

ЛИМФОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

LYMPHOID TUMORS

Диагностика фолликулярной лимфомы педиатрического типа у молодых взрослых (собственные данные)

Diagnosis of Pediatric-Type Follicular Lymphoma in Young Adults (Own Data)

А.М. Ковригина, Л.В. Пластинина, С.К. Кравченко, Е.С. Нестерова, Т.Н. Обухова

AM Kovrigina, LV Plastinina, SK Kravchenko, ES Nesterova, TN Obukhova

ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, Новый Зыковский пр-д, д. 4а, Москва, Российская Федерация, 125167

Hematology Research Center under the Ministry of Health of the Russian Federation, 4a Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167

РЕФЕРАТ

ABSTRACT

Цель. Патоморфологическая, иммунофенотипическая и клиническая характеристики выделенной в 2008 г. (классификация ВОЗ) новой клинко-морфологической формы — фолликулярной лимфомы (ФЛ) педиатрического типа у молодых взрослых.

Aim. Pathomorphological, immunophenotypical and clinical characteristics of a new clinico-morphological form of pediatric-type follicular lymphoma (FL) in young adults discovered in 2008 (WHO classification).

Актуальность. ФЛ — гетерогенная по морфологическим, иммунофенотипическим и молекулярно-генетическим характеристикам нозологическая форма. ФЛ *de novo* включает трансформированную ФЛ, ФЛ без t(14;18), ФЛ с диффузным ростом, ассоциированную с del(1p.36) и мутацией *TNFRSF14*. ФЛ педиатрического типа у молодых взрослых мало изучена, представляет особый интерес в спектре клинического разнообразия и молекулярно-биологической разнородности ФЛ в целом.

Background. FL is a heterogeneous disease according to its morphological, immunophenotypical and molecular-genetic characteristics. FL *de novo* includes transformed FL, FL without t(14;18), FL with diffuse growth associated with del(1p.36) and *TNFRSF14* mutation. Pediatric-type FL in young adults is poorly studied; and it is especially interesting because of its clinical diversity and molecular-genetic heterogeneity of FL, in general.

Методы. Исследован материал биопсии у 5 пациентов (18–25 лет, медиана возраста 22 года, соотношение женщины/мужчины 3:2), прошедших обследование, диагностику и лечение в ФГБУ ГНЦ МЗ РФ в течение 2012–2016 гг. У $\frac{4}{5}$ пациентов диагностирована I клиническая стадия с изолированным вовлечением небной миндалины или пахового лимфатического узла; у $\frac{1}{5}$ — II клиническая стадия с вовлечением небной миндалины и шейного лимфатического узла. На парафиновом материале проведено морфологическое, иммунофенотипическое и FISH-исследования.

Methods. Biopsy materials taken from 5 patients (aged 18–25 years; median age: 22 years; the female/male ratio 3:2) were included in the study; all patients were examined, diagnosed and treated in the Hematology Research Center over the period from 2012 to 2016. Clinical stage I with isolated involvement a palatine tonsil or an inguinal lymph node was diagnosed in 4/5 patients; clinical stage II with involvement of a palatine tonsil and cervical lymph node was diagnosed in 1/5 patients. Morphological, immunophenotypical and FISH tests were performed with paraffin blocks.

Результаты. Морфологическая картина характеризовалась как ФЛ типа 3В ($n = 2$) и ФЛ 3-го типа с бластоидной морфологией ядер ($n = 3$). Иммунофенотипические признаки занимают промежуточное положение между ФЛ 3-го типа *de novo* и трансформированной ФЛ 3-го типа. Рearанжировка *BCL-2* не была выявлена ни в одном наблюдении.

Results. The morphological pattern was typical for FL 3B ($n = 2$) and FL 3 with blastoid nucleus morphology ($n = 3$). Immunophenotypical features demonstrated an intermediate position between FL 3 *de novo* and transformed FL 3. No *BCL-2* rearrangement was detected in any observation.

Заключение. При сопоставлении полученных собственных данных с представленными в литературе характеристиками ФЛ педиатрического типа у детей особенностью исследованной группы молодых взрослых с ФЛ педиатрического типа стало отсутствие или слабая экспрессия (< 30 % клеток опухолевого субстрата) MUM1. Это, в свою очередь, свидетельствует об отсутствии рearанжировки *IRF4* и, возможно, о наличии других генетических аномалий. Выявленные клинические, морфологические, иммунофенотипические характеристики расширяют спектр гетерогенности ФЛ у молодых взрослых.

Conclusion. The comparison of our data on characteristics of pediatric-type FL with those published in the literature demonstrated that lack or weak expression (< 30 % of tumor substrate cells) of MUM1 was the key feature of the experimental group of young adults with pediatric-type FL. This, in turn, indicates the absence of *IRF4* rearrangements and possible presence of other genetic abnormalities. The clinical, morphological, and immunophenotypical characteristics broaden the FL heterogeneity spectrum in young adults.

Ключевые слова: фолликулярная лимфома педиатрического типа, фолликулярная лимфома, молодые взрослые, патоморфология, иммуногистохимия, MUM1.

Keywords: pediatric-type follicular lymphoma, follicular lymphoma, young adults, pathomorphology, immunohistochemistry, MUM1.

Получено: 14 августа 2016 г.

Принято в печать: 27 ноября 2016 г.

Received: August 14, 2016

Accepted: November 27, 2016

Для переписки: Алла Михайловна Ковригина, д-р биол. наук, профессор, Новый Зыковский пр-д, д. 4а. Москва, Российская Федерация, 125167; тел.: +7(495)612-62-12; e-mail: kovrigina.alla@gmail.com

For correspondence: Alla Mikhailovna Kovrigina, DSci, Professor, 4a Novyi Zыkovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167;

Tel: +7(495)612-62-12; e-mail: kovrigina.alla@gmail.com

Для цитирования: Ковригина А.М., Пластинина Л.В., Кравченко С.К. и др. Диагностика фолликулярной лимфомы педиатрического типа у молодых взрослых (собственные данные).

For citation: Kovrigina AM, Plastinina LV, Kravchenko SK, et al. Diagnosis of Pediatric-Type Follicular Lymphoma in Young Adults (Own Data).

Клиническая онкогематология. 2017;10(1):52–60.

Clinical oncohematology. 2017;10(1):52–60 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-1-52-60

DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-1-52-60

ВВЕДЕНИЕ

Фолликулярные лимфомы (ФЛ) (классификация Н. Rappaport — низкодифференцированная лимфоцитарная лимфома; Кильская классификация — центробластно-центроцитарная и центробластная фолликулярная лимфомы; Working formulation — фолликулярная лимфома из мелких клеток с расщепленными ядрами и крупных клеток; REAL-классификация — лимфома из клеток фолликулярного центра) занимают 2-е место по частоте после диффузных В-крупноклеточных лимфом (ДВКЛ) в Европе и США [1–3] и составляют до 25–40 % всех В-клеточных лимфом; медиана возраста больных — 60 лет. В классификацию ВОЗ 2008 г. включены новые клинико-морфологические формы ФЛ: фолликулярная лимфома тонкой кишки, фолликулярная лимфома педиатрического типа. В последние годы с учетом уточнения критериев диагностики ФЛ (наблюдения с диффузным ростом, без t(14;18), а также ФЛ 3А, 3В или 3(А+В) цитологического типа) достоверные данные о частоте этой опухоли в России отсутствуют. Трансформация ФЛ в ДВКЛ отмечается в 16–70 % наблюдений, до трансформации медиана составляет 3–4 года [4–7]. В плане проведения дифференциальной диагностики и выбора лечебной тактики соответственно как патологу, так и клиницисту необходимы знания о биологии ФЛ, феномене гистологической/опухолевой трансформации с основами молекулярного патогенеза.

