

ЛИМФОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

LYMPHOID TUMORS

Особенности гемопоэза у больных фолликулярной лимфомой

М.А. Френкель, А.В. Моженкова, Н.А. Купрышина, Н.А. Фалалева, Н.Н. Тупицын

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Каширское ш., д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478

РЕФЕРАТ

Цель. Оценка кроветворения у больных фолликулярной лимфомой (ФЛ) на разных этапах течения болезни с различным морфологическим составом опухоли и костномозгового микроокружения.

Материалы и методы. В исследование включено 152 пациента с ФЛ, получавших лечение с 2006 по 2016 г. У всех больных диагноз установлен на основании иммуногистохимического исследования экстрамедуллярной опухоли, а также изучения трепанобиоптатов и аспиратов костного мозга. При поражении костного мозга ($n = 33$) выполняли детальное иммуноморфотипическое исследование опухолевых клеток методом точной цитометрии и подсчет лимфоцитогаммы.

Результаты. У больных ФЛ анемия, тромбоцитопения и моноцитоз в крови наблюдаются независимо от поражения костного мозга. При отсутствии признаков его поражения анемия выявлена у 23 (19 %) больных, тромбоцитопения — у 8 (7 %), моноцитоз — у 11 (9,1 %). У пациентов с поражением костного мозга анемия имела место в 9 (27,2 %) случаях, тромбоцитопения — в 11 (33,8 %), моноцитоз — в 7 (21 %). Глубина цитопении определялась степенью опухолевой инфильтрации костного мозга. На основании подсчета лимфоцитогаммы охарактеризованы типы опухолевых клеток в аспирате костного мозга: элементы с бластной структурой хроматина ядер, атипичные лимфоидные клетки и таковые, сходные с нормальными лимфоцитами. Показана иммунофенотипическая гетерогенность опухолевых клеток в костном мозге. Установлено, что уровень гемоглобина и число тромбоцитов, моноцитов крови, Т-лимфоцитов костного мозга не связаны с типом опухолевых клеток.

Заключение. Глубина угнетения гемопоэза и повышение числа моноцитов в крови коррелируют со степенью опухолевой инфильтрации костного мозга и не зависят от иммуноморфологических характеристик опухолевых клеток ФЛ.

Ключевые слова: фолликулярная лимфома, центроцит, центробласт, аспират, трепанобиоптат, иммунофенотип.

Получено: 8 февраля 2019 г.

Принято в печать: 2 декабря 2019 г.

Characteristics of Hematopoiesis in Follicular Lymphoma Patients

MA Frenkel, AV Mozhenkova, NA Kupryshina, NA Falaleeva, NN Tupitsyn

NN Blokhin National Medical Cancer Research Center, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478

ABSTRACT

Aim. To assess hematopoiesis in follicular lymphoma (FL) patients at different disease stages with different morphologic structures of tumor and bone marrow microenvironment.

Materials & Methods. The trial included 152 FL patients treated from 2006 to 2016. In all of them the diagnosis was based on immunohistochemical analysis of extramedullary tumor as well as the analysis of bone marrow aspirates and core biopsy samples. In cases of bone marrow lesions ($n = 33$) a detailed morpho-immunophenotypic evaluation of tumor cells was carried out by means of flow cytometry, and lymphocyte subset panel evaluation was performed.

Results. Anemia, thrombocytopenia, and monocytosis in blood of FL patients are not associated with bone marrow lesions. In the absence of signs of these lesions anemia was detected in 23 (19 %) patients, thrombocytopenia was identified in 8 (7 %) patients, and 11 (9.1 %) patients showed monocytosis. Among patients with bone marrow lesions 9 (27.2 %) anemia, 11 (33.8 %) thrombocytopenia, and 7 (21 %) monocytosis cases were reported. Depth of cytopenia was determined by the degree of bone marrow tumor infiltration. Based on lymphocyte subset panel evaluation the following types of tumor cells in bone marrow aspirates were characterized: elements with blastic structure of nuclear chromatin, atypical lymphoid cells, and those similar to normal lymphocytes. Immunophenotypic heterogeneity of tumor cells in bone marrow was demonstrated. The trial showed that hemoglobin level, the count of blood thrombocytes and monocytes as well as the count of bone marrow T-cells are not associated with types of tumor cells.

Conclusion. Arrest of hematopoiesis and increasing number of monocytes in blood correlate with the degree of bone marrow tumor infiltration and are not affected by morphoimmunological characteristics of FL tumor cells.

Keywords: follicular lymphoma, centrocyte, centroblast, aspirate, core biopsy sample, immunophenotype.

Received: February 8, 2019

Accepted: December 2, 2019

Для переписки: Марина Абрамовна Френкель, д-р мед. наук, профессор, Каширское ш., д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478; тел.: +7(499)324-45-60; e-mail: marinafren@yandex.ru

Для цитирования: Френкель М.А., Моженкова А.В., Купрышина Н.А. и др. Особенности гемопозза у больных фолликулярной лимфомой. Клиническая онкогематология. 2020;13(1):50–7.

