

## Гепатолиенальная Т-клеточная лимфома: проблемы диагностики и лечения

Н.Г. ЧЕРНОВА<sup>1</sup>, У.А. ДЖУЛАКЯН<sup>1</sup>, Ю.Е. ВИНОГРАДОВА<sup>2</sup>, Ю.В. СИДОРОВА<sup>1</sup>, Н.В. РЫЖИКОВА<sup>1</sup>, С.М. КОРЖОВА<sup>1</sup>, М.Н. СИНИЦЫНА<sup>1</sup>, Д.С. ТИХОМИРОВ<sup>1</sup>, Е.В. НАУМОВА<sup>3</sup>, Т.Н. ОБУХОВА<sup>1</sup>, В.Н. ДВИРНЫК<sup>1</sup>, А.Б. СУДАРИКОВ<sup>1</sup>, А.М. КОВРИГИНА<sup>1</sup>, С.К. КРАВЧЕНКО<sup>1</sup>, А.А. МЕЛИКЯН<sup>1</sup>, А.А. КУЗЬМИНА<sup>1</sup>, И.В. ГАЛЬЦЕВА<sup>1</sup>, С.Ю. СМІРНОВА<sup>1</sup>, Э.Г. ГЕМДЖЯН<sup>1</sup>, Е.Е. ЗВОНКОВ<sup>1</sup>, Е.Н. ПАРОВИЧНИКОВА<sup>1</sup>, В.Г. САВЧЕНКО<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Москва, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва, Россия; <sup>3</sup>ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России, Москва, Россия

### Аннотация

За последнее десятилетие достигнуты значительные успехи в понимании патогенеза НК/Т-клеточных лимфом, однако их диагностика остается затруднительной вследствие их редкости и клинико-морфологического разнообразия. В статье обобщен десятилетний опыт диагностики и лечения гепатолиенальной Т-клеточной лимфомы (ГЛТЛ) в ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, рассмотрены вопросы дифференциальной диагностики с другими гематологическими заболеваниями, протекающими со сходными клинико-лабораторными симптомами, сформулированы современные подходы к диагностике и лечению. Представлен взгляд клинициста на проблему диагностики и лечения данного заболевания. Показано, что ГЛТЛ — гетерогенная группа заболеваний, различающихся по реаранжировкам генов цепей Т-клеточного рецептора, клиническому течению заболевания, общей выживаемости (ОВ). По нашим данным, 3-летняя ОВ составила 12%, медиана продолжительности жизни — 26 мес. Для вариантов  $\gamma\delta$  и  $\alpha\beta$  ГЛТЛ 2-летняя ОВ равна 25 и 70% соответственно. Различие ОВ для вариантов ГЛТЛ не достигало статистической значимости (возможно, в силу недостаточного объема выборки).

*Ключевые слова:* гепатолиенальная Т-клеточная лимфома, иммуногистохимическое исследование, клональные реаранжировки, молекулярное исследование, морфология, проточная цитометрия, цитогенетическое исследование.

## Hepatosplenic T-cell lymphoma: The problems of diagnosis and treatment

N.G. CHERNOVA<sup>1</sup>, H.L. JULHAKYAN<sup>1</sup>, YU.E. VINOGRADOVA<sup>2</sup>, YU.V. SIDOROVA<sup>1</sup>, N.V. RYZHIKOVA<sup>1</sup>, S.M. KORZHOVA<sup>1</sup>, M.N. SINITSYNA<sup>1</sup>, D.S. TIKHOMIROV<sup>1</sup>, E.V. NAUMOVA<sup>3</sup>, T.N. OBUKHOVA<sup>1</sup>, V.N. DVIRNYK<sup>1</sup>, A.B. SUDARIKOV<sup>1</sup>, A.M. KOVRIGINA<sup>1</sup>, S.K. KRAVCHENKO<sup>1</sup>, A.L. MELIKYAN<sup>1</sup>, L.A. KUZMINA<sup>1</sup>, I.V. GALTSEVA<sup>1</sup>, S.YU. SMIRNOVA<sup>1</sup>, E.G. GEMDZHIAN<sup>1</sup>, E.E. ZVONKOV<sup>1</sup>, E.N. PAROVICHNIKOVA<sup>1</sup>, V.G. SAVCHENKO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia; <sup>2</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia; <sup>3</sup>Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

In the past decade, a notable advance has been made in the understanding of the pathogenesis of NK/T-cell lymphomas; however, their diagnosis remains difficult because of their rarity and clinical and morphological variabilities. The paper generalizes the ten-year experience of the Hematology Research Center, Ministry of Health of Russia, in diagnosing and treating hepatosplenic T-cell lymphoma (HSTL), considers the problems of differential diagnosis with other hematological diseases occurring with similar clinical and laboratory symptoms, and lays down current approaches to the diagnosis and treatment of this condition. A clinician's view of the problem of diagnosis and treatment of this disease is given. HSTL is shown to be a heterogeneous group of diseases differing in a T-cell receptor chain gene rearrangement, the clinical course of the disease, and overall survival (OS). According to our data, 3-year OS was 12%; the median survival was 26 months. Two-year OS for  $\gamma\delta$  and  $\alpha\beta$  HSTL was equal to 25 and 70%, respectively. The difference in OS for the variants of HSTL failed to reach statistical significance (because the sample might be insufficient).

*Keywords:* hepatosplenic T-cell lymphoma, immunohistochemical examination, clonal rearrangements, molecular study, morphology, flow cytometry, cytogenetic testing.

алло-ТГСК — трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток  
алло-ТКМ — трансплантация аллогенного костного мозга  
БГЛ — хронический Т-клеточный лейкоз из больших гранулярных лимфоцитов  
ВКЛ — волосатоклеточный лейкоз  
ГЛТЛ — гепатолиенальная Т-клеточная лимфома  
ГНЦ — ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России  
ЖКБ — желчнокаменная болезнь  
ЗР — зрелые реаранжировки  
ИГХИ — иммуногистохимическое исследования

ИФИ — иммунофенотипическое исследование  
ИФН- $\alpha$  — интерферон- $\alpha$   
КМ — костный мозг  
ЛУ — лимфатические узлы  
ЛДГ — лактатдегидрогеназа  
МДС — миелодиспластический синдром  
ОВ — общая выживаемость  
ПЦР — полимеразная цепная реакция  
РР — ранние реаранжировки  
СЭ — спленэктомия  
ЩФ — щелочная фосфатаза  
TCR — Т-клеточный рецептор

TCRB — цепь  $\beta$  Т-клеточного рецептора  
TCRD — цепь  $\delta$  Т-клеточного рецептора

TCRG — цепь  $\gamma$  Т-клеточного рецептора

НК/Т-клеточные лимфомы — группа лимфопрлиферативных заболеваний, составляющая 10—15% всех неходжкинских лимфом [1]. За последнее десятилетие достигнуты значительные успехи в понимании патогенеза Т-клеточных лимфом, однако их диагностика представляет трудности. Прежде всего это связано с их редкостью и клинико-морфологическим разнообразием [2, 3]. Гепатолиенальная Т-клеточная лимфома (ГЛТЛ) — лимфопрлиферативное заболевание, характеризующееся преимущественным поражением печени, селезенки и костного мозга (КМ) [4]. Первое описание ГЛТЛ опубликовано в 1990 г. J. Faugt и соавт. [5], где представлены клинико-морфологические особенности лимфопрлиферативного процесса, протекающего с поражением печени, селезенки и КМ. Заболевание дебютировало с гепатоспленомегалии, тромбоцитопении. При морфологическом исследовании выявлены инфильтрация синусоид печени, селезенки и КМ Т-клетками CD3<sup>+</sup>/TCR $\gamma\delta$ . Несмотря на лечение, наблюдалось быстро прогрессирующее течение лимфомы.

Термин « $\gamma\delta$ -гепатолиенальная Т-клеточная лимфома» включен в качестве предварительной нозологической единицы в REAL-классификацию 1994 г. [6]. В последствии выявлен вариант  $\alpha\beta$ -заболевания, и в классификации ВОЗ от 2008 г. заболевание обозначено термином «гепатолиенальная Т-клеточная лимфома» [4].