Молекулярный патогенез ФЛ *de novo* и трансформированной ФЛ определяется совокупностью генетических, эпигенетических событий, факторами стромального микроокружения. При ФЛ *de novo* транслокация (14;18) является первым онкогенным событием в молекулярной цепи формирования опухолевого клона, она возникает на уровне костномозговой дифференцировки в pro-/pre-B-клетках в процессе рекомбинации генов V(D)J, опосредованной RAG. После костномозгового уровня дифференцировки циркулирующая наивная В-клетка совершает многочисленные циклы миграции из крови в лимфатические узлы/фолликулы для приобретения высокоаффинного В-клеточного рецептора, а свой-

ственная ей экспрессия BCL-2 в результате t(14;18) позволяет избежать апоптоза. Доказательством циркулирующих в крови В-клеток с t(14;18), относящихся к В-клеткам памяти IgD+/IgM+, CD27+ стало обнаружение опухолевых клеток ($< 1 \times 10^{-5}$) в крови 50–70 % лиц при популяционном скрининге [8], возникновение у реципиента и донора ФЛ после трансплантации аллогенных стволовых клеток донора с циркулирующими В-клетками памяти, несущими t(14;18) [9]. Эта модель, безусловно, привлекательна и имеет свои обоснования. Вместе с тем случаи ФЛ без t(14;18) или фолликулярной неоплазии *in situ* позволяют предположить другую молекулярно-генетическую модель возникновения опухолевого клона. К патогенетически значимым генетическим аномалиям помимо t(14;18)(q32;q21) относят дупликацию хромосом 7, 18 и X, реаранжировку BCL-6, утрату 6q с делецией/инактивацией TNFAIP3/A20 — негативного регулятора сигнального пути NFκB, del(1p36.3). Последняя ассоциирована с мутацией TNFRSF14 [10–12], что требует расширенной дифференциальной диагностики с другими вариантами В-мелкоклеточных лимфом. В последние годы при ФЛ широко изучаются трансформирующие события, определяющие ее резистентность к терапии, прогрессирование заболевания и опухолевую трансформацию.

В отличие от В-клеточного хронического лимфолейкоза (В-ХЛЛ) с единой клональной линейной моделью эволюции при ФЛ различают два возможных патогенетических пути трансформации. Это модель дивергентной клональной эволюции из общей клетки-предшественницы, приобретающей дополнительные мутации генов, участвующих в эпигенетической регуляции; и второй путь — трансформация доминирующего существующего опухолевого клона с приобретением дополнительных генетических аномалий [13]. В целом спектр генетических и эпигенетических нарушений при ФЛ *de novo* и трансформированной ФЛ сходен, включая мутации генов, регулирующие эпигенетические события и участвующие в хромосомном ремоделировании (MLL2, EZH2, CREBBP), отвечающие за апоптоз (BCL7A, FAS). При сопоставлении геномного и транскрипционного профиля ФЛ *de novo* с трансформированной ФЛ были вы-

явлены следующие отличия: наличие мутаций генов, контролирующих клеточный цикл (переход в фазу G1), пролиферацию и участвующих в репарации ДНК *CDKN2A/B* (биаллельная делеция), *TP53* (мутации, делеции и утрата гетерозиготности), *CD58*, *PIM1*, *β2M* (мутации и делеции), транслокации, дубликации, амплификации или мутации с вовлечением *c-MYC* [13, 14]. В 80 % случаев отмечается трансформация ФЛ в ДВКЛ GCB-типа. В 20 % случаев происходит трансформация ФЛ 3-го цитологического типа с экспрессией MUM1 (чаще возникающей *de novo*) в ДВКЛ non-GCB-типа в ряде наблюдений с сопутствующими мутациями *CARD11*, *MYD88*, *CD79B*, характерными для ДВКЛ молекулярного ABC-типа (иммуногистохимическая подгруппа non-GCB-типа) [11]. Это создает новые перспективы для новых терапевтических подходов при трансформированной ФЛ (в частности, использование ибрутиниба, леналидомида).

Понятия гистологической и опухолевой трансформации сопряжены. Гистологическая трансформация подразумевает увеличение в опухолевом субстрате количества крупных клеток с морфологией центробластов, что отражается в цитологическом типе. Наблюдается переход от ФЛ 1–2-го цитологического типа к типу 3А, или 3В, или 3(А+В). Гистологическая трансформация в ДВКЛ — морфологическое выражение накопленных биологических событий, т. е. генетических и эпигенетических аномалий в процессе персистенции опухолевого клона и прогрессирования заболевания. Это эквивалент опухолевой трансформации, сопровождающийся клинической симптоматикой: прогрессированием лимфаденопатии, появлением «bulky» ≥ 7 см, В-симптомов, возрастанием уровня лактатдегидрогеназы и/или β2-микроглобулина. Опухолевая/гистологическая трансформация чаще характеризуется субстратом ДВКЛ, значительно реже — лимфомой Беркитта, плазмобластной лимфомой или В-клеточной неклассифицируемой лимфомой, занимающей промежуточное положение между лимфомой Беркитта и ДВКЛ. Понимание молекулярно-генетических этапов, знание анамнеза, клинической картины и данных обследования пациентов крайне важны для патолога с точки зрения интерпретации морфологической картины, оценки вероятной гистологической/опухолевой трансформации. Так, ФЛ 3-го цитологического типа, возникшая *de novo*, отличается по своим цитогенетическим (отсутствует t(14;18)), иммунофенотипическим (часто CD10–BCL-2–MUM1+) характеристикам от ФЛ 1–2-го цитологического

типа и может встречаться в различных возрастных группах. В связи с этим в последние годы изучаются ее клинические, патоморфологические и молекулярно-биологические различия у детей и взрослых. ФЛ 3-го цитологического типа у взрослых может возникать как *de novo*, так и в результате гистологической трансформации. При исследовании материала биопсии необходимо принимать во внимание клиничко-анамнестические, лабораторные данные, сопоставлять морфологическую картину с первичной биопсией лимфатического узла в дебюте клинических проявлений. При гистологическом исследовании следует проводить поиск участков опухолевого субстрата с гетерогенной гистоархитектоникой и морфологией по количеству крупных клеток с округло-овальными и/или многодольчатыми ядрами с морфологией центробластов. При отсутствии признаков гистологической трансформации сочетание участков ФЛ 3-го типа и ДВКЛ в материале биопсии следует отнести к композитной лимфоме.