DOI: 10.21320/2500-2139-2020-13-1-50-57

For correspondence: Prof. Marina Abramovna Frenkel, MD, PhD, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478; Tel.: +7(499)324-45-60; e-mail: marinafren@yandex.ru

For citation: Frenkel MA, Mozhenkova AV, Kupryshina NA, et al. Characteristics of Hematopoiesis in Follicular Lymphoma Patients. Clinical oncohematology. 2020;13(1):50–7 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2020-13-1-50-57

ВВЕДЕНИЕ

Фолликулярная лимфома (ФЛ) — это уникальное злокачественное лимфопролиферативное заболевание, при котором первичное нарушение генома происходит в костном мозге на уровне раннего пре-В-предшественника с формированием транслокации t(14;18)(q32;q21). Постулируемым неопухолевым эквивалентом клеток ФЛ являются centroциты и centroбласты герминативного центра вторичных лимфоидных фолликулов. Опухоль локализуется преимущественно в лимфатических узлах, может распространяться с вовлечением костного мозга, крови, селезенки, желудочно-кишечного тракта [1]. Диагноз заболевания базируется на данных иммуногистохимического исследования опухолевой ткани. На основании соотношения centroцитов и centroбластов в опухолевой ткани устанавливаются три цитологических типа ФЛ [2].

Частота вовлечения костного мозга при ФЛ, по данным разных исследователей, колеблется в широких пределах (40–70 %). Циркуляция опухолевых клеток в крови определяется менее чем у $\frac{1}{3}$ пациентов [3]. Поражение костного мозга при ФЛ устанавливается по результатам иммуноморфологического исследования аспирата костного мозга и материала, полученного при трепанобиопсии подвздошной кости [4–8]. Частота вовлечения костного мозга была выше при изучении отпечатков трепанобиоптата [9]. Следовательно, диагностическое преимущество остается за отпечатками трепанобиоптата [10].

Однако пункция костного мозга до последнего времени остается надежным критерием установления поражения костного мозга при ФЛ и оценки состояния гемопозза в целом. Исследование аспирата позволяет определить число миелокариоцитов, детально охарактеризовать морфологические и иммунофенотипические особенности ФЛ в костном мозге, клеток микроокружения в нем, количественно оценить уровень нормальных ростков гемопозза. Число лимфоцитов в миелограмме может существенно колебаться и зависит от качества забора материала. Согласно В. J. Vain [5], лимфоциты в норме составляют 13,1 % (диапазон 6–20 %); по нормам, принятым у нас в стране [11], — 9 % (диапазон 4,3–13,7 %). Показано, что даже нормальное число лимфоцитов в костном мозге не исключает возможности его поражения при ФЛ [12, 13].

Опухолевые клетки в костном мозге пациентов с ФЛ полиморфны по своим морфологическим характеристикам. Детальное описание centroцитов и centroбластов встречается в многочисленных ра-

ботах, посвященных гистологическому исследованию ФЛ [1]. Однако нам практически не встречалось в литературе описание цитологических особенностей клеток ФЛ в аспирате костного мозга. В настоящей работе анализу подвергнуты три цитологических типа опухолевых клеток в аспиратах костного мозга. Тип 1 — элементы с бластной структурой хроматина ядер и элементы, аналогичные centroбластам при гистологическом исследовании. Тип 2 — атипичные лимфоидные клетки. Они отличаются неправильной вытянутой, складчатой формой ядер, в части которых определяется узкая щель (cleaved cells). Эти элементы сходны с centroцитами в пораженных лимфатических узлах и других экстрамедуллярных очагах. Тип 3 — элементы, морфологически сходные с нормальными лимфоцитами.

В последние годы было доказано, что анемия и инфильтрация клетками лимфомы костного мозга могут служить независимыми неблагоприятными прогностическими факторами при ФЛ [14–16]. На этом основании был разработан индекс прогноза для пациентов с ФЛ FLIPI-1, а затем — индекс FLIPI-2 [17–20].

Однако до настоящего времени остается мало изученным вопрос о состоянии гемопозза на разных этапах прогрессирования опухоли.

Интерес представляют сведения о значении индекса Л/М — отношения абсолютного числа лимфоцитов к абсолютному числу моноцитов периферической крови. В ряде работ была установлена независимая прогностическая роль индекса. Его значение ниже 4,7 статистически значимо ассоциировалось с более короткой безрецидивной и общей выживаемостью пациентов [21]. Индекс Л/М имел большее прогностическое значение, чем параметры FLIPI-1 [22]. Авторы рекомендуют его в качестве простого и надежного критерия выделения групп прогноза при ФЛ [23].

В работе проанализированы показатели кровотока при ФЛ у больных с наличием или отсутствием поражения костного мозга с учетом морфоиммунофенотипической характеристики опухолевых клеток. Важным вопросом также является взаимосвязь клеток микроокружения (моноцитов и Т-лимфоцитов) с опухолевыми клетками и остаточными нормальными клетками гемопозза в костном мозге.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 152 первичных пациента с ФЛ. Больные наблюдались с января 2006 г. по декабрь 2016 г. в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ.

Средний возраст больных составил $56,4 \pm 0,9$ года (диапазон 26–84 года). Отношение мужчин/женщин — 1:2. С I стадией заболевания было 15 (9,9 %) пациентов, со II — 30 (19,7 %), с III — 24 (15,8 %), с IV — 83 (54,6 %). Преобладали пациенты с поздними (III–IV) стадиями.

У всех больных, включенных в настоящее исследование, диагноз ФЛ верифицирован по иммунофенологическим результатам исследования опухолевой ткани в соответствии с классификацией ВОЗ 2017 г.

Пункция костного мозга была выполнена всем 152 пациентам, трепанобиопсия — 147 (96,7 %).