Гепатолиенальная лимфома составляет лишь 1,4% среди зрелых НК/Т-клеточных лимфом [2]. Чаще заболевают молодые мужчины в возрасте около 40 лет [7]. Приблизительно в 10—20% случаев ГЛТЛ отмечается у больных с вторичным иммунодефицитным состоянием, связанным с трансплантацией солидных органов или гемопоэтических клеток, лечением других предшествовавших неоплазий, иммуносупрессивной терапией аутоиммунных заболеваний, перенесенной малярией [8—11].

Клиническая картина ГЛТЛ характеризуется гепатоспленомегалией, нарушением функции печени, анемией, тромбоцитопенией [12]. Преобладают жалобы на сильную слабость, лихорадку неправильного типа, ночную потливость, снижение массы тела, тяжесть или боли в левом и правом подреберьях. В гемограмме выявляются лейкопения, анемия, тромбоцитопения. В половине случаев обнаруживается повышение активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ). При выраженном поражении печени может наблюдаться нарушение белково-синтетической функции. Развитие ГЛТЛ обычно не ассоциировано с реактивацией вирусной инфекции [7]. Вовлечение КМ наблюдается у  $2/3$  пациентов, а лейкомизация опухолевого процесса обнаруживается в  $1/3$  случаев [13].

Диагноз ГЛТЛ устанавливают на основании исследования биоптата опухоли. Морфологическое исследование КМ выявляет опухолевую интерстициальную и/или интрасинусоидальную инфильтрацию атипичными лимфоидными клетками мелких, средних и крупных размеров с ядрами неправильной формы. В гистологических препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, опухоле-

вые клетки не всегда хорошо различимы среди клеток миелоидной ткани, их позволяет выявить иммуногистохимическое окрашивание. Опухолевые клетки экспрессируют CD2, CD3, CD56, некоторые цитотоксические молекулы TIA-1, гранзим М, обычно не экспрессируют ни CD4, ни CD8, а также отсутствуют CD5, CD7, перфорин и гранзим В. Экспрессия НК-клеточных маркеров CD16 и CD56 на поверхности опухолевых клеток переменна. Морфологическое исследование селезенки и печени выявляет инфильтрацию опухолевыми клетками красной пульпы селезенки и синусоид печени [14—15].

В зависимости от типа Т-клеточного рецептора (TCR) выделяют два основных варианта ГЛТЛ:  $\gamma\delta$  и  $\alpha\beta$ . В случаях варианта  $\gamma\delta$  ГЛТЛ наряду с перестройками генов цепей  $\delta$  и  $\gamma$  TCR (TCRD, TCRG) может обнаруживаться незавершенная или непродуктивная реаранжировка генов цепи  $\beta$  TCR (TCRB) [16, 17]. Несмотря на то что варианты  $\gamma\delta$  и  $\alpha\beta$  ГЛТЛ объединены в рамках одной нозологической единицы, они демонстрируют клинико-морфологические различия. Так, у молодых мужчин и пациентов с иммуносупрессией в анамнезе в 80% случаев диагностируется вариант  $\gamma\delta$ -заболевания. Опухолевые клетки при варианте  $\gamma\delta$  ГЛТЛ в большинстве случаев не экспрессируют антиген CD8, тогда как при варианте  $\alpha\beta$  он выявляется.

При цитогенетическом исследовании чаще наблюдаются аномалии 7-й хромосомы: изохромосома 7q или кольцевая 7-я хромосома, реже встречается трисомия 8-й хромосомы или потеря половых хромосом [18—20].

Клиническое течение ГЛТЛ в большинстве случаев агрессивное. Известно, что вариант  $\gamma$  ГЛТЛ характеризуется более агрессивным течением и крайне неблагоприятным прогнозом подобно другим Т-клеточным лимфомам  $\gamma\delta$ . Большинство пациентов умирают в течение 1 года, а 5-летняя общая выживаемость (ОВ) составляет лишь 7% [2].

Оптимальная тактика лечения больных с этим видом Т-клеточной лимфомы не разработана. Представленный в источниках литературы опыт по лечению ГЛТЛ крайне разнообразен, что обусловлено поиском наиболее эффективной комбинации противоопухолевых препаратов. Лечение с применением схем, содержащих антрациклины, малоэффективно, отмечаются кратковременность полных ремиссий, высокая частота ранних рецидивов. Кроме курсов, подобных СНОР, применялись платиносодержащие курсы, высокие дозы цитарабина, аналоги пурина (пентостатин), Hyper-CVAD/hdAra-C и hdMTX [13, 21, 22]. Наилучшие результаты достигнуты при проведении консолидирующей трансплантации аллогенных гемопоэтических кровяных клеток (алло-ТГСК) в первой полной ремиссии [7].

#### Контактная информация:

Чернова Наталья Геннадьевна — к.м.н., н.с.; 125167 Москва, Новый Зыковский пр-д, 4; тел.: +7(495)612-4810; e-mail: ngchernova@mail.ru

К факторам, ассоциированным с неблагоприятным прогнозом, относят мужской пол, отсутствие полной ремиссии заболевания после индукционной химиотерапии (ХТ), наличие иммуносупрессивной терапии в анамнезе, а также отсутствие реаранжировок генов цепи  $\gamma$  TCR [7, 8].

## Материалы и методы

**Пациенты.** Проведен ретроспективный анализ 18 пациентов (6 мужчин, 12 женщин) в возрасте от 24 до 76 лет, медиана 52 года с диагностированной ГЛТЛ в ФГБУ ГНЦ Минздрава России с 2005 по 2015 г. Клиническая характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Проанализированы клинические признаки, данные морфологического, иммунофенотипического и молекулярного исследований, а также эффективность индукционной терапии и общая выживаемость.

**Методы диагностики.** Всем больным проведено полное клинико-лабораторное обследование. Для патоморфологической верификации ГЛТЛ выполняли гистологическое и иммуногистохимическое исследования (ИГХИ) с расширенной панелью моноклональных антител (CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD16, CD56, TCR ( $\gamma$ ), TCR (bF1), Granzyme B, TIA-1, Ki-67).

Имунофенотипическое исследование (ИФИ) образцов КМ, периферической крови и селезенки методом многоцветной проточной цитометрии проводили на восьмичетветном проточном цитометре FACS Canto II («Becton Dickinson», США) или десятицветном проточном цитометре Navios («Beckman Coulter», США) с использованием реагентов производства фирм «Becton Dickinson», «BeckmanCoulter» и «Dako». Диагностические панели включали CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD16, CD19, CD45, CD56, CD57, TCR $\alpha$ b, TCRgd.

Оценку Т-клеточной клональности проводили по реаранжировкам генов *TCRD* (V $\delta$ -D $\delta$ , D $\delta$ -D $\delta$ , D $\delta$ -J $\delta$ , V $\delta$ -J $\delta$ ), *TCRG* (V $\gamma$ -J $\gamma$ ) и *TCRB* (V $\beta$ -J $\beta$ , D $\beta$ -J $\beta$ ). Для этого использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с мультиплексными системами праймеров BIOMED-2 [23] и последующий фрагментный анализ на секвенаторе ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer («Applied Biosystems», США). Флуоресценция амплификатов и их профиль (распределение по длинам) оценивали при помощи компьютерной программы GeneMapper v. 4.0 («Applied Biosystems», США).

Содержание иммуноглобулинов класса G, A, M, а также С-реактивного белка и  $\beta_2$ -микроглобулина в сыворотке крови определяли методом кинетической нефелометрии (нефелометр Immage 800, «Beckman Coulter», США).

При стандартном цитогенетическом исследовании клетки КМ, периферической крови и селезенки культивировали в питательной среде RPMI 1640 с добавлением 20% эмбриональной телячьей сыворотки, глутамина и антибиотиков 24 ч без и 72 ч с добавлением фитогемагглютина. G-дифференциальное окрашивание хромосом осуществляли с использованием краски Wright («Merck»). При возможности анализировали 20 метафаз. Кариотип описывали в соответствии с Международной номенклатурой хромосом человека ISCN, 2013 [24].

Эффективность противоопухолевого ответа определяли согласно международным критериям [25].