Дифференциальная диагностика ФЛ 3-го цитологического типа включает в себя ДВКЛ и ФЛ педиатрического типа, которая может встречаться и у молодых взрослых. ФЛ педиатрического типа посвящены немногочисленные публикации в зарубежной литературе [15–19]. Настоящая статья рассматривает характеристику и дифференциальную диагностику столь редкого клиничко-морфологического варианта **ФЛ у молодых взрослых**, проходивших обследование, диагностику и лечение в ФГБУ «Гематологический научный центр» МЗ РФ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследован материал биопсии по готовым парафиновым блокам 5 пациентов (18–25 лет, медиана возраста 22 года, соотношение женщины/мужчины 3:2), проходивших обследование, диагностику и получавших лечение в ФГБУ ГНЦ МЗ РФ в течение 2012–2016 гг. У $\frac{3}{5}$ пациентов диагностирована I клиническая стадия с изолированным вовлечением небной миндалины, у $\frac{1}{5}$ — с вовлечением пахового лимфатического узла, у $\frac{1}{5}$ — II клиническая стадия с вовлечением небной миндалины (одностороннее поражение) и шейного лимфатического узла. Клинические данные представлены в табл. 1.

На серийных срезах, изготовленных из парафиновых блоков, проводили гистологическое (окраска

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов

Пациент №	Пол	Возраст, лет	Локализация поражения	Клиническая стадия	Морфологический вариант лимфомы
1	Мужской	18	Шейный лимфатический узел и небная миндалина	II	ФЛ 3-го цитологического типа, бластоидная морфология
2	Мужской	25	Небная миндалина	I	ФЛ 3В цитологического типа
3	Женский	18	Небная миндалина	I	ФЛ 3-го цитологического типа, бластоидная морфология
4	Женский	25	Небная миндалина	I	ФЛ 3-го цитологического типа, бластоидная морфология
5	Женский	22	Эксцизионная биопсия пахового лимфатического узла	I	ФЛ 3В цитологического типа

гематоксилином и эозином) и иммуногистохимическое исследование с использованием антител к CD3 (клон LN10, Leica), CD10 (клон 56C6, Leica), CD20 (клон L26), CD23 (клон 1B12), BCL-2 (клон BCL/100/D5, Leica; клон E17, Abcam/EP36, Epitomics), HGAL (клон MRQ-49, Cell Marque), BCL-6 (клон LN22, Leica), MUM1 (клон EAU32, Leica), Ki-67 (клон K2, Leica) с использованием иммуноштейнера Leica BOND MAX.

В лаборатории кариологии ФГБУ ГНЦ МЗ РФ (заведующая канд. мед. наук Т.Н. Обухова) на срезах с парафиновых блоков было проведено FISH-исследование (флюоресцентная гибридизация *in situ*) с использованием ДНК-зонда Vysis LSI BCL2 Dual color, Break Apart Rearrangement Probe (Abbott Molecular) для оценки перестройки локуса гена *BCL-2*. Гибридизацию выполняли по протоколам фирмы-производителя Vysis для локус-специфичных праймеров и проб (www.vysis.com). Визуализацию сигнала осуществляли под флюоресцентным микроскопом Zeiss-Axioscope с использованием тройного фильтра DAPI/ORANGE/GREEN.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При морфологическом исследовании материала биопсии опухолевый субстрат характеризовался субтотальным поражением ткани миндалина, покрытой многослойным плоским эпителием, или лимфатического узла и был представлен плотно расположенными крупными фолликулоподобными структурами с неровными границами без отчетливой зоны мантии. Имели место разрозненно расположенные макрофаги с апоптотическими тельцами без признаков зональности с визуализацией «темной» (центробласты) и «светлой» (центроциты) зон центров фолликулов (рис. 1–3).

В 2 наблюдениях крупные фолликулоподобные структуры по клеточному составу были представлены среднего размера и крупными клетками с округло-овальными ядрами с морфологией центробластов, высокой митотической активностью (> 5–6 митозов в поле зрения при 400-кратном увеличении) — субстрат ФЛ 3В. В 3 других наблюдениях клеточный состав фолликулоподобных структур был представлен клетками среднего и крупного размера с неправильной/центроцитоподобной формой ядер или округло-овальными ядрами с равномерно дисперсной структурой хроматина, различимыми небольшими ядрышками с бластоидной/бластной морфологией, что позволило отнести эти случаи к морфологическому варианту ФЛ с бластоидной морфологией. При иммуногистохимическом исследовании, проведенном на серийных срезах с парафиновых блоков, во всех изученных случаях выявлена мономорфная мембранная экспрессия CD20 (рис. 4), выраженная экспрессия маркеров фолликулярной дифференцировки CD10 (интенсивная мономорфная мембранная реакция) (рис. 5) и BCL-6 (интенсивная ядерная реакция) (рис. 6). Экспрессия опухолевыми клетками BCL-2 отсутствовала (положительные Т-клетки) (рис. 7 и 8). Экспрессия MUM1 составляла менее 30 % положительных опухолевых клеток (ядерная экспрессия, «внутренний» контроль — положительные мелкие

Т-клетки при сопоставлении иммуногистоархитектоники с антителом к CD3, плазмочитами) (рис. 9). Индекс пролиферативной активности Ki-67 во всех случаях составил более 70 % положительных клеток опухолевого субстрата (рис. 10). В $\frac{2}{5}$ исследованных случаев при использовании антитела к HGAL в клетках крупных фолликулоподобных структур реакции были положительными (цитоплазматическая реакция) (рис. 11).

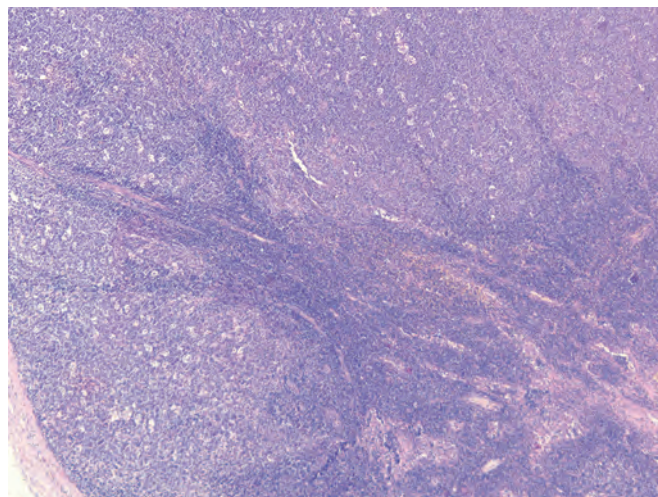


Рис. 1. В ткани лимфатического узла определяются крупные плотно расположенные фолликулоподобные структуры без четких границ и отчетливой зоны мантии с субтотальным замещением лимфоидной ткани. В пределах фолликулоподобных структур разрозненно расположенные макрофаги с фагоцитозом апоптотических телец создают картину так называемого звездного неба. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 50$

Fig. 1. There are large densely spaced follicle-like structures in the lymph node tissue, without distinct borders and distinct mantle zone, with subtotal replacement of lymphoid tissue. Within the follicular-type structures, scattered macrophages with phagocytosis of apoptotic bodies form a so-called starry sky pattern. Hematoxylin and eosin stain, $\times 50$