Имунофенотипирование клеток биопсийного материала экстрамедуллярной опухоли выполнялось на свежемороженых (криостатных) срезах методом иммунофлюоресцентного окрашивания. Иммунологическое исследование опухолевых клеток костного мозга осуществлялось на приборе FACScan (Becton Dickinson, США) методом прямой иммунофлюоресценции с использованием тройной метки для оценки коэкспрессии 2–3 антигенов на мембране одной клетки. Панель моноклональных антител включала антитела к В-линейным (CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, иммуноглобулины), Т-линейным (CD3, CD4, CD5, CD7, CD8) и нелинейным антигенам (CD10, CD38, HLA-DR, общелейкоцитарному антигену CD45). Анализ данных проведен с помощью программы WinMDI.

Морфологическое исследование аспирата костного мозга проведено всем 152 больным. Забор аспирата костного мозга (в объеме 0,5–1,0 мл) осуществлялся в пробирки Vaktainer с сухим ЭДТА. На гематологическом анализаторе Micros 60 определяли число миелокариоцитов.

Подсчет миелограммы осуществлялся двумя врачами по 250 клеток каждым. В тех случаях, когда у пациента в аспирате определялось увеличение количества атипичных лимфоидных форм более 20 %, проводилось детальное морфологическое исследование опухолевого субстрата. Оно включало подсчет двумя экспертами лимфоцитограммы на 100 лимфоидных клеток. При этом учитывались три типа лимфоидных элементов. К первому были отнесены клетки типа центробластов среднего и крупного размера, округлой формы, с нежной тонкопетливой структурой хроматина и наличием нуклеол (рис. 1).

Ко второму типу были отнесены атипичные лимфоидные элементы среднего, реже крупного, размера

с плотной структурой хроматина. Они отличались неправильной складчатой формой ядер, в части клеток определялась расщелина (cleaved) (рис. 2).

Третий тип клеток опухолевых клеток был представлен элементами, морфологически идентичными нормальным лимфоцитам (рис. 3).

При характеристике бластных элементов дополнительно проводились цитохимические исследования. Изучались реакции на миелопероксидазу, липиды, неспецифическую эстеразу с ингибированием фторидом натрия и PAS-реакция. Во всех 5 случаях результаты были отрицательными.

Исследование гемопоэза помимо миелограммы включало данные общего анализа крови. Анемия диагностирована у больных при уменьшении уровня гемоглобина ниже 130 г/л у мужчин и 120 г/л у женщин, эритроцитов ниже $4 \times 10^{12}/л$ у мужчин и $3,9 \times 10^{12}/л$ у женщин. Нейтропения констатирована при числе нейтрофилов ниже $2 \times 10^9/л$, тромбоцитов ниже $180 \times 10^9/л$.

Дополнительно изучалось отношение абсолютного числа лимфоцитов к абсолютному числу моноцитов периферической крови (индекс Л/М) у каждого пациента. Индекс Л/М $< 4,7$ рассматривался как неблагоприятный фактор прогноза.

Обработка статистических данных выполнялась в системе SPSS, версия 17. При сравнении выборок использовался тест Стьюдента. Для сравнения непараметрических критериев применялся критерий Манна–Уитни. Связь между двумя дискретными величинами оценивалась с использованием χ^2 по Пирсону.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Все пациенты, включенные в настоящее исследование ($n = 152$), на основании изучения аспирата и трепанобиоптата были разделены на три группы. I группу составили 93 (61,2 %) больных без поражения костного мозга, II — 26 (17,1 %) с поражением костного мозга только по трепанобиоптату и отсутствием его поражения по аспирату. В III группу включено 33 (21,7 %) пациента с поражением костного мозга и по трепанобиоптату, и по аспирату.

Сопоставление показателей периферической крови больных ФЛ в трех анализируемых группах представлено в табл. 1.

Таблица 1. Показатели крови пациентов с фолликулярной лимфомой, включенных в исследование

Группа	Число больных	Гемоглобин, г/л	Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	Тромбоциты, $\times 10^9/л$	Нейтрофилы, $\times 10^9/л$
I	93	133,7 \pm 1,8 (82–176)	4,6 \pm 0,6 (2,8–5,7)	242,9 \pm 8,6 (95–485)	4,6 \pm 0,3 (0,4–18,9)
II	26	130,8 \pm 3,3 (97–163)	4,5 \pm 0,1 (3,5–5,5)	191,9 \pm 12,5 (99–295)	3,9 \pm 0,3 (1,8–8,7)
III	33	125,3 \pm 4,1 (68–170)	4,4 \pm 0,13 (1,9–5,4)	187,9 \pm 17,5 (81–561)	4,6 \pm 0,3 (2,2–10,8)
p^*		0,451	0,312	0,005	0,285
p^{**}		0,034	0,075	0,003	0,958
p^{***}		0,325	0,611	0,859	0,218

I группа — без поражения костного мозга; II — с поражением костного мозга по трепанобиоптату; III — с поражением костного мозга по трепанобиоптату и аспирату.

* Для сравнения групп I и II.