С лечебно-диагностической целью больным выполняли спленэктомию (СЭ) [26] и биопсию печени.

Анализ ОВ проведен по методу Каплана—Мейера. При расчете ОВ время отсчитывали от установки диагноза до летального исхода (или последней информации о больном). Различия при  $p < 0,05$  рассматривали как статистически значимые. Расчеты проводили с использованием лицензионного статистического пакета SAS 9.3 («SAS Institute Inc», Cary, NC, США).

## Результаты

В нашем исследовании у 11 (61%) из 18 больных первоначально установлены ошибочные диагнозы: миелодиспластический синдром (МДС) — у 3, волосатоклеточный

**Таблица 1.** Клинико-лабораторная характеристика обследованных больных

Клинико-лабораторный параметр	Абс. число	%
Всего	18	100
Медиана возраста, годы	52	
Соотношение м/ж	6/12	
В-симптомы	18	100
слабость	18	100
лихорадка более 38 °С	10	56
ночная потливость	15	83
потеря массы тела более 10%	6	33
Поражение КМ (морфологическое)	14	78
Гепатомегалия	18	100
Спленомегалия	18	100
Повышение активности ЛДГ	11	65
Повышение активности ЩФ	17	100
Повышение концентрации глобулинов	7	41
Анемия (гемоглобин ниже 120 г/л)	15	83
Тромбоцитопения (тромбоциты менее 100·10 <sup>9</sup> /л)	13	72
Лейкопения (лейкоциты менее 4·10 <sup>9</sup> /л)	14	78
Лейкоцитоз (лейкоциты более 9·10 <sup>9</sup> /л)	2	11
Гипербилирубинемия	10	59
Гипергаммаглобулинемия	11	61
IgA (норма 55—250), МЕ/мл	9	50
IgM (норма 60—405), МЕ/мл	2	11
IgG (норма 95—235), МЕ/мл	6	33
Положительная прямая проба Кумбса	2	25

лейкоз (ВКЛ) — у 3, хронический Т-клеточный лейкоз из больших гранулярных лимфоцитов (БГЛ) — у 3, периферическая Т-клеточная лимфома, неспецифицированная — у 1. Большинство пациентов поступали в клиники ГНЦ в крайне тяжелом состоянии, обусловленном распространенным опухолевым процессом с выраженными В-симптомами, иммунными осложнениями и инфекционными заболеваниями.

В табл. 1 представлена клинико-лабораторная характеристика обследованных больных. В большинстве случаев они предъявляли жалобы на постоянные боли в левом подреберье, а в 14 случаях при ультразвуковом исследовании выявлены инфаркты селезенки.

У всех пациентов выявлена гепатоспленомегалия, размеры селезенки варьировали от 14 см до гигантских (25 см и более). Вовлечения периферических лимфатических узлов (ЛУ) не отмечено, а в 8 (44%) случаях выявлялось незначительное увеличение размеров регионарных ЛУ в воротах печени и селезенки.

При анализе сопутствующей патологии выявлено 2 случая ревматоидного артрита, для лечения которого длительно применялась иммуносупрессивная терапия метотрексатом, у 1 больного хронический вирусный гепатит С, у 6 желчнокаменная болезнь (ЖКБ). Ни один пациент не являлся реципиентом солидных органов или гемопоэтических клеток.

Изменения гемограммы отмечались у всех больных: анемия (гемоглобин менее 120 г/л) у 15 (83%), лейкопения (количество лейкоцитов менее 4·10<sup>9</sup>/л) у 14 (78%), тромбо-

Таблица 2. Результаты ИГХИ селезенки

№	CD2	CD3ε	CD4	CD5	CD7	CD8	CD16	CD56	CD57	TIA-1	Granzyme B	Ki67,%	TCR (γ)	bF1	Вариант TCR
1	н/д	+	—	—	—	—	—	+	—	+	—	20	н/д	—	γδ
2	+	+	+	—	+	—	+	н/д	—	—	н/д	10	н/д	н/д	н/д
3	н/д	+	—	н/д	н/д	+	—	н/д	+	+	н/д	н/д	н/д	+	αβ
4	н/д	+	—	—	+	+	н/д	+	н/д	+	н/д	н/д	н/д	+	αβ
5	+	+	—	—	н/д	—	+	н/д	—	—	—	н/д	н/д	—	γδ
6	—	+	—	—	—	—	н/д	н/д	н/д	—	—	мало	н/д	н/д	н/д
7	+	+	—	—	+	—	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	мало	н/д	н/д	н/д
8*	н/д	+	—	—	+	+	н/д	н/д	н/д	+	—	н/д	н/д	н/д	αβ**
9	+	+	+	+	+	—	н/д	н/д	н/д	+	н/д	н/д	н/д	+	αβ
10	+	+	—	—	н/д	—	+	—	—	—	—	10	н/д	н/д	н/д
11	+	+	—	—	+	+	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
12	+	+	—	—	—	—	н/д	—	н/д	+	—	н/д	н/д	—	γδ
13	+	+	—	—	+	+	—	—	н/д	—	—	н/д	+	—	γδ
14	+	+	—	н/д	+	+	—	—	н/д	н/д	н/д	30	н/д	н/д	н/д
15	+	+	+	н/д	н/д	—	н/д	—	н/д	+	+	н/д	н/д	+	αβ
16	н/д	+	—	—	+	—	—	—	—	+	—	н/д	—	+	αβ
17	н/д	+	—	—	н/д	—	—	—	—	+	—	20	—	+	αβ
18	н/д	+	—	—	+	—	—	+	—	+	+	20	н/д	+	αβ

Примечание. \* — СЭ не выполнялась, представлены данные ИГХИ КМ; \*\* — вариант αβ верифицирован по данным проточной цитометрии; здесь и в табл. 3—5: н/д — нет данных.

цитопения (количество тромбоцитов менее  $100 \cdot 10^9/\text{л}$ ) у 13 (72%). В биохимическом анализе крови повышение активности ЛДГ обнаружено у 65% больных, щелочной фосфатазы (ЩФ) у 100%. Признаки внутрисосудистого гемолиза (гипербилирубинемия за счет непрямої фракции, ретикулоцитоз, выявление антиэритроцитарных антител) наблюдались у 14 из 18 пациентов. Гипербилирубинемия за счет непрямої фракции выявлена в 10 (59%) из 18 случаев, ретикулоцитоз в 9 (90%) из 10, прямая проба Кумбса выполнена в 8 случаях, в 2 получен положительный результат.

Во всех случаях выполнено цитологическое исследование пунктата КМ и мазков периферической крови. В половине случаев опухолевые лимфоциты были крупнее обычных, около 16—18 мкм, с округлым или плеоморфным ядром, омоложенной структурой хроматина, содержащим одну или несколько нуклеол, с неровным краем базофильной цитоплазмы (рис. 1 см. на цв. вклейке). Ни в одном случае не обнаружено лимфоцитов с крупными азурофильными гранулами, характерными для хронического Т-клеточного лейкоза из больших гранулярных лимфоцитов, в ряде случаев в лимфоидных клетках выявляли мелкую азурофильную зернистость.

Гистологическое исследование трепанобиоптата КМ проведено всем больным, специфическое поражение КМ выявлено только в 14 (78%) случаях (рис. 2, а, б см. на цв. вклейке).

СЭ и биопсию печени выполнили у 17 из 18 пациентов. Гистологическое исследование биоптатов селезенки позволило выявить стертость архитектоники строения за счет лимфоидной инфильтрации красной пульпы, множественные крупноочаговые разрастания опухолевых клеток средних и крупных размеров с ядрами округло-овальной или неправильной формы. При гистологическом исследовании биоптатов печени в синусоидных ка-

пиллярах выявлялась лимфоидноклеточная инфильтрация (рис. 2, в, г см. на цв. вклейке).

ИГХИ с применением расширенной панели моноклональных антител позволило верифицировать иммунофенотип и вариант TCR опухолевых клеток. Данные ИГХИ представлены в табл. 2.