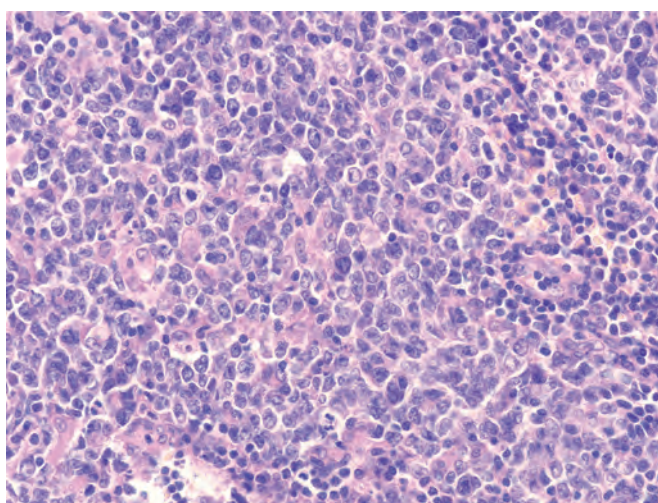


Рис. 2. Опухолевый субстрат фолликулоподобных структур представлен среднего размера центроцитоподобными и крупными клетками с бластоидной структурой хроматина. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Fig. 2. Tumor substrate of follicle-like structures is represented with medium-size centrocyte-type and large cells with blastoid structure of chromatin. Hematoxylin and eosin stain, $\times 400$

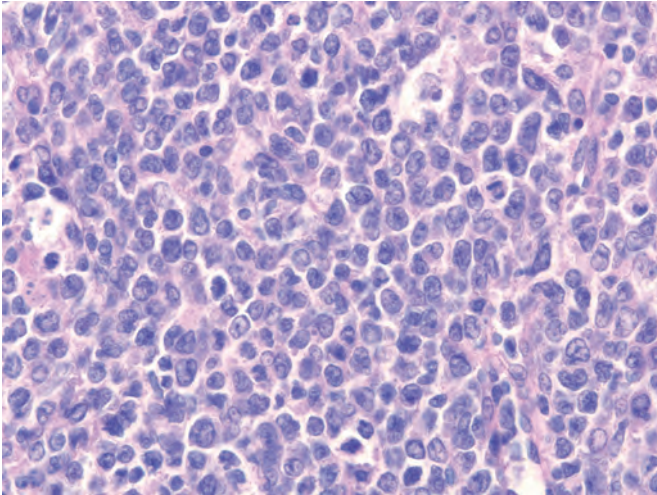


Рис. 3. Опухолевый субстрат представлен клетками с центроцитоподобными, округло-овальными или многодольчатыми ядрами с бластной/бластоидной структурой хроматина. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 630$

Fig. 3. Tumor substrate is represented with cells with centrocyte-type, rounded oval, and multilobular large nuclei with blastoid structure of chromatin. Hematoxylin and eosin stain, $\times 630$

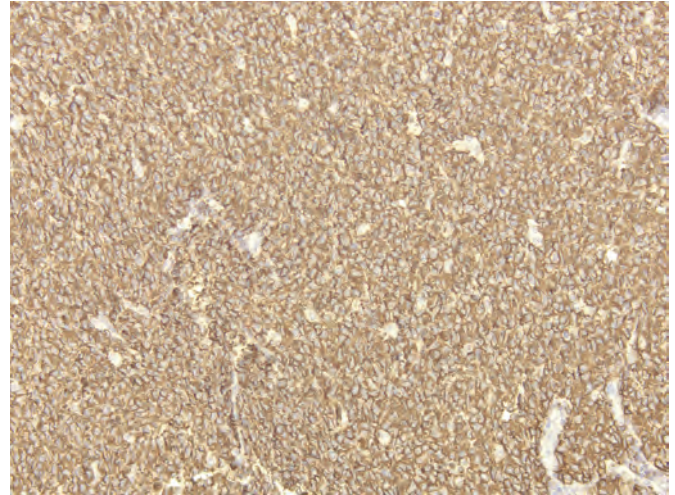


Рис. 4. Экспрессия клетками фолликулоподобных структур CD20 (мономорфная мембранная реакция). Иммуноферментный метод, $\times 200$

Fig. 4. Expression with cells of follicle-like structures CD20 (monomorphic membrane reaction). Immunoenzyme method, $\times 200$

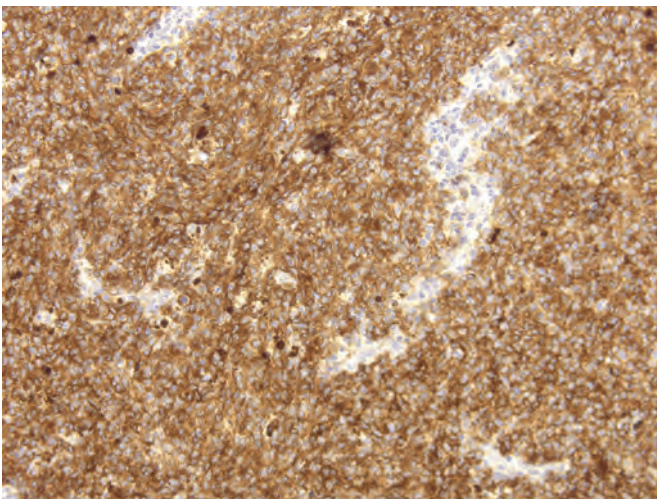


Рис. 5. Экспрессия клетками фолликулоподобных структур CD10 (мономорфная мембранная реакция). Иммуноферментный метод, $\times 200$

Fig. 5. Expression with cells of follicle-like structures CD10 (monomorphic membrane reaction). Immunoenzyme method, $\times 200$

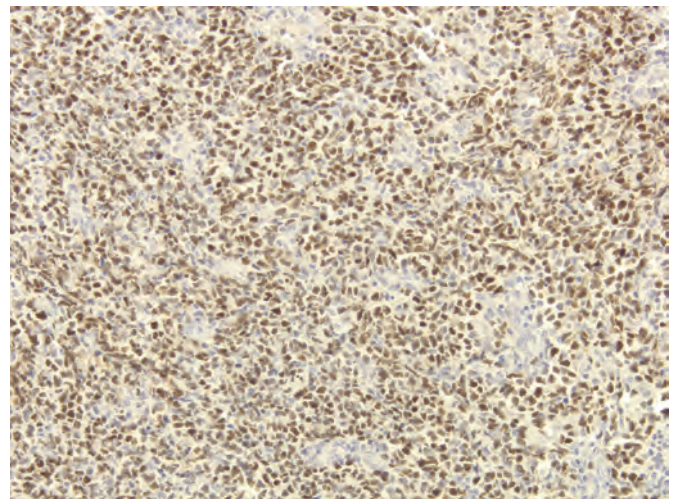


Рис. 6. Экспрессия клетками фолликулоподобных структур BCL-6 (ядерная реакция). Иммуноферментный метод, $\times 200$

Fig. 6. Expression with cells of follicle-like structures BCL-6 (nuclear reaction). Immunoenzyme method, $\times 200$

При FISH-исследовании ни в одном случае не выявлено реаранжировки *BCL-2*.