** Для сравнения групп I и III.

*** Для сравнения групп II и III.

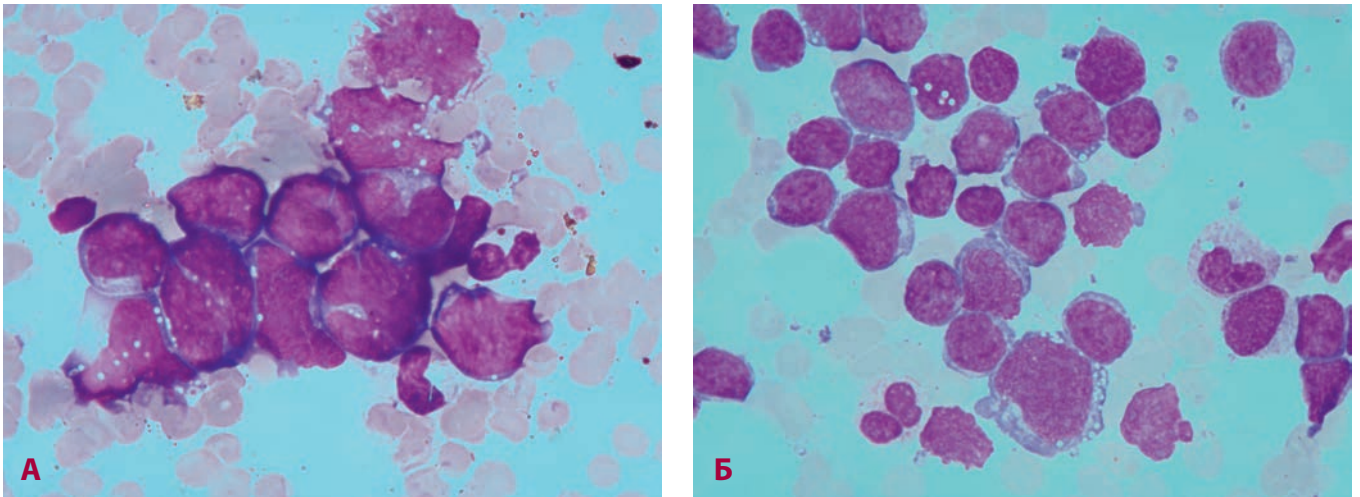


Рис. 1. (А, Б) Центробласты фолликулярной лимфомы в аспирате костного мозга

Fig. 1. (А, Б) Centroblasts of follicular lymphoma in bone marrow aspirate

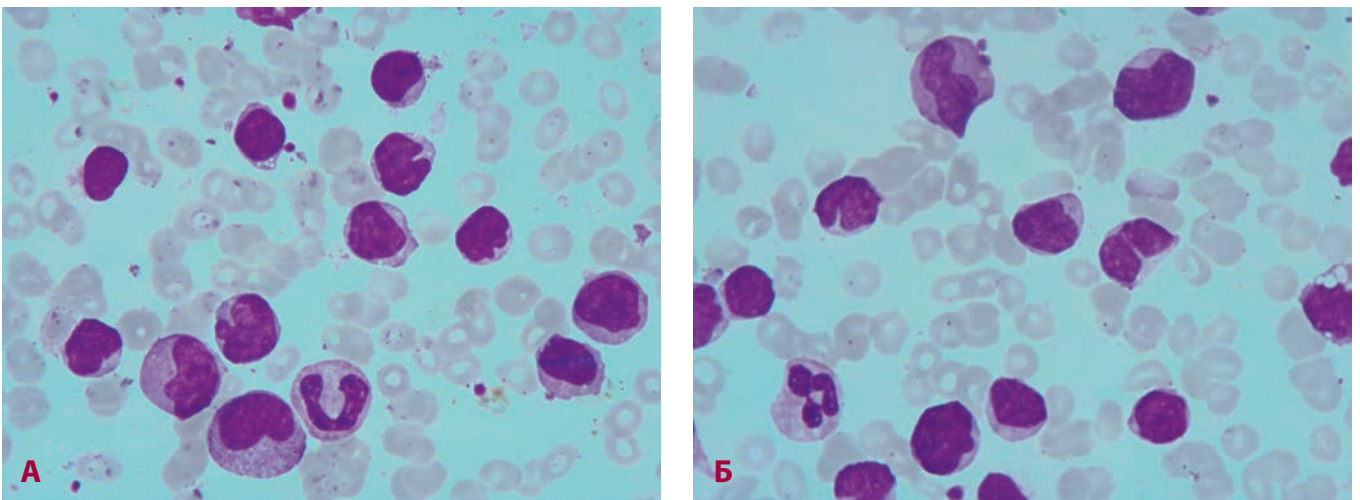


Рис. 2. (А, Б) Атипичные лимфоидные клетки типа центроцитов в аспирате костного мозга при фолликулярной лимфоме

Fig. 2. (А, Б) Atypical centrocyte-like lymphoid cells in bone marrow aspirate in follicular lymphoma