Во всех случаях наблюдалась экспрессия маркера CD3ε, экспрессия других кластеров дифференцировки варьировала. У 3 больных отмечена экспрессия CD4, в 6 случаях опухолевые клетки демонстрировали CD8-позитивный иммунофенотип, в остальных 9 случаях экспрессия маркеров CD4, CD8 не наблюдалась. Определение варианта ГЛТЛ проведено в 12 случаях, у 8 (67%) больных выявлен вариант αβ ГЛТЛ, у 4 (33%) — γδ. Экспрессия Ki67 варьировала от 5 до 30%.

ИФИ клеток КМ, периферической крови, селезенки методом проточной цитометрии выполнено у 14 из 18 пациентов. Основными показаниями к проведению проточной цитометрии служили верификация распространенности процесса и иммунофенотипическая характеристика опухолевых клеток. При исследовании экспрессии маркеров CD2, CD5, CD7 наблюдалась ее гетерогенность. В 2 случаях наряду с популяцией CD4-/CD8<sup>+</sup> опухолевых клеток выявлен клон с коэкспрессией CD4/CD8, составляющий 17 и 25% от общего числа Т-лимфоцитов. Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови проведено у 5 пациентов, в 4 случаях верифицирована лейкоэмизация опухолевого процесса.

Определение Т-клеточной клональности методом ПЦР проведено у 16 из 18 пациентов. Моноклональность Т-лимфоцитов по реаранжировкам генов цепей TCR выявлена во всех 16 исследованных случаях (табл. 3).

Молекулярное исследование реаранжировок генов TCRG проведено в 14 образцах периферической крови больных ГЛТЛ, в 10 (71%) случаях выявлена монокло-

Таблица 3. Исследование Т-клеточной клональности по реаранжировкам генов *TCRD*, *TCRG* и *TCRB*

№	TCRG					TCRB (полные реаранжировки Vβ-Jβ и неполные реаранжировки Dβ-Jβ)					Рearанжировки	Вариант <i>TCR</i> **	
	TCRD селезенка		TCRG селезенка		TCRB селезенка	TCRD кровь		TCRG кровь		TCRB кровь			
	печень	селезенка	селезенка	кровь	КМ	селезенка	селезенка	селезенка	селезенка	селезенка			КМ
1*	Моно	Моно	Моно	н/д	Моно	Моно	Моно	н/д	Моно	н/д	Vβ-Jβ моно Dβ-Jβ моно	PP	γδ
2	Поли	моно	моно	н/д	моно	моно	моно	н/д	моно	н/д	Vβ-Jβ моно Dβ-Jβ моно	ЗР	н/д
3*	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	н/д	Vβ-Jβ моно Dβ-Jβ моно	PP	αβ
4	Поли	Моно	Моно	н/д	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	Vβ-Jβ моно Dβ-Jβ моно	Vβ-Jβ моно Dβ-Jβ моно	ЗР	αβ
5*	Моно	Поли	Поли	Поли	Поли	Поли	Поли	Поли	Поли	н/д	Поли	PP	γδ
6	Поли	Моно	Моно	н/д	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	н/д	Vβ-Jβ моно Dβ-Jβ моно	ЗР	н/д
7*	Моно	Моно	Олиго	н/д	Олиго	Олиго	Олиго	Олиго	Олиго	н/д	Vβ-Jβ моно Dβ-Jβ моно	PP	н/д
8*	Моно (км)	н/д	без с/э	н/д	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	Поли	Поли	PP	αβ
9	Поли	Моно	Моно	н/д	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	н/д	Vβ-Jβ моно Dβ-Jβ моно	ЗР	αβ
10*	моно	моно	моно	н/д	моно	моно	моно	моно	моно	н/д	Vβ-Jβ моно Dβ-Jβ моно	PP	н/д
11	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	ЗР	н/д
12*	Поли	Поли	Поли	н/д	Поли	Поли	Поли	Поли	Поли	Vβ-Jβ поли Dβ-Jβ моно	Vβ-Jβ поли Dβ-Jβ моно	PP	γδ
13*	Поли	Моно	Моно	н/д	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	н/д	Vβ-Jβ поли Dβ-Jβ моно	PP	γδ
14	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	ЗР	н/д
15	Поли	Моно	Моно	н/д	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	н/д	Vβ-Jβ моно Dβ-Jβ моно	ЗР	αβ
16	Поли	Моно	Моно	н/д	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	н/д	Vβ-Jβ моно Dβ-Jβ моно	ЗР	αβ
17	Поли	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	н/д	Vβ-Jβ моно Dβ-Jβ моно	ЗР	αβ
18*	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	Моно	Vβ-Jβ моно Dβ-Jβ моно	Vβ-Jβ моно Dβ-Jβ моно	PP	αβ

Примечание. КМ — костный мозг; моно — выявлена моноклональная картина; поли — моноклон не выявлен, поликлональная картина; без с/э — без СЭ; PP — ранние реаранжировки; ЗР — зрелые реаранжировки. \* — пациенты с ранним спектром клональных реаранжировок, характерным для Т-клеточных лимфом γδ (обнаружена клональная реаранжировка генов *TCRD* и/или отсутствует полная (Vβ-Jβ) клональная реаранжировка генов *TCRB*); \*\* — вариант *TCR* установлен по данным ИГХИ/ИФИ.

Таблица 4. Стандартное цитогенетическое исследование клеток периферической крови, КМ, селезенки

№	КМ	Периферическая кровь	Селезенка
1	47,XY, +21[3]/46,XY[14]	Митозов нет	н/д
2	н/д	н/д	н/д
3	46,XY[20]	н/д	Митозов нет
4	46,XX[20]	н/д	н/д
5	46,XY[18]	н/д	Митозов нет
6	н/д	н/д	н/д
7	46,XX[20]	н/д	н/д
8	46,XY[20]	н/д	н/д
9	н/д	н/д	н/д
10	46,XX[20]	н/д	н/д
11	н/д	46,XY[20]	н/д
12	н/д	н/д	н/д
13	н/д	н/д	46,XX[20]
14	н/д	н/д	н/д
15	Митозов нет	46,XX,t(6;15)(q21;q24-25)[20]	46,XX,t(6;15)(q21;q24-25)[17]/ 47,idem,+8[3]
16	н/д	н/д	Митозов нет
17	н/д	н/д	46,XY,add(19)(?q13)[3]/47,XY,+mar1[4]/47,XY,+mar2[1]/46,XY[12]
18	46,XX[20]	н/д	Митозов нет

нальная картина, свидетельствующая о персистенции опухолевого клона в периферической крови, т.е. лейкемизации. Клональные реаранжировки генов *TCRD* выявлены у 7 из 16 обследованных пациентов (у 6 в селезенке и у 1 в КМ). У 3 пациентов обнаружены отличия клональных продуктов генов *TCRB* в селезенке и КМ, что демонстрирует наличие нескольких опухолевых клонов у данных пациентов. В 3 из 4 случаев выявлены молекулярные маркеры вовлечения КМ в отсутствие морфологических признаков.

Иммунохимическое исследование белков сыворотки крови у 11 (61%) больных выявило увеличение количества иммуноглобулинов хотя бы одного класса: IgG (норма 95—235 МЕ/мл) в 6 (33%), IgA (норма 55—250 МЕ/мл) в 9 (50%), IgM (норма 55—250 МЕ/мл) в 2 (11%) случаях. Данные иммунохимического анализа представлены в табл. 1. Увеличение количества циркулирующих иммунных комплексов отмечено у 6 (60%) из 10 пациентов, а у 7 из 8 пациентов — увеличение концентрации  $\beta_2$ -микроглобулина, у 7 (70%) из 10 пациентов — С-реактивного белка.

Стандартное цитогенетическое исследование клеток КМ, периферической крови и селезенки выполнено у 13 из 18 больных, данные представлены в табл. 4.

Нарушений кариотипа не выявлено в 9 случаях, в одном случае не обнаружено делящихся клеток. В 3 случаях выявлены клональные хромосомные aberrации: у одного больного в клетках КМ обнаружена трисомия 21-й хромосомы; у второго больного в клетках крови выявлена t(6;15)(q21;q24—25), а в клетках селезенки та же транслокация в основном клоне и трисомия 8-й хромосомы в субклоне; в третьем случае в клетках селезенки наблюдались два клон с дериватом 19-й хромосомы и дополнительной маркерной хромосомой, в одной метафазе обнаружена другая дополнительная маркерная хромосома.