У 4 из 5 пациентов проведенная терапия позволила достичь полной ремиссии (медиана наблюдения 0–37 мес.), 1 пациентка после установления диагноза и клинической стадии находится под динамическим наблюдением. Результаты представлены в табл. 2.

ОБСУЖДЕНИЕ

ФЛ — гетерогенная клинико-морфологическая группа, различающаяся по клиническим характеристикам (индолентное или агрессивное течение), локализации (преимущественно нодальная, но может

протекать как экстранодальная лимфома различных локализаций — с поражением тонкой кишки, кожи, мягких тканей, щитовидной железы), иммунофенотипическим и молекулярно-генетическим характеристикам. Основой диагностики ФЛ является морфология, причем морфологические признаки высоко воспроизводимы при нодулярном/фолликулярном росте. С преобладанием в опухоли участков диффузного роста на первый план при патоморфологической диагностике выходят иммуногистохимические признаки, на которых представляется целесообразным остановиться более подробно, учитывая их некоторую корреляцию с $t(14;18)(q32;q21)$.

В отличие от ФЛ 1–2-го типа ФЛ 3-го цитологического типа имеет aberrантный иммунофенотип,

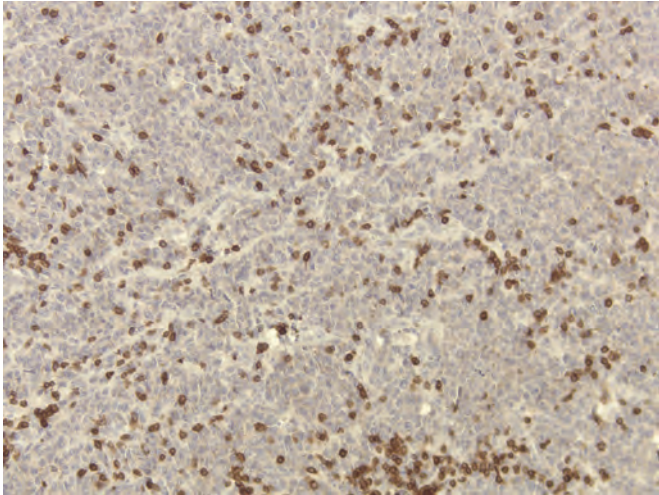


Рис. 7. Среди опухолевого пролиферата в виде рыхлых прослоек разрозненно расположены Т-клетки CD3+. Иммуноферментный метод, ×200

Fig. 7. CD3+ T-cells are scattered in the tumor proliferate in the form of friable interlayers. Immunoenzyme method, ×200

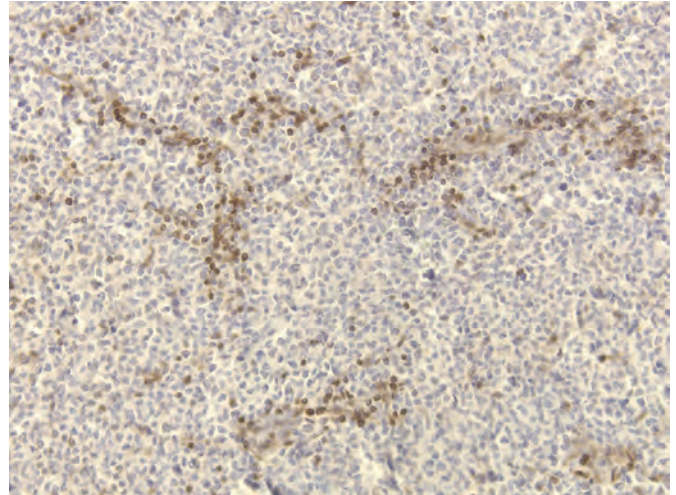


Рис. 8. Опухолевые клетки не экспрессируют BCL-2, положительные мелкие Т-клетки (при сопоставлении иммуногистоархитектоники; см. рис. 7). Иммуноферментный метод, ×200

Fig. 8. Tumor cells do not express BCL-2, small T-cells are positive (while comparing immunohistological architectonics, see Fig. 7). Immunoenzyme method, ×200

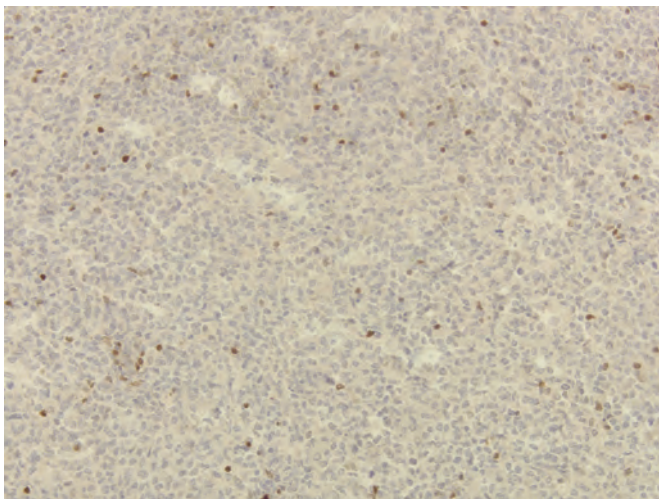


Рис. 9. Опухолевые клетки не экспрессируют MUM1, положительные мелкие Т-клетки (при сопоставлении иммуногистоархитектоники; см. рис. 7). Иммуноферментный метод, ×200

Fig. 9. Tumor cells do not express MUM1, small T-cells are positive (while comparing immunohistological architectonics, see Fig. 7). Immunoenzyme method, ×200

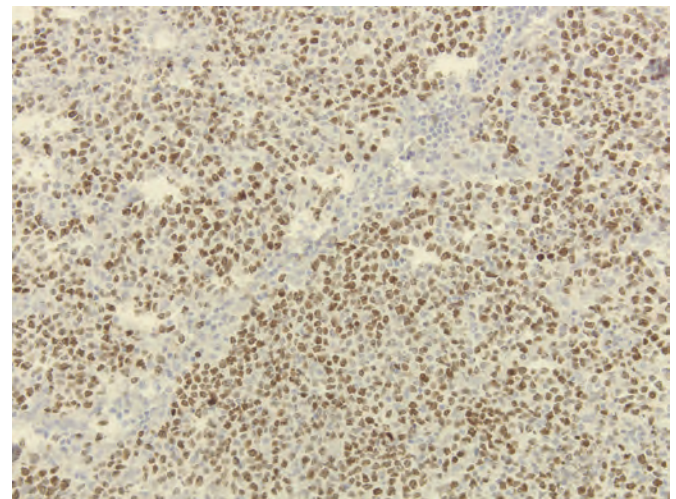


Рис. 10. Клетки опухолевого субстрата с высокой пролиферативной активностью (> 70 %). Реакция с антителом к Ki-67. Иммуноферментный метод, ×200

Fig. 10. Tumor substrate cells with a high proliferative activity (> 70 %). Reaction with Ki-67 antibody. Immunoenzyme method, ×200

Рис. 11. Клетки опухолевого субстрата экспрессируют HGAL (цитоплазматическая реакция). Иммуноферментный метод, ×200