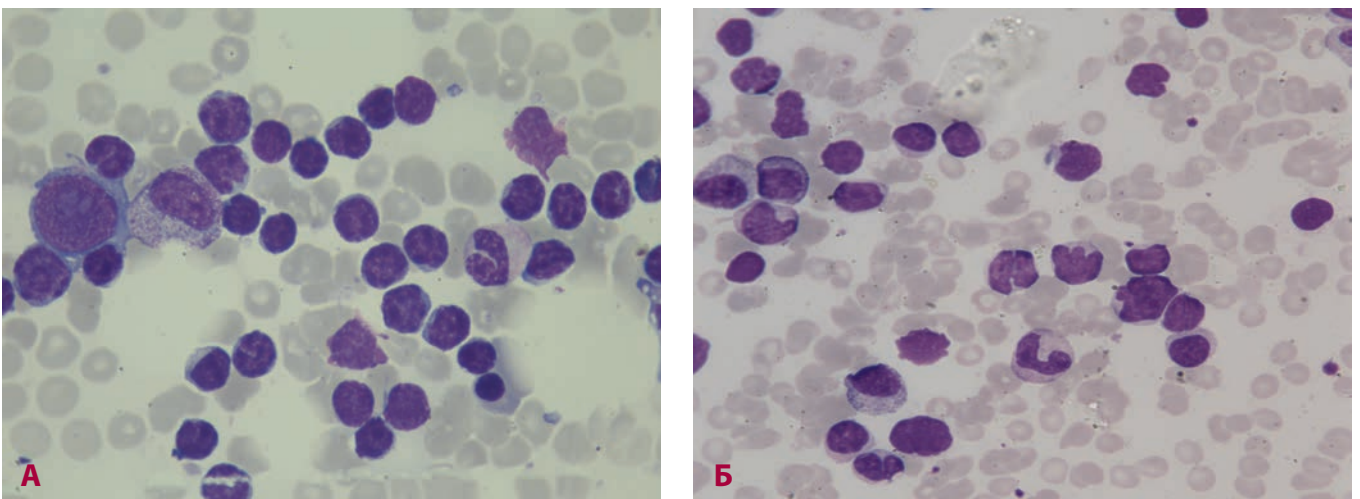


Рис. 3. (А, Б) Опухолевые клетки фолликулярной лимфомы в костном мозге, морфологически сходные с лимфоцитами

Fig. 3. (А, Б) Tumor cells of follicular lymphoma in bone marrow, morphologically similar to lymphocytes

Как видно из представленных данных, средние уровни гемоглобина различались только между I и III группой ($p = 0,034$). Частота случаев снижения гемоглобина составила 19,3, 23,6 и 27,2 % в группах I, II и III соответственно. В III группе снижение гемоглобина отмечалось статистически значимо чаще ($p = 0,032$).

Среднее число эритроцитов по группам было примерно одинаковым. Частота эритроцитопении также различалась незначительно (3,2–12 %). Показатели среднего объема эритроцитов (MCV) у пациентов с анемией были во всех случаях в пределах нормы, анемия носила нормоцитарный характер.

Тромбоцитопения имела место в 7,5, 26,9 и 39,4 % случаев в группах I, II и III соответственно. Тромбоцитопения чаще развивалась в III группе ($p = 0,015$). Тромбоцитопения была статистически значимо глубже в III группе по сравнению с двумя другими.

Сочетанная анемия и тромбоцитопения определялись у 13 (8,5 %) пациентов, из них в I группе у 4, во II — у 2 и в III — у 7. Полученные данные позволяют заключить, что у больных ФЛ анемия и тромбоцитопения отмечаются не только при наличии поражения костного мозга, но и при нормальном составе миелограммы.

Абсолютное число нейтрофилов существенно не различалось у пациентов разных групп. Нейтропения была у 5 (3,3 %) больных (у 3 — в I группе и у 2 — во II).

Число моноцитов периферической крови в процентном и абсолютном выражениях колебалось во всех группах от 1 до 17 % ($0,05\text{--}2,07 \times 10^9/\text{л}$). Абсолютный моноцитоз ($> 0,6 \times 10^9/\text{л}$) был выявлен во всех трех группах (9,1, 13,3 и 25,9 % соответственно) и определялся статистически значимо чаще в III группе ($p = 0,043$) (табл. 2).

Число лимфоцитов периферической крови в I и II группах было в пределах нормы. В III группе у 14 (36,4 %) пациентов отмечалось увеличение количества патологических лимфоидных элементов.

Лимфоидные клетки были гетерогенны, представлены атипичными лимфоидными элементами и клетками с морфологической характеристикой нормальных лимфоцитов. Таким образом, только у пациентов III группы в периферической крови было констатировано наличие патологических элементов лимфомы. Морфологическое сходство опухолевых лимфоидных клеток ФЛ и нормальных лимфоцитов в мазках периферической крови затрудняет их четкую идентификацию. Иммунофенотическое исследование крови позволяет увеличить частоту выявления и количество циркулирующих опухолевых клеток.

Индекс Л/М определялся у всех пациентов, за исключением 14 из III группы с наличием патологических лимфоидных клеток в крови. В среднем индекс Л/М составил 4,8, 3,9 и 3,8 у больных I, II и III групп соответственно и был статистически значимо ниже в III группе ($p = 0,034$). Частота снижения индекса Л/М также была выше в III группе (см. табл. 2). Можно согласиться с авторами ранее упомянутых исследований [21–23], что использование такого простого показателя может дать дополнительную информацию для определения группы риска у пациентов.

Таким образом, у больных ФЛ может иметь место нормоцитарная анемия, тромбоцитопения и моноцитоз. Эти изменения обнаруживаются в случаях без поражения костного мозга и статистически значимо чаще при его вовлечении.

Клеточность (число миелокарицитов) аспиратов костного мозга, как правило, у всех больных была в пределах нормальных значений. В среднем у больных III группы она была выше, чем в I и II группах ($p = 0,058$), за счет увеличения количества клеток лимфоидного ряда. Этим обусловлена разница в составе миелограммы у пациентов III группы по сравнению с I и II (табл. 3).

Гранулоцитарный росток в миелограмме у пациентов I и II групп был в пределах нормы. Число гранулоцитов, индекс созревания колебались в пределах нормальных значений. В III группе отмечалось относительное снижение числа гранулоцитов в миелограмме и статистически значимое снижение индекса созревания по сравнению со II группой.

Число нормобластов в миелограмме было в пределах нормальных значений в I и II группах, статистически значимо снижено в III. Индекс созревания эритрокарицитов был одинаково повышен во всех группах и в среднем колебался от 0,93 до 0,96. Сужение красного ряда в III группе обуславливает статистически значимое увеличение лейкоэритробластического отношения по сравнению с двумя другими.

Количество лимфоцитов в I и II группах было в пределах нормы. В III группе лимфоидные элементы были представлены полиморфными опухолевыми клетками с различной морфологией.