**Лечение.** Больным в исследуемой группе проведено лечение по различным протоколам, данные представлены в табл. 5.

У 13 из 18 пациентов до начала ХТ выполнена СЭ. Операцию проводили с целью уменьшения опухолевой массы, купирования иммунных нарушений, коррекции цитопении и уточнения диагноза. Масса удаленных селезенки составила в среднем 1950 (700—4500) г. В послеоперационном периоде у всех больных отмечалось восстановление показателей периферической крови. В некоторых случаях наблюдался аспленический тромбоцитоз до  $1500 \cdot 10^9/\text{л}$ . В 4 случаях СЭ проведена с диагностической целью после неэффективного цитостатического лечения по поводу ошибочно установленных других видов гемобластозов. Следует отметить, что один из этих 4 пациентов получал лечение от предполагаемого волосатоклеточного лейкоза интерфероном- $\alpha$  (ИФН- $\alpha$ ) и кладрибином в течение 10 лет до верификации диагноза варианта  $\alpha\beta$  ГЛТЛ.

В одном случае СЭ не проводилась, диагноз варианта  $\alpha\beta$  ГЛТЛ верифицирован по биоптату КМ. Принимая во внимание тяжесть состояния больной, обусловленную выраженными В-симптомами, гепатоспленомегалией, анемией до 70 г/л, лейкопенией менее  $1 \cdot 10^9/\text{л}$ , пожилой возраст — 76 лет, высокий риск развития пневмонии в раннем послеоперационном периоде, операцию отложили и назначили лечение ИФН- $\alpha$  в дозе 3 млн ЕД 3 раза в неделю. В результате лечения состояние больной постепенно улучшалось. При обследовании через 12 мес постоянно улучшалось. При обследовании через 12 мес постоянной терапии ИФН- $\alpha$  отмечены нормализация размеров селезенки, регрессия лимфоидной инфильтрации в биоптате КМ, восстановление количества лейкоцитов, гемоглобина. Методом ПЦР с последующим проведением капиллярного электрофореза, Т-клеточной клональности по реаранжировкам генов *TCRG* в образцах крови и КМ не выявлено. Несмотря на достижение клинико-гематологической ремиссии, пациентка продолжает лечение ИФН- $\alpha$ , срок наблюдения на момент написания статьи составляет 15 мес.

Шести пациентам с вариантами  $\alpha\beta$  и  $\gamma\delta$  ГЛТЛ проведена короткоимпульсная ХТ: СНОР (циклофосфамид,

Таблица 5. Лечение

№	Терапия первого ряда	Результат	Продолжительность ПР/ЧР, мес	Продолжительность жизни после установления диагноза ГЛТЛ, мес	Вариант TCR	Статус
1	Поддерживающие курсы протокола ОЛЛ, 2009 №6 ld МП, ld MTX, метилпреднизолон	ПР	8	26	γδ	Умер
2	ОЛЛ, 2009	ПР	13	26	н/д	Умер
3	Пульс-терапия глюкокортикостероидами	ЧР	10	18	αβ	Жив
4	Преднизолон	На лечении		5	αβ	Жива
5	ld MTX ИФН-α	ЧР	7	9	γδ	Умер
6	А-СНОР №6 ld МП, ld MTX, ldЦф	ЧР	24	31	н/д	Умерла
7	Алемтузумаб ld МП, ld MTX, ldЦф	ПР	14	56	н/д	Умерла
8	ИФН-α	ЧР, на лечении	12	15	αβ	Жива
9	СНОР №2	Прогрессия		3	αβ	Умерла
10	СНОР №2	Прогрессия		3	н/д	Умерла
11	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
12	ldЦф	ЧР	22	24	γδ	Умерла
13	Кладрибин Преднизолон	Прогрессия		2	γδ	Умерла
14	А-СНОР №2 ld МП, ld MTX, ldЦф	Прогрессия		36	н/д	Умерла
15	Кладрибин, СОР ИФН-α, ldЦф	ЧР	8	11	αβ	Умерла
16	НурекСVAD/hdAra-C и hdMTX	Прогрессия		2	αβ	Жива
17	ИФН-α	ЧР	12	18	αβ	Жив
18*	G MALL	ЧР	2	24	αβ	Жива

*Примечание.* СНОР (циклофосфамид, винкристин, преднизолон, адриамицин), А-СНОР (СНОР с алемтузумабом), СОР (циклофосфамид, винкристин, преднизолон), НурекСVAD (циклофосфамид, винкристин, адриамицин, дексаметазон)/hdAra-C (высокие дозы цитарабина) и hdMTX (высокие дозы метотрексата), ОЛЛ, 2009, G MALL — программы терапии острых лимфобластных лейкозов. ЧР — частичная ремиссия; ПР — полная ремиссия; \* — проведена трансплантация аллогенных гемопоэтических клеток.

винкристин, преднизолон, адриамицин), А-СНОР (СНОР с алемтузумабом), СОР (циклофосфамид, винкристин, преднизолон), НурекСVAD (циклофосфамид, винкристин, адриамицин, дексаметазон)/hdAra-C (высокие дозы цитарабина) и hdMTX (высокие дозы метотрексата). Однако ни в одном случае не получено клинико-гематологической ремиссии заболевания. Трём пациентам 44, 55, 65 лет назначена терапия по программам ОЛЛ, 2009 [27] и G MALL [28]. Эти химиотерапевтические режимы, успешно применяемые для лечения острых лимфобластных лейкозов, предполагают длительное неинтенсивное цитостатическое воздействие. У пациентки 44 лет с вариантом αβ ГЛТЛ в результате терапии по программе G MALL получена клинико-гематологическая ремиссия заболевания. С консолидирующей целью проведена высокодозная ХТ по программе ВЕАМ с трансплантацией аутологичных гемопоэтических клеток. Однако через 2 мес появилась и стала прогрессировать цитопения, при молекулярном исследовании выявлены наблюдаемые в дебюте заболевания клональные реаранжировки генов *TCRG* и *TCRB*. Пациентке проведена трансплантация аллогенного КМ (алло-ТКМ) от родственного донора, в результате чего достигнута полная ремиссия заболевания. На момент написания

статьи продолжительность наблюдения после алло-ТКМ составляет 12 мес, признаков рецидива заболевания нет. Пациент 55 лет с не уточненным вариантом ГЛТЛ, получавший терапию по программе ОЛЛ, 2009, умер от инфекционных осложнений вне прогрессирования лимфомы. У пациента 65 лет с вариантом γδ ГЛТЛ получена полная ремиссия в результате проведения 6 поддерживающих курсов по протоколу ОЛЛ, 2009. После завершения лечения в биоптате КМ наблюдалась регрессия опухолевой инфильтрации КМ, при молекулярном исследовании образцов КМ не выявлялись наблюдаемые ранее клональные реаранжировки генов *TCRG*. Продолжительность ремиссии составила 8 мес, впоследствии развился генерализованный рецидив с гепатомегалией, тромбоцитопенией и лейкемизацией опухолевого процесса. Учитывая возраст пациента, наличие сопутствующего заболевания сердца, сахарного диабета, назначили длительную терапию малыми дозами цитостатических препаратов, позволившую добиться стабилизации заболевания и продлить жизнь на 13 мес.

Длительная терапия малыми дозами цитостатических препаратов предполагает применение меркаптопурина 50 мг ежедневно, циклофосфамида 50 мг ежедневно, метотрек-

сата 50 мг еженедельно в качестве моно- или комбинированной терапии. Длительная терапия малыми дозами цитостатических препаратов применена у 7 больных с вариантами  $\alpha\beta$  и  $\gamma\delta$  ГЛТЛ и эффективна как в качестве индукционного лечения, так и при прогрессировании ГЛТЛ после короткоимпульсной терапии. Например, длительная терапия циклофосфамидом 50 мг ежедневно успешно проводилась пациентке 51 года с вариантом  $\gamma\delta$  ГЛТЛ и позволила достигнуть частичной ремиссии продолжительностью 22 мес. Однако полной эрадикации опухолевого клона на фоне длительной терапии малыми дозами цитостатических препаратов не достигнуто ни в одном случае. Необходимо отметить меньшее число инфекционных и токсических осложнений длительной терапии малыми дозами цитостатических препаратов, чем короткоимпульсной интенсивной терапии.

