волосатоклеточный лейкоз у пожилых: клиника, диагностика, лечение аналогом пурина 2-CdA. *Клиническая геронтология*. 2004;5:7-13.
14. Ponzoni M, Kanellis G, Poulidou E et al. Bone marrow histopathology in the diagnostic evaluation of splenic marginal-zone and splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma. A reliable substitute for spleen histopathology? *Am J Surg Pathol*. 2012; 36:1609-1618. doi:10.1097/PAS.0b013e318271243d.
15. Mendes L, Attygalle A, Matutes E, Wotherpoon A. Annexin A1 expression in a splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma: report of the first case. *Histopathology*. 2013;63:591-593. doi:10.1111/his.12179.
16. Baseggio L, Traverse-Glehen A, Callet-Bauchu E, Morel D, Magaud JP, Berger F, Salles G, Felman P. Relevance of a scoring system including CD11c expression in the identification of splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma (SRPL). *Hematol Oncol*. 2011;29(1):47-51. doi:10.1002/hon.957.
17. Джулакян У.Л., Гриншпун Л.Д. Селезеночная лимфома из клеток маргинальной зоны (лимфоцитомы селезенки) у пожилых пациентов: клиника, диагностика, лечение. В сборнике: *Гериатрическая гематология. Заболевания системы крови в старших возрастных группах*. Под ред. Гриншпун Л.Д., Пивника А.В. М.; 2012.
18. Tiacci E, Trifonov V, Schiavoni G, Holmes A, Kern W, Paola MM, Pucciarini AI, Bigerna B, Pacini R, Wells VA., Sportoletti P, Pettrossi V, Mannucci R, Elliott O, Liso A, Ambrosetti A, Pulsoni A, Forconi F, Trentin L, Semenzato G, Inghirami G, Capponi Monia, Di Raimondo F, Patti C, Arcaini L, Musto P, Pileri S, Haferlach C, Schnittger S, Pizzolo G, Foà R, Farinelli L, Haferlach T, Pasqualucci L, Rabadan R, Falini B. BRAF Mutations in Hairy-Cell Leukemia. *N Engl J Med*. 2011;364:2305-2315. doi:10.1056/NEJMoa1014209.
19. Raess PW, Mintzer D, Husson M, Nakashima MO, Morrissette JJD, Daber R, Bagg A. BRAFV600E is also seen in unclassifiable splenic B-cell lymphoma/leukemia, a potential mimic of hairy cell leukemia. *Blood*. 2013;122:3084-3085. doi:10.1182/blood-2013-07-513523.

Поступила 16.07.2015