Подводя итоги анализа данных периферической крови и миелограмм у больных ФЛ, можно заключить, что анемия и тромбоцитопения могут иметь место не только при поражении костного мозга, но и на этапах болезни, когда ни в аспирате, ни в трепанобиоптате не обнаруживаются клетки ФЛ. Степень снижения показателей гемоглобина и тромбоцитов статистически значимо увеличивается при поражении костного

Таблица 2. Число моноцитов и индекс Л/М < 4,7 в крови у пациентов, включенных в исследование

Группа	Число больных	Абсолютное число моноцитов, М ± m (диапазон)	Число больных с моноцитозом > 0,8 × 10 ⁹ /л, n (%)	Число больных с индексом Л/М < 4,7, n (%)
I	55	0,54 ± 0,09 (0,05–4,8)	5 (9,1)	33 (60,0)
II	15	0,44 ± 0,06 (0,08–0,87)	2 (13,3)	11 (73,3)
III	27****	0,7 ± 0,08 (0,19–2,07)	7 (25,9)	11 (84,6)
<i>p</i> *		0,545	0,627	0,343
<i>p</i> **		0,236	0,043	0,100
<i>p</i> ***		0,030	0,341	0,043

I группа — без поражения костного мозга; II — с поражением костного мозга по трепанобиоптату; III — с поражением костного мозга по трепанобиоптату и аспирату; индекс Л/М — отношение абсолютного числа лимфоцитов к абсолютному числу моноцитов периферической крови.

* Для сравнения групп I и II.

** Для сравнения групп I и III.

*** Для сравнения групп II и III.

**** В III группе индекс Л/М подсчитан у 13 больных.

Таблица 3. Показатели миелограмм пациентов, включенных в исследование

Показатель	Норма	Группа I (n = 93)	Группа II (n = 26)	Группа III (n = 33)	p
		M ± m (диапазон)			
Миелокарициты, ×10 ⁹ /л	41,6–195,0	79,7 ± 6,2 (25–394)	96,9 ± 10,8 (24–225)	133,2 ± 20,4 (14–462)	0,184* 0,058** 0,516***
Сумма клеток гранулоцитарного ряда, %	57,1–66,5	61,2 ± 0,7 (42,0–76,6)	61,3 ± 2,01 (35,0–75,2)	36,9 ± 2,7 (4,6–65,0)	0,508* 0,000** 0,000***
Индекс созревания гранулоцитов	0,5–0,9	0,45 ± 0,02	0,6 ± 0,1	0,46 ± 0,05	0,128* 0,119** 0,029***
Сумма клеток эритроидного ряда, %	14,5–26,6	21,8 ± 0,8 (8,2–41,0)	24,6 ± 2,1 (9,8–55,4)	10,4 ± 0,9 (0,3–24,0)	0,308* 0,000** 0,000***
Индекс созревания нормобластов	0,7–0,9	0,93 ± 0,004	0,94 ± 0,01	0,96 ± 0,01	0,513* 0,129** 0,082***
Лимфоидные клетки, %	4,3–13,7	12,1 ± 0,45 (2,2–29,2)	9,7 ± 0,58 (5,0–16,8)	47,7 ± 3,3 (19,4–92,2)	0,010* 0,000** 0,000***
Лейкоэритробластическое отношение	2,1–4,5	3,3 ± 0,16	3,1 ± 0,32	5,7 ± 1,1	0,611* 0,022** 0,032***

I группа — без поражения костного мозга; II — с поражением костного мозга по трепанобиоптату; III — с поражением костного мозга по трепанобиоптату и аспирату.

* Для сравнения групп I и II.

** Для сравнения групп I и III.

*** Для сравнения групп II и III.

Таблица 4. Иммунофенотип лимфоидных В-клеток костного мозга при фолликулярной лимфоме

Группа	CD10, %	CD23, %	CD38, %	HLA-DR, %
A (n = 5)	29,9 ± 18,7	46,3 ± 19,9	62,1 ± 19,1	72,7 ± 8,4
Б (n = 19)	32,2 ± 7,9	50,7 ± 7,9	24,2 ± 6,4	69,6 ± 6,9
В (n = 9)	33,1 ± 12,3	36,4 ± 9,2	15,5 ± 3,8	74,3 ± 6,2
p*	0,900	0,809	0,024	0,805
p**	0,883	0,614	0,053	0,878
p***	0,946	0,274	0,371	0,634

* Для сравнения групп А и Б.

** Для сравнения групп А и В.

*** Для сравнения групп Б и В.

мозга, выявляемом либо только в трепанобиоптате, либо также и в аспирате. Нарушения гемопоза статистически значимо чаще обнаруживались у больных II и III групп с поражением костного мозга по сравнению с I группой. Анемия сопровождалась увеличением количества зрелых форм нормобластов в костном мозге — повышением индекса созревания красного ростка в миелограмме у большинства пациентов. Можно предположительно высказаться о том, что эти изменения, вероятно, обусловлены нарушением созревания ранних эритроидных предшественников. Сочетанные нарушения двух ростков миелопоэза (эритроидного и тромбоцитарного) позволяют предположить, что угнетение гемопоза у пациентов с ФЛ связано с наличием опухоли независимо от ее локализации — экстрамедуллярной (пациенты I группы без поражения костного мозга) или в костном мозге. Нейтрофильный росток миелопоэза остается без изменений. Моноцитоз периферической крови и, соответственно, снижение индекса Л/М определяются на всех этапах заболевания. Моноцитарная реакция гемопоза на ФЛ коррелирует с увеличением опухолевой нагрузки.