При анализе ОВ учтены данные только 17 больных, не учтены данные 1 больного в связи с отсутствием дальнейшего контакта. Трехлетняя ОВ для исследуемой группы больных ГЛТЛ составила 12% (10%), медиана продолжительности жизни — 26 мес (медиана периода наблюдения 18 мес), для вариантов  $\gamma\delta$  и  $\alpha\beta$  ГЛТЛ двухлетняя ОВ составила 25% (17%) и 70% (15%) соответственно. Различие ОВ вариантов ГЛТЛ не достигало статистической значимости, возможно, в силу недостаточного размера выборки (рис. 3).

Таким образом, короткоимпульсная ХТ по программам CHOP, A-CHOP, COP, HyperCVAD/hdAra-C и hdMTX показывает низкую эффективность при лечении ГЛТЛ. Длительная терапия ИФН- $\alpha$  и малыми дозами цитостатических препаратов, обеспечивающая постоянное противоопухолевое воздействие, показывает свое преимущество перед короткоимпульсной интенсивной терапией и позволяет добиться улучшения общего состояния, регрессии клинических симптомов, нормализации лабораторных показателей и может быть применена в качестве индукционной терапии у больных ГЛТЛ. Однако достижения продолжительной полной ремиссии при длительной терапии ИФН- $\alpha$  и малыми дозами цитостатических препаратов не отмечено. Пациентам молодого возраста при достижении первой клинико-гематологической ремиссии заболевания при наличии сиблинга и в отсутствие тяжелой соматической патологии показана алло-ТКМ.

## Обсуждение

В данной работе обобщен десятилетний опыт по диагностике и лечению больных ГЛТЛ в ФГБУ ГГЦ Минздрава России. Несмотря на то что ГЛТЛ отграничена как самостоятельная нозологическая единица более 20 лет назад, диагностика до сих пор представляет трудности, а оптимальная терапия не разработана. Большинство больных поступали с различными направительными диагнозами, что обусловлено наличием у больных ГЛТЛ неспецифических клинических симптомов и лабораторных признаков, наблюдающихся при других гематологических заболеваниях и реактивных состояниях. В процессе обследования и верификации диагноза ГЛТЛ проводилась дифференциальная диагностика с хроническим Т-клеточным лейкозом из больших гранулярных лимфоцитов [29], миелодиспластическим синдромом, волосатоклеточным лейкозом [30], В-клеточной лимфомой селезенки [31, 32]. При установлении линейной принадлежности опухолевых

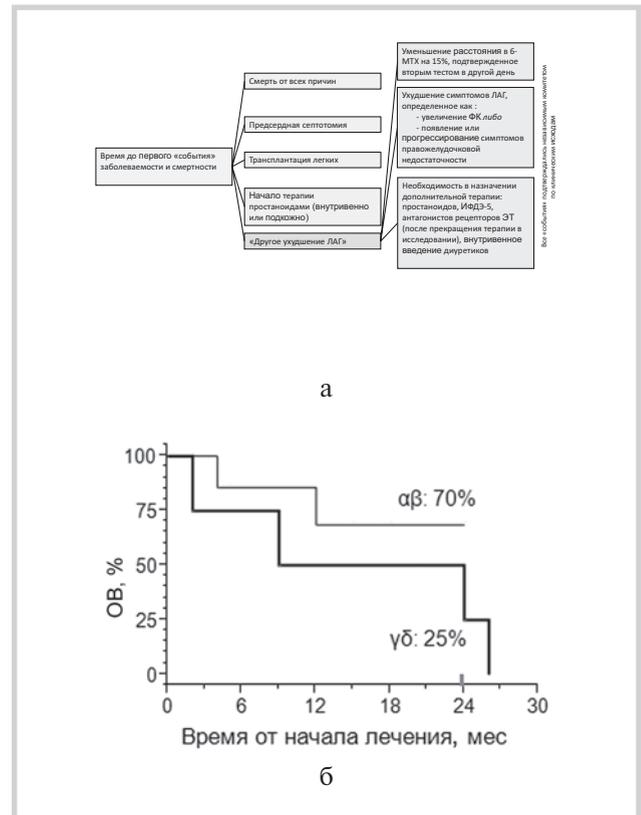


Рис. 3. Трехлетняя ОВ 17 больных ГЛТЛ в целом (а) и двухлетняя ОВ в зависимости от варианта ТСР:  $\alpha\beta$  ( $n=8$ ) и  $\gamma\delta$  ( $n=4$ ) (б).

клеток дифференциальная диагностика с МДС, ВКЛ, В-клеточными лимфомами селезенки не представляла особых трудностей. Наиболее сложно разграничить хронический Т-клеточный лейкоз из БГЛ и позитивные по CD8 варианты ГЛТЛ. Ранее ряд исследователей относил позитивные по CD8 случаи ГЛТЛ к хроническому Т-клеточному лейкозу из БГЛ, но отмечали отсутствие крупных азурофильных гранул в опухолевых клетках, большие размеры селезенки, более агрессивное клиническое течение [29]. В зарубежной литературе представлены описания случаев Т-клеточной лимфомы, занимающей по своим клинико-морфологическим характеристикам промежуточное положение между хроническим Т-клеточным лейкозом из БГЛ и ГЛТЛ. Заболевание манифестировало с В-симптомов, выраженной гепатоспленомегалии, лейкокемизации опухолевого процесса. Авторами отмечена низкая эффективность цитостатического лечения [33].

Некоторые случаи позитивной по CD8 ГЛТЛ необходимо дифференцировать от реактивного лимфоцитоза, наблюдающегося при активной вирусной инфекции, в частности при реактивации эндогенных герпесвирусов. Комплексное клиническое обследование, включающее тестирование на расширенный спектр вирусных маркеров, позволяет в этих случаях провести дифференциальную диагностику между опухолевым и реактивным процессами либо констатировать их сочетание [34]. Ассоциация ГЛТЛ с реактивацией вирусной инфекции наблюда-

ется редко, в литературе описаны единичные случаи выявления реактивации вирусной инфекции в дебюте ГЛТЛ преимущественно у больных с иммуносупрессией в анамнезе [35].

В большинстве представленных нами случаев ГЛТЛ мы наблюдали иммунофенотип  $CD3^+CD4^-CD8^-$  опухолевых клеток, в 3 случаях выявлены опухолевые клоны  $CD3^+CD4^+CD8^-$ , а в 6 случаях —  $CD3^+CD4^-CD8^+$ . По представленным клинико-морфологическим данным 15 больных ГЛТЛ из MD Anderson Cancer Center у 3 наблюдалась экспрессия антигена CD4, а у 2 иммунофенотип  $CD4^+CD8^+$  опухолевых клеток [7]. Представленные нами иммунофенотипические характеристики ГЛТЛ свидетельствуют о гетерогенности этой Т-клеточной лимфомы.

Считается, что ГЛТЛ характеризуется агрессивным клиническим течением, однако при ИГХИ биоптатов селезенки уровень Ki-67, отражающий пролиферативный потенциал, варьировал от 5 до 30%. Следует отметить выявления у 6 больных ЖКБ. По всей вероятности это тенденция, а не случайное совпадение: у этих 6 пациентов выявлены признаки внутрисосудистого гемолиза с гипербилирубинемией за счет непрямого фракции. Мы полагаем, что развитие ЖКБ является следствием длительно персистирующего гемолиза. Учитывая изложенное, низкий лимфопролиферативный потенциал, сопутствующую ЖКБ, значительные размеры селезенки, можно предположить, что некоторые случаи ГЛТЛ имеют индолентное течение. Клиническая симптоматика появляется при накоплении большой опухолевой массы, прогрессировании явлений гиперспленизма, появления иммунных нарушений, сопровождающихся гемолитической анемией.