Fig. 11. Tumor substrate cells express HGAL (cytoplasmic reaction). Immunoenzyme method, ×200

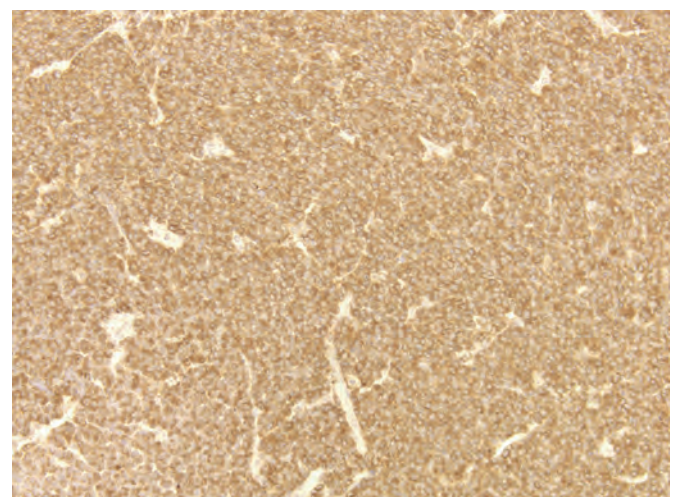


Таблица 2. Результаты лечения и наблюдения пациентов

Пациент №	Терапия	Эффект	Срок наблюдения
1	1 курс R-СНОР	Положительная динамика	< 1 мес.
2	6 курсов R-СНОР	Ремиссия	2 мес.
3	2 курса R-B	Ремиссия	37 мес.
4	6 курсов R-СНОР	Ремиссия	5 мес.
5	Наблюдение	—	Динамическое наблюдение

может возникать как *de novo*, так и в результате гистологической трансформации, что коррелирует с различиями в иммунофенотипе по экспрессии CD10, BCL-2, MUM1. Так, экспрессия CD10 характерна для фолликулярных лимфом 1–2-го цитологического типа с t(14;18), причем положительно более 90 % наблюдений с визуализацией фолликулоподобных структур и интерфолликулярных положительных участков опухолевого роста [20]. CD10 редко встречается при ФЛ 3-го типа (около 50 %), что сочетается с отсутствием или слабой экспрессией BCL-2 при отсутствии t(14;18) ФЛ 1–2-го или 3-го типа [10].

Другой «базовый» маркер фолликулярной дифференцировки — В-клеточный транскрипционный фактор BCL-6, кодируемый *BCL-6/3q27*, как правило, определяет нодулярные участки опухолевого роста при ФЛ 1–2-го цитологического типа, обычно ярко экспрессируется при ФЛ 3-го цитологического типа без t(14;18), но с часто встречающейся реаранжировкой *BCL-6*. Реаранжировка *BCL-6* характерна как для ФЛ 3В [21], так и ДВКЛ, что обуславливает необходимость совершенствования дифференциальной диагностики этих нозологических форм. Напротив, по данным I. Salaverria и R. Siebert [22], реаранжировка *BCL-6* более характерна для ФЛ 3В цитологического типа с участками ДВКЛ, чем для ДВКЛ *de novo*, и составляет 44 % положительных случаев. Необходимо подчеркнуть, что корреляция между экспрессией белка BCL-6 в опухолевой ткани и реаранжировкой *BCL-6* отсутствует.

Транслокация (14;18) присутствует в 85 % ФЛ (подавляющее большинство из них ФЛ 1–2-го типа), что, как правило, коррелирует с экспрессией BCL-2. Вместе с тем и при слабой экспрессии BCL-2 (в части злокачественные клеток) в опухолевой ткани может быть обнаружена t(14;18)(q32;q21). Экспрессия BCL-2 отмечается в среднем в половине случаев ФЛ 3-го типа: при ФЛ 3А — в 48 %, ФЛ 3В — в 57 % [23]. ФЛ без t(14;18)(q32;q21) характеризуются различными генетическими аномалиями, включающими дупликацию 1q, 2p, 12q, 18q или утрату 6q, 10q, 13q. Возможно, BCL-2-негативные ФЛ возникают на более позднем уровне В-клеточной фолликулярной дифференцировки [10]. Интересно, что ФЛ 1–2-го цитологического типа, BCL-2-негативные, без t(14;18) может иметь высокий пролиферативный индекс Ki-67 > 25 %, слабо или вообще не экспрессировать CD10 и BCL-2, но обладать коэкспрессией CD23 (30 %) [24]. Кроме того, ФЛ с подобными генетическими и иммунофенотипическими характеристиками отличается благоприятным прогнозом [10]. В опухолевой ткани ФЛ у детей до 18 лет

t(14;18) отсутствует [25]. В нашем исследовании реаранжировки *BCL-2* не было выявлено ни в одном из 5 наблюдений.

MUM1/IRF4 (множественная миелома/интерферон 4 регуляторный фактор) имеет реципрокную связь с BCL-6, характерен для постфолликулярного уровня дифференцировки фолликулярных В-клеток (в светлой зоне центра фолликула) и этапа плазмочитарной дифференцировки. Экспрессия MUM1 встречается в 50–75 % ДВКЛ, в опухолевой ткани плазмочитомы/множественной миеломы, плазмобластной лимфомы, лимфоплазмочитарной лимфомы, классической лимфомы Ходжкина, в части случаев лимфоцитарной лимфомы/В-ХЛЛ и В-клеточной лимфомы из клеток маргинальной зоны. Важно подчеркнуть, что экспрессия MUM1 возникает на костномозговом уровне дифференцировки, затем транскрипционный фактор MUM1 необходим для В-клеточной фолликулярной дифференцировки не только на позднем уровне фолликулярной или постфолликулярной дифференцировки, но и на ранних этапах В-клеточной антигензависимой дифференцировки для взаимодействия с BCL-6, регуляции активации и созревания Tfh. [26]. В отличие от ФЛ 1–2-го типа (могут быть положительны только единичные крупные клетки с морфологией центробластов) выраженная экспрессия белка MUM1 характерна для ФЛ 3-го типа, что свидетельствует о генетических нарушениях (мутациях, транслокации) *MUM1/6p25*, но так же, как и в случаях BCL-2, BCL-6, экспрессия белка MUM1 не имеет однозначной корреляции с реаранжировкой соответствующего гена. Почти 10 лет тому назад было отмечено, что ФЛ с иммунофенотипом CD10–MUM1+ утрачивают реаранжировку гена *BCL-2* [27]. Экспрессия MUM1 при ФЛ является единственным фактором неблагоприятного прогноза — ранней трансформации в ДВКЛ, сопровождается высокой пролиферативной активностью [28, 29]. Кроме того, ФЛ 3А цитологического типа с транслокацией *BCL-6* чаще подвергаются трансформации независимо от экспрессии BCL-6 по сравнению с контрольной группой при сходных клинических характеристиках. Реаранжировка *c-MYC* выявлена в незначительном количестве трансформированных ФЛ (9 %) и не имеет значимой клинической корреляции с неблагоприятным прогнозом [11]. По данным I. Salaverria и соавт. [30] реаранжировка *IG/IRF4*, связанная с интенсивной мономорфной экспрессией MUM1 (100 % случаев), а также экспрессией BCL-6 (94 %), характерна для детей и молодых взрослых (медиана 12 лет) при ФЛ 3В и ДВКЛ GCB-типа или композитной ФЛ 3В/ДВКЛ, которые характеризуются благоприятным прогнозом.