Поражение костного мозга при ФЛ по данным аспирата было установлено в 33 наблюдениях. При этом опухолевые лимфоидные клетки костного мозга характеризовались значительным полиморфизмом. Они были представлены лимфоидными клетками с бластной морфологией ядер, атипичными лимфоидными элементами и клетками типа лимфоцитов. Их соотношение в аспиратах костного мозга у разных больных существенно варьировало. На основании подсчета лимфоцитогаммы были установлены три морфологических варианта поражения костного мозга при ФЛ. В соответствии с вариантом опухолевого поражения все больные были разделены на три группы: А, Б и В. Группу А составили 5 пациентов. Для них было характерно наличие в костном мозге более 30 % клеток типа центробластов в лимфоцитогамме. Группу Б составили 19 пациентов, в лимфоцитогамме которых определялись атипичные лимфоидные элементы с ядрами неправильной расщепленной формы — клетки типа центроцитов и единичные бластные формы. Группа В включала 9 наблюдений с клетками, морфологически идентичными нормальным лимфоцитам, и небольшим числом (< 20 %) атипичных лимфоидных форм.

При сравнении иммунофенотипического профиля лимфоидных клеток в анализируемых трех группах была изучена экспрессия антигенов CD10, CD23, CD38 и HLA-DR (табл. 4).

Как видно из данных табл. 4, средние показатели экспрессии антигенов CD10, CD23 и HLA-DR на опухолевых клетках были близки во всех трех группах. Значение CD38 в группе А было статистически значимо выше, чем в группах Б и В. На рис. 4 и 5 представлены цитогаммы экспрессии антигена CD38 на лимфоидных В-клетках костного мозга больных ФЛ.

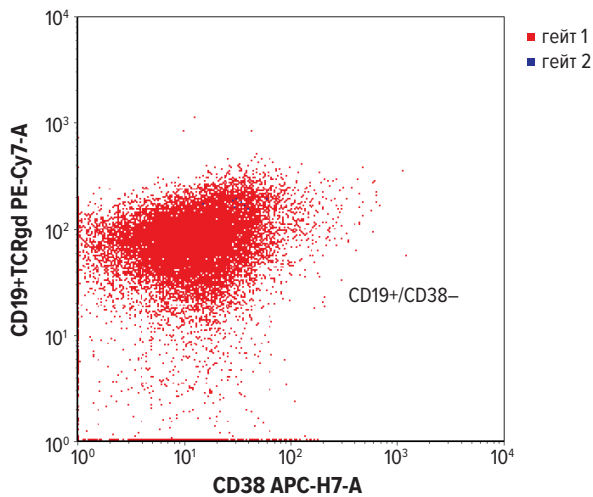


Рис. 4. Цитограмма лимфоидных В-клеток костного мозга у больного из группы Б. Клетки экспрессируют пан-В-клеточный антиген CD19 (ось y), экспрессия CD38 (ось x) отсутствует

Fig. 4. Cytoqram of lymphoid B-cells in bone marrow of a group B patient. The cells express CD19 pan-B-cell antigen (y-axis), no signs of CD38 expression (x-axis)

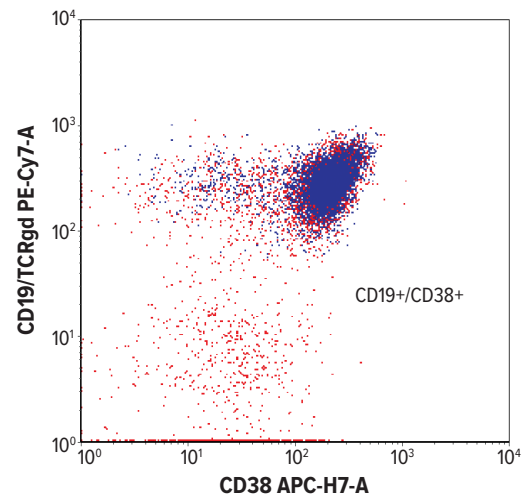


Рис. 5. Цитограмма лимфоидных В-клеток костного мозга у больного из группы А. Клетки экспрессируют пан-В-клеточный антиген CD19 (ось y) в сочетании с яркой экспрессией CD38 (ось x)

Fig. 5. Cytoqram of lymphoid B-cells in bone marrow of a group A patient. The cells express CD19 pan-B-cell antigen (y-axis) along with clear CD38 expression (x-axis)

Частота CD38-позитивных случаев в группе А (80 %) была выше, чем в группе Б (44,4 %), и статистически значимо выше, чем в группе В (22,2 %) ($p = 0,036$). Частота экспрессии остальных маркеров не различалась.

Таким образом, можно заключить, что иммунофенотип лимфоидных клеток ФЛ в костном мозге характеризуется гетерогенностью. Для группы А характерна высокая экспрессия антигена CD38.

Сравнение показателей периферической крови больных в группах с разной морфоиммунофенотипической характеристикой опухолевых клеток не выявило различий в уровне гемоглобина, количестве эритроцитов, тромбоцитов и нейтрофилов. Существенные различия были установлены в числе лимфоцитов периферической крови. У больных в группе А абсолютное число лимфоцитов было в пределах нормы, в группе Б лимфоцитоз был констатирован у $1/3$ (31,6 %) пациентов, в группе В — у большинства (66,6 %). Следовательно, у больных группы А в периферической крови отсутствовали опухолевые клетки; наиболее часто они выявлялись в случаях, когда клетки ФЛ были сходны с лимфоцитами.

Таким образом, изменения гемопоэза у больных ФЛ с поражением костного мозга не были связаны с каким-либо морфологическим типом опухолевых клеток. Тип ФЛ с бластным поражением костного мозга требует дополнительных исследований с большим числом наблюдений.