ПЦР-диагностика клональных реаранжировок генов *TCRD* является важным маркером при диагностике ГЛТЛ, так как определяет степень зрелости опухолевых клеток. При созревании Т-лимфоцита в норме реаранжировки генов цепей TCR проходят последовательно: сначала рестраивается locus генов *TCRD*, затем проходят реаранжировки генов *TCRG* и неполные реаранжировки генов *TCRB* ( $D\beta-J\beta$ ), а уже несколько позже происходят полные реаранжировки генов *TCRB* ( $V\beta-J\beta$ ) и реаранжировки генов локуса  $\alpha$  TCR ( $V\alpha-J\alpha$ ) [23]. Так как гены *TCRD* располагаются внутри локуса  $\alpha$  TCR, то они вырезаются при реаранжировках генов цепи  $\alpha$  TCR. Спектр наблюдаемых при лимфомах клональных реаранжировок можно разделить на ранние (РР), свойственные  $\gamma\delta$  Т-клеточным лимфомам и более зрелые (ЗР), характерные для  $\alpha\beta$  Т-клеточных лимфом. Если в опухоли обнаруживают клональные продукты локусов *TCRD*, *TCRG*, неполные  $D\beta-J\beta$  реаранжировки, и отсутствуют полные  $V\beta-J\beta$  реаранжировки генов *TCRB*, то это свидетельствует о раннем характере реаранжировок. Среди обследованных 16 пациентов у 9 обнаружен ранний спектр реаранжировок (либо имелась клональная реаранжировка генов *TCRD*, либо отсутствовала полная реаранжировка генов *TCRB*) (см.

табл. 3). По данным ИГХИ и ИФИ вариант  $\gamma\delta$  ГЛТЛ подтвержден у 4, а вариант  $\alpha\beta$  — у 8 больных. Однако в 3 случаях (больные №3, 8, 18) наблюдали несоответствие данных иммунофенотипирования и молекулярных методов, т.е. при ИГХИ диагностирован вариант  $\alpha\beta$  опухоли в селезенке, а молекулярное исследование выявило ранние реаранжировки. Возможно, минорный клон клеток  $\gamma\delta$  не определяется при ИГХИ на фоне большого количества лимфоцитов  $\alpha\beta$ . Гены *TCRD* расположены в одном локусе с генами цепи  $\alpha$  TCR. В процессе созревания лимфоцитов происходит вырезание генов цепи  $\delta$  и Т-лимфоциты  $\alpha\beta$  не несут перестроек генов *TCRD*. Поэтому с помощью молекулярного метода мы с высокой чувствительностью ( $10^{-3}$ , т.е. 1 клональная Т-клетка  $\gamma\delta$  на 1000 Т-лимфоцитов  $\alpha\beta$ ) можем обнаружить даже минорный Т-клеточный клон  $\gamma\delta$  (см. табл. 3).

Молекулярное исследование реаранжировок генов *TCRD*, *TCRG* и *TCRB* является важным звеном в диагностике ГЛТЛ, оно позволяет верифицировать вариант заболевания, распространенность опухолевого процесса, а также осуществлять оценку минимальной резидуальной болезни во время лечения.

Необходимость ИФИ клеток КМ, периферической крови, селезенки с помощью проточной цитометрии не вызывает сомнений. Оно позволяет комплексно исследовать иммунофенотипические особенности опухолевого клона, верифицировать вовлечение КМ, выявлять лейкомизацию опухолевого процесса.

## Заключение

ГЛТЛ — гетерогенная группа заболеваний, обуславливающая необходимость комплексного обследования для дифференциальной диагностики с другими гематологическими заболеваниями и реактивными состояниями, протекающими со сходными клинико-лабораторными симптомами.

В соответствии с собственным опытом и данными зарубежных коллег нам представляется целесообразным проводить до начала противоопухолевого воздействия лечебно-диагностическую СЭ, позволяющую уменьшить объем опухолевой массы, восстановить показатели гемограммы, купировать иммунные нарушения и улучшить соматический статус больного. В качестве индукционной терапии может быть применена длительная терапия ИФН- $\alpha$ , малыми дозами цитостатических препаратов. Молодым пациентам, достигшим первой полной ремиссии в отсутствие тяжелой сопутствующей патологии, должна быть рекомендована высокодозная химиотерапия с трансплантацией аутологичных гемопоэтических клеток, а при наличии сиблинга — алло-ТГСК.

**Конфликт интересов отсутствует.**

## ЛИТЕРАТУРА

1. O'Leary HM, Savage KJ. Update on the World Health Organization classification of peripheral T-cell lymphomas. *Curr Hematol Malign Rep.* 2009;4(4):227-235. doi:10.1007/s11899-009-0030-5
2. Vose J, Armitage J, Weisenburger D. International peripheral T-cell and natural killer/T-cell lymphoma study: pathology findings and clinical outcomes. *J Clin Oncol.* 2008;26(25):4124-4130. doi:10.1200/JCO.2008.16.4558