Какие же следует выделить отличия исследованной нами ФЛ педиатрического типа от «типичной» ФЛ у молодых взрослых? «Типичная» ФЛ, встречающаяся и у молодых взрослых (старше 18 лет, чаще у женщин), является нодальной лимфомой, характеризуется 1–2-м цитологическим типом, выраженной экспрессией BCL-2. ФЛ **педиатрического типа** имеет характерную локализацию — лимфатические узлы области головы/шеи, кольцо Пирогова—Вальдейера, ЖКТ, яички; морфологически характеризуется 3-м цитологическим типом, иммунофенотипически —

экспрессией CD10, BCL-6, MUM1, реаранжировкой *IRF4* в отсутствие реаранжировок *BCL-2*, *BCL-6*, *c-MYC*. Согласно полученным нами данным в группе молодых взрослых с ФЛ, протекающей с вовлечением кольца Пирогова—Вальдейера и лимфатических узлов (шейный и паховый лимфатические узлы), опухолевая ткань характеризуется иммунофенотипом CD10+BCL-6+BCL-2-, но не выявлена мономорфная экспрессия MUM1 (положительные опухолевые клетки составляют менее 30 % или отсутствуют при наличии «внутреннего» положительного контроля), что, по литературным данным, свидетельствует об отсутствии реаранжировки *IRF4*. Представленные в данной статье наблюдения ФЛ педиатрического типа у молодых взрослых отличаются по иммунофенотипическим характеристикам (CD10+BCL-6+BCL-2-MUM1-) не только от «типичной» ФЛ педиатрического типа, но и от трансформированной ФЛ 3-го типа у взрослых (чаще CD10+BCL-2+MUM1-, собственные неопубликованные данные) и ФЛ 3-го типа у взрослых/старшей возрастной группы, возникшей *de novo* (CD10-BCL-2-MUM1+, мономорфно), т. е. характеризуются промежуточным иммунофенотипом.

ФД 3-го типа, протекающая с **вовлечением лимфоидной ткани кольца Пирогова—Вальдейера**, чаще встречается у пациентов мужского пола (детей, подростков и молодых взрослых), характеризуется экспрессией BCL-6, часто CD10+ и BCL-2+, при отсутствии реаранжировок *BCL-2* и *BCL-6*, в сочетании с интенсивной мономорфной ядерной экспрессией MUM1 и, следовательно, реаранжировкой *IRF4* (корреляция сопоставима с экспрессией белка *c-MYC* — 80–100 % положительных клеток — и реаранжировкой *c-MYC*). Морфологически в опухолевой ткани в различном соотношении могут присутствовать как фолликулярные, так и диффузные участки пролиферата. Последние следует расценивать как участки ДВКЛ. Учитывая патогенетически значимую реаранжировку *IRF4*, клиническую очерченность заболевания в новой редакции ВОЗ 2016 г., эти случаи рекомендуется относить не к комбинированной лимфоме ФЛ 3-го типа/ДВКЛ, а использовать название новой нозологической формы «В-клеточная крупноклеточная лимфома с реаранжировкой *IRF4*» [31]. В исследованной нами группе пациентов случаи с вовлечением лимфоидной ткани кольца Пирогова—Вальдейера (поражение диагностировано в основном у молодых женщин) согласно выявленному иммунофенотипу невозможно отнести к В-клеточной крупноклеточной лимфоме с экспрессией MUM1/реаранжировкой *IRF4*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выявленные нами ФЛ педиатрического типа у молодых взрослых с вовлечением лимфатических узлов и миндалин отличаются от «типичных» ФЛ педиатрического типа у детей с экспрессией MUM1 и реаранжировкой *IRF4* [32, 33]. Опубликованные I. Martin-Guerrero и соавт. [34] данные содержат результаты, подобные полученным в настоящем исследовании: изучался материал биопсии у 18 пациентов (до 18 лет) с ФЛ педиатрического типа

с отсутствием экспрессии MUM1 и реаранжировки *IRF4*. В 7 наблюдениях была выявлена дупликация/амплификация бр24.3 и утрата гетерозиготности/del(1p.36), связанная с мутацией *TNFRSF14*, что также встречается и при ФЛ с диффузным ростом без t(14;18) у взрослых [11, 35].

В целом ФЛ педиатрического типа при однотипности морфологической картины (3-й цитологический тип, в ряде случаев — бластоидная морфология) так же, как и ФЛ взрослых, обладает признаками иммунофенотипической и молекулярно-генетической гетерогенности.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов. А.М. Ковригина, член редакционной коллегии журнала «Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика», не участвовала в рецензировании статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

НИР по государственному заданию «Изучение молекулярных, цитогенетических, морфологических основ заболеваний системы крови с целью выявления молекулярно-биологических маркеров, улучшения диагностики, адекватного подбора дифференцированной терапии и мониторинга заболевания».

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: А.М. Ковригина.

Сбор и обработка данных: все авторы.

Анализ и интерпретация данных: все авторы.

Подготовка рукописи: А.М. Ковригина.

Окончательное одобрение рукописи: все авторы.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Lennert K, Stein H, Mohri N, et al. Malignant Lymphomas Other than Hodgkin's Disease: Histology, Cytology, Ultrastructure, Immunology. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 1978. 833 p. doi: 10.1016/0092-8674(79)90172-7.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al, eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th edition. Lyon: IARC Press; 2008.
- Anderson JR, Armitage JO, Weisenburger DD. Epidemiology of the non-Hodgkin's lymphomas: distributions of the major subtypes differ by geographic locations. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification. Project Ann Oncol. 1998;9(7):717–20.
- Gallagher CJ, Gregory WM, Jones AE, et al. Follicular lymphoma: Prognostic factors for response and survival. J Clin Oncol. 1986;4(10):1470–80.
- Bastion Y, Sebban C, Berger F, et al. Incidence, predictive factors, and outcome of lymphoma transformation in follicular lymphoma patients. J Clin Oncol. 1997;15(4):1587–94.
- Montoto S, Davies AJ, Matthews J, et al. Risk and clinical implications of transformation of follicular lymphoma to diffuse large B-cell lymphoma. J Clin Oncol. 2007;25(17):2426–33. doi: 10.1200/JCO.2006.09.3260.
- Montoto S, Fitzgibbon J. Transformation of indolent B-cell lymphomas. J Clin Oncol. 2011;29(4):1827–34. doi: 10.1200/JCO.2010.32.7577.
- Hirt C, Weitmann K, Schuler F, et al. Circulating t(14;18)-positive cells in healthy individuals: association with age and sex but not with smoking. Leuk Lymphoma. 2013;54(12):2678–84. doi: 10.3109/10428194.2013.788177.
- Weigert O, Kopp N, Lane AA, et al. Molecular ontogeny of donor derived follicular lymphomas occurring after hematopoietic cell transplantation. Cancer Discov. 2012;2(1):47–55. doi: 10.1158/2159-8290.cd-11-0208.

10. Leich E, Salaverria I, Bea S, et al. Follicular lymphomas with and without translocation t(14;18) differ in gene expression profiles and genetic alterations. *Blood*. 2009;114(4):826–34. doi: 10.1182/blood-2009-01-198580.
11. Kridel R, Sehn LH, Gascoyne RD. Pathogenesis of follicular lymphoma. *J Clin Invest*. 2012;122(10):3424–31. doi: 10.1172/jci63186.
12. Katzenberger T, Kalla J, Leich E, et al. A distinctive subtype of t(14;18)-negative nodal follicular non-Hodgkin lymphoma characterized by a predominantly diffuse growth pattern and deletions in the chromosomal region 1p36. *Blood*. 2009;113(5):1053–61. doi: 10.1182/blood-2008-07-168682.
13. Pasqualucci L, Khiabanian H, Fangazio M, et al. Genetics of Follicular Lymphoma Transformation. *Cell Reports*. 2014;6(1):130–40. doi: 10.1016/j.celrep.2013.12.027.
14. Bouska A, McKeithan TW, Deffenbacher KE, et al. Genome-wide copy-number analyses reveal genomic abnormalities involved in transformation of follicular lymphoma. *Blood*. 2014;123(11):1681–90. doi: 10.1182/blood-2013-05-500595.
15. Lorschbach RB, Shay-Seymore D, Moore J, et al. Clinicopathologic analysis of follicular lymphoma occurring in children. *Blood*. 2002;99(6):1959–64. doi: 10.1182/blood.v99.6.1959.
16. Swerdlow SH. Pediatric follicular lymphomas, marginal zone lymphomas, and marginal zone hyperplasia. *Am J Clin Pathol*. 2004;122(Suppl 1):S98–S109. doi: 10.1309/4bknake4d7ct3c1b.
17. Oschlies I, Salaverria I, Mahn F, et al. Pediatric follicular lymphoma—a clinico-pathological study of a population-based series of patients treated within the Non-Hodgkin's Lymphoma—Berlin-Frankfurt-Munster (NHL-BFM) multicenter trials. *Haematologica*. 2010;95(2):253–9. doi: 10.3324/haematol.2009.013177.
18. Liu Q, Salaverria I, Pittaluga S, et al. Follicular lymphomas in children and young adults: a comparison of the pediatric variant with usual follicular lymphoma. *Am J Surg Pathol*. 2013;37(3):333–43. doi: 10.1097/pas.0b013e31826b9b57.
19. Louissaint A, Ackerman A, Dias-Santagata D, et al. Pediatric-type nodal follicular lymphoma: an indolent clonal proliferation in children and adults with high proliferation index and no BCL2 rearrangement. *Blood*. 2012;120(12):2395–404. doi: 10.1182/blood-2012-05-429514.
20. Guo Y, Karube K, Kawano R, et al. Low-grade follicular lymphoma with t(14;18) presents a homogeneous disease entity otherwise the rest comprises minor groups of heterogeneous disease entities with Bcl2 amplification, Bcl6 translocation or other gene aberrances. *Leukemia*. 2005;19(6):1058–63. doi: 10.1038/sj.leu.2403738.
21. Katzenberger T, Ott G, Klein T, et al. Cytogenetic alterations affecting BCL6 are predominantly found in follicular lymphomas grade 3B with a diffuse large B-cell component. *Am J Pathol*. 2004;165(2):481–90. doi: 10.1016/s0002-9440(10)63313-5.
22. Salaverria I, Siebert R. Follicular lymphoma grade 3B. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2011;24(2):11–9. doi: 10.1016/j.beha.2011.02.002.
23. Ngan BY, Chen-Levy Z, Weiss LM, et al. Expression in non-Hodgkin lymphoma of the bcl-2 protein associated with the t(14;18) chromosomal translocation. *N Engl J Med*. 1988;318(25):1638–44. doi: 10.1056/nejm198806233182502.
24. Adam P, Baumann R, Schmidt J, et al. The BCL2 E17 and SP66 antibodies discriminate 2 immunophenotypically and genetically distinct subgroups of conventionally BCL2-“negative” grade 1/2 follicular lymphomas. *Hum Pathol*. 2014;44(9):1817–26. doi: 10.1016/j.humpath.2013.02.004.
25. Lorschbach RB, Shay-Seymore D, Moore J, et al. Clinicopathologic analysis of follicular lymphoma occurring in children. *Blood*. 2002;99(6):1959–64. doi: 10.1182/blood.v99.6.1959.
26. Willis SN, Good-Jacobson KL, Curtis J, et al. Transcription Factor IRF4 Regulates Germinal Center Cell Formation through a B Cell–Intrinsic Mechanism. *J Immunol*. 2014;192(7):3200–6. doi: 10.4049/jimmunol.1303216.
27. Karube K, Guo Y, Suzumiya J, et al. CD10- MUM1+ follicular lymphoma lacks BCL2 gene translocation and shows characteristic biologic and clinical features. *Blood*. 2007;109(7):3076–9. doi: 10.1182/blood-2006-09-045989.
28. Sweetenham JW, Goldman B, LeBlanc ML, et al. Prognostic value of regulatory T cells, lymphoma-associated macrophages, and MUM-1 expression in follicular lymphoma treated before and after the introduction of monoclonal antibody therapy: a Southwest Oncology Group Study. *Ann Oncol*. 2010;21(6):1196–202. doi: 10.1093/annonc/mdp460.
29. Xerri L, Bachy E, Fabiani B, et al; LYSA study. Identification of MUM1 as a prognostic immunohistochemical marker in follicular lymphoma using computerized image analysis. *Hum Pathol*. 2014;45(10):2085–93. doi: 10.1016/j.humpath.2014.06.019.
30. Salaverria I, Philipp C, Oschlies I, et al. Translocations activating IRF4 identify a subtype of germinal center-derived B-cell lymphoma affecting predominantly children and young adults. *Blood*. 2011;118(1):139–47. doi: 10.1182/blood-2011-01-330795.
31. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375–90. doi: 10.1182/blood-2016-01-643569.
32. Quintanilla-Martinez L, Sander B, Chan JK, et al. Indolent lymphomas in the pediatric population: follicular lymphoma, IRF4/MUM1+ lymphoma, nodal marginal zone lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Virchows Arch*. 2016;468(2):141–57. doi: 10.1007/s00428-015-1855-z.
33. Jaffe ES. Follicular lymphomas: a tapestry of common and contrasting threads. *Haematologica*. 2013;98(8):1163–5. doi: 10.3324/haematol.2013.086678.
34. Martin-Guerrero I, Salaverria I, Burkhardt B, et al. Recurrent loss of heterozygosity in 1p36 associated with TNFRSF14 mutations in IRF4 translocation negative pediatric follicular lymphomas. *Haematologica*. 2013;98(8):1237–41. doi: 10.3324/haematol.2012.073916.
35. Launay E, Pangault C, Bertrand P, et al. High rate of TNFRSF14 gene alterations related to 1p36 region in de novo follicular lymphoma and impact on prognosis. *Leukemia*. 2012;26(3):559–62. doi: 10.1038/leu.2011.266.