3. Виноградова Ю.Е., Луценко И.Н., Кременецкая А.М., Капланская И.Б., Самойлова Р.С., Шкловский-Корди Н.Е., Гилязитдинова Е.А., Губкин А.В., Джулакян У.Л., Марголин О.В., Марьян Д.С., Чернова Н.Г., Кравченко С.К. Структура Т/НК-клеточных лимфатических опухолей в Гематологическом научном центре РАМН. *Проблемы гематологии и переливания крови*. 2005;4:30-34.
4. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. *WHO classification of tumor of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon: IARC; 2008:292-293.
5. Farcet JP, Gaulard P, Marolleau JP, Le Couedic JP, Henni T, Gourdin MF, Divine M, Haioun C, Zafrani S, Goossens M, 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.
6. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JKC, Cleary ML, Delsol G, Wolf-Peters CD, Falini B, Gatter KC, Grogan TM, Isaacson PG, Knowles DM, Mason DJ, Muller-Hermelink HK, Pileri SA, Piris MA, Ralfkiaer E, Warnke RA. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International lymphoma Study Group. *Blood*. 1994;84:1361-1392.
7. Falchook GS, Vega F, Dang NH, Samaniego F, Rodriguez MA, Champlin RE, Hosing C, Verstovsek S, Pro B. Hepatosplenic gamma-delta T-cell lymphoma: clinicopathological features and treatment. *Ann Oncol*. 2009;20(6):1080-1085.  
doi:10.1093/annonc/mdn751
8. Roschewski M, Wilson WH. Biology and management of rare primary extranodal T-cell lymphomas. *Oncology (Williston Park)*. 2010;24(1):94-100.
9. Hassan R, Franco SA, Stefanoff CG, Romano SO, Diamond HR, Franco LG, Seuáñez HN, Zalcborg IR. Hepatosplenic gamma-delta T-cell lymphoma following seven malaria infections. *Pathol Int*. 2006;56:668-673.
10. Thayu M, Markowitz JE, Mamula P, Russo PA, Muinos WI, Baldassano RN. Hepatosplenic T-cell lymphoma in an adolescent patient after immunomodulator and biologic therapy for Crohndisease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;40:220-222.
11. Wu H, Wasik MA, Przybylski G, Finan J, Haynes B, Moore H, Leonard DG, Montone KT, Naji A, Nowell PC, Kamoun M, Tomaszewski JE, Salhany KE. Hepatosplenic gamma-delta T-cell lymphoma as a late-onset posttransplant lymphoproliferative disorder in renal transplant recipients. *Am J Clin Pathol*. 2000;113:487-496.
12. Chang KL, Arber DA. Hepatosplenic gd T-cell lymphoma — not just alphabet soup. *Adv Anat Pathol*. 1998;5:21-29.
13. Weidmann E. Hepatosplenic T cell lymphoma. A review on 45 cases since the first report describing the disease as a distinct lymphoma entity in 1990. *Leukemia*. 2000;14(6):991-997.
14. Lu CL, Tang Y, Yang QP, Wang M, Zhao S, Bi CF, Jiang NG, Zhang WY, Liu JP, Xu X, Liu WP. Hepatosplenic T-cell lymphoma: clinicopathologic, immunophenotypic, and molecular characterization of 17 Chinese cases. *Hum Pathol*. 2011;42(12):1965-1978.
15. Carrel S, Salvi S, Rafti F, Favrot M, Rapin C, Sekaly RP. Direct involvement of CD7 (gp40) in activation of TCR gd T+ T cells. *Eur J Immunol*. 1991;21:1195-1200.
16. Gaulard P, Belhadj K, Reyes F. Gammadelta T-cell lymphomas. *Semin Hematol*. 2003;40(3):233-243.
17. Сидорова Ю.В., Чернова Н.Г., Рыжикова Н.В., Смирнова С.Ю., Синицына М.Н., Виноградова Ю.Е., Джулакян У.Л., Ковригина А.М., Звонков Е.Е., Судариков А.Б. Клональные реаранжировки и опухолевые клоны при периферической Т-клеточной лимфоме. *Acta Naturae*. 2015;7:3(26):130-140.
18. Wang CC, Tien HF, Lin MT, Su IJ, Wang CH, Shuang SM, Shen MC, Liu CH. Consistent presence of isochromosome 7q in hepatosplenic T g/d lymphoma: a new cytogenetic-clinicopathologic entity. *Genes Chromos Cancer*. 1995;12:161-164.
19. Jonveaux P, Daniel MT, Martel V, Maarek O, Berger R. Isochromosome 7q and trisomy 8 are consistent primary, non-random chromosomal abnormalities associated with hepatosplenic T gamma/delta lymphoma. *Leukemia*. 1996;10:1453-1455.
20. Обухова Т.Н., Лорие Ю.Ю., Никитин Е.А., Барях Е.А., Захарова А.И., Зубашева Е.И., Красильникова Б.Б., Воробьев В.И., Звонков Е.Е., Магомедова А.У., Джулакян У.Л., Илюшкина Е.А., Нестерова Е.С., Алимова Г.А., Шишигина Л.А., Клеина И.В., Коннова М.Л., Дяченко Л.В., Гребенюк Л.А., Капланская И.Б., Ковригина А.М., Воробьев И.А., Самойлова Р.С., Кравченко С.К., Домрачева Е.В. Цитогенетическая диагностика лимфатических опухолей. *Гематология и трансфузиология*. 2012;57(S3):17-18.
21. Belhadj K, Reyes F, Farcet JP, Tilly H, Bastard C, Angonin R, Deconinck E, Charlotte F, Leblond V, Labouyrie E, Lederlin P, Emile JF, Delmas-Marsalet B, Arnulf V, Zafrani ES, Gaulard P. Hepatosplenic gamma-delta T-cell lymphoma is a rare clinicopathologic entity with poor outcome: report on a series of 21 patients. *Blood*. 2003;102:4261-4269.
22. Виноградова Ю. Е., Луценко И.Н., Капланская И.Б., Воробьев И.А., Самойлова Р.С., Горгидзе Л.А., Рыжикова Н.А., Валев Т.Т., Гилязитдинова Е.А., Джулакян У.Л., Егорова Е.К., Звонков Е.Е., Красильникова Б.Б., Магомедова А.У., Марголин О.В., Марьян Д.С., Кременецкая А.М., Кравченко С.К., Воробьев А.И. Эффективность терапии различных вариантов анаплазированных Т-крупноклеточных лимфом. *Терапевтический архив*. 2008;7:33-37.
23. Dongen JJ, Langerak AW, Bruggemann M, Evans PA, Hummel L, Lavender FL, Delabesse E, Davi F, Schuurings E, Garcia-Sanz R, Krieken JH, Droese J, Gonzalez D, Bastard C, White HE, Spaargaren M, Gonzalez M, Parreira A, Smith JL, Morgan GJ, Kneba M, Macintyre EA. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia*. 2003;17(12):2257-317.
24. Shaffer LG, McGowan-Jordan J, Schmid M. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2013). S Karger, 2013.
25. Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, Lister TA, Vose J, Grillo-López A, Hagenbeek A, Cabanillas F, Klippensten D, Hiddemann W, Castellino R, Harris NL, Armitage JO, Carter W, Hoppe R, Canellos GP. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas: NCI Sponsored International Working Group. *J Clin Oncol*. 1999;17:1244-1253.
26. Силаев М.А., Карагюлян С.Р., Буланов А.Ю., Джулакян У.Л., Егорова Е.К., Магомедова А.У., Капланская И.Б., Пантелеев И.В. Спленэктомия при массивной и гигантской спленомегалии. *Гематология и трансфузиология*. 2011;56(1):6-10.
27. Паровичникова Е.Н., Клясова Г.А., Исаев В.Г., Соколов А.Н., Кохно А.В., Троицкая В.В., Маврина Е.В., Ходунова Е.Е., Устинова Е.Н., Грибанова Е.О., Кравченко С.К., Рыжко В.В., Капорская Т.С., Баранова О.Ю., Бондаренко С.Н., Низаметдинова А.С., Кондакова Е.В., Рьльцова Т.В., Алуферьева А.Н., Самойлова О.С., Скаморина О.П., Гаврилова Л.В., Приступа А.С., Вopilina Н.А., Константинова Т.С., Крючкова И.В., Анчукова Л.В., Тикунова Т.С., Капланов К.Д., Лапин В.А., Тумаков В.А., Козмина М.Н., Черныш С.А., Подольцева Э.И., Куликов С.М., Давидян Ю.Р., Савченко В.Г. Первые итоги терапии Rh'-негативных острых лимфобластных лейкозов взрослых по протоколу научно-исследовательской группы гематологических центров России ОЛЛ-2009. *Терапевтический архив*. 2011;83(7):11-17.

28. Hoelzer D, Gökbuget N, Digel W, Faak T, Kneba M, Reutzel R, Romejko-Jarosinska J, Zwolinski J, Walewski J. Outcome of adult patients with T-lymphoblastic lymphoma treated according to protocols for acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2002;99(12):4379-4385.
29. Виноградова Ю.Е., Луценко И.Н., Самойлова Р.С., Селиванова Е.И., Замулаева И.А., Грецов Е.М., Воробьев И.А., Капланская И.Б., Рыжикова Н.В., Аль-Ради Л.С., Габеева Н.Г., Джулакян У.Л., Егорова Е.К., Марголин О.В., Кременецкая А.М., Воробьев А.И. Клинические и иммуноморфологические варианты Т/НК-клеточных лимфолейкозов из больших гранулярных лимфоцитов. *Гематология и трансфузиология*. 2009;54(2):14-18.
30. Хвастунова А.Н., Аль-Ради Л.С., Капранов Н.М., Федянина О.С., Горгидзе Л.А., Луговская С.А., Наумова Е.В., Джулакян У.Л., Филатов А.В., Атауллаханов Ф.И., Кузнецова С.А. Использование клеточного биочипа в диагностике волосатоклеточного лейкоза. *Онкогематология*. 2015;1:37-45. doi:10.17650/1818-8346-2015-1-37-45
31. *Гериатрическая гематология. Заболевания системы крови в старших возрастных группах*. Под ред. Гриншпун Л.Д., Пивника А.В. М.: Медиум; 2012:237-244.
32. Julhakyan HL, Al-Radi LS, Moiseeva TN, Danishyan KI, Kovrigina AM, Glebova SM, Lugovskaya SA, Dvirnik VN, Khvastunova AN, Yakutik IA, Savchenko VG. The experience of diagnostic and treating splenic diffuse red pulp lymphoma. *Clin Lymphoma, Myeloma Leukemia*. 2015;15(Suppl. 2):69-70.
33. Ok CY, Yin CC, Yabe M, Bueso-Ramos CE, Miranda RN, Medeiros LJ, Konoplev SN. Lymphoma with features intermediate between aggressive T-large granular lymphocytic leukemia and hepatosplenic T-cell lymphoma: a diagnostic dilemma? *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2014;14(3):e95-e100. doi:10.1016/j.clml.2013.12.017
34. Nosari A, Oreste PL, Biondi A, Costantini MC, Santoleri L, Intropido L, Muti G, Pungolino E, Gargantini L, Morra E. Hepatosplenic gd T-cell lymphoma: a rare entity mimicking the hemophagocytic syndrome. *Am J Hematol*. 1999;60:61-65.
35. Lin WC, Moore JO, Mann KP, Traweck T, Smith C. Post-transplant CD8+ gd T-cell lymphoma associated with human herpes virus-6 infection. *Leuk Lymphoma*. 1999;33:377-384.

Поступила 17.03.2016