Исследование кроветворения при ФЛ включало изучение субпопуляций лимфоцитов (микрочреждения) в костном мозге. Наряду с моноцитами были изучены Т-лимфоциты. Выявлено снижение числа Т-лимфоцитов у большинства больных ФЛ. Уменьшение в аспирате костного мозга по сравнению с нормой количества Т-лимфоцитов CD3 (< 21 %) отмечалось в 23 (69,7 %) случаях, CD7 (< 17 %) — в 18 (54,5 %), CD4 (< 14 %) — в 20 (60,9 %), CD8 (< 11 %) — в 20 (60,6 %) (табл. 5).

Таблица 5. Число больных со снижением числа лимфоцитов CD3, CD7, CD4 и CD8

Антиген	Группа А, n (%)	Группа Б, n (%)	Группа В, n (%)	p
CD3 (< 21 %)	3/5 (60,0)	12/18 (66,7)	8/9 (89,0)	0,782* 0,207** 0,214***
CD7 (< 17 %)	3/4 (75,0)	9/14 (64,3)	6/8 (75,0)	0,688* 1,000** 0,604***
CD4 (< 14 %)	2/4 (50,0)	10/15 (66,7)	8/9 (89,0)	0,539* 0,028** 0,065***
CD8 (< 11 %)	3/4 (75,0)	11/15 (73,3)	6/8 (75,0)	0,946* 1,000** 0,931***

* Для сравнения групп А и Б.

** Для сравнения групп А и В.

*** Для сравнения групп Б и В.

Таким образом, можно заключить, что снижение числа Т-лимфоцитов костномозгового микроокреждения определяется у большинства пациентов ФЛ с поражением костного мозга и не зависит от состава опухолевых клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У 152 больных ФЛ детально изучены аспираты костного мозга и показатели крови. Выделены три группы пациентов: I — без поражения костного мозга, II — с его поражением только по трепанобиоптату и III — с вовлечением костного мозга, установленным как по трепанобиоптату, так и по аспирату. III группа характеризовалась бóльшим угнетением кроветворения — более низкими уровнями гемоглобина и тромбоцитов. Вместе с тем отмечено, что анемия и тромбоцитопения имеют место не только при наличии поражения костного мозга, но и при нор-

мальном составе миелограммы. У больных III группы статистически значимо чаще наблюдался моноцитоз и прогностически неблагоприятный индекс Л/М (< 4,7). При анализе показателей миелограммы отмечено снижение суммарного содержания клеток гранулоцитарного и эритроидного рядов в III группе.

В случаях поражения костного мозга ($n = 33$) клетки ФЛ в нем характеризовались значительным полиморфизмом. Они были представлены лимфоидными клетками с бластной морфологией ядер (группа А), атипичными лимфоидными элементами, в т. ч. с расщепленными ядрами (группа Б), и клетками типа лимфоцитов (группа В). Выявлен статистически значимо более высокий уровень экспрессии антигена CD38 в группе А. При анализе субпопуляционного состава лимфоцитов костномозгового микроокружения отмечалось, как правило, снижение числа Т-клеток и их субпопуляций, причем снижение лимфоцитов CD4 наблюдалось статистически значимо чаще в группе В.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов. Н.Н. Тупицын и М.А. Френкель, члены редакционной коллегии журнала «Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика», не участвовали в рецензировании рукописи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: М.А. Френкель, Н.Н. Тупицын.

Сбор и обработка данных: А.В. Моженкова, Н.А. Купрышина, Н.А. Фалалеева.

Предоставление материалов исследования: А.В. Моженкова.

Анализ и интерпретация данных: М.А. Френкель, Н.Н. Тупицын, А.В. Моженкова.

Подготовка рукописи: все авторы.

Окончательное одобрение рукописи: Н.Н. Тупицын.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. (eds). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (Revised 4th edition). Lyon: IARC Press; 2017. pp. 266–76.
2. Ковригина А.М., Пробатова Н.А. Дифференциальная диагностика неходжкинских В-клеточных лимфом. Онкогематология. 2017;2(2):4–9. [Kovrigina AM, Probatova NA. Differential diagnosis of non-Hodgkin's B-cell lymphomas. Onkogematologiya. 2017;2(2):4–9. (In Russ)]
3. Тумян Г.С., Леонтьева А.А., Фалалеева Н.А. и др. Фолликулярная лимфома: 10 лет терапии. Клиническая онкогематология. 2012;5(3):204–13.

[Tumyan GS, Leont'eva AA, Falaleeva NA, et al. Follicular lymphoma: 10 years of therapy. Klinicheskaya onkogematologiya. 2012;5(3):204–13. (In Russ)]

4. Morra E, Lazzarino M, Castello A, et al. Bone marrow and blood involvement by non-Hodgkin's lymphoma: A study of clinicopathologic correlations and prognosis significance in relationship to the Working Formulation. Eur J Haemat. 2009;42(5):445–53. doi: 10.1111/j.1600-0609.1989.tb01469.x.

5. Bain BJ. Bone marrow aspiration. J Clin Pathol. 2001;54(9):657–63. doi: 10.1136/jcp.54.9.657.

6. Schwonzen M, Pohl C, Steinmetz T, et al. Bone marrow involvement in non-Hodgkin's lymphoma: increased sensitivity by combination of immunology, cytomorphology and threphine histology. Br J Haematol. 1992;81(3):362–9. doi: 10.1111/j.1365-2141.1992.tb08240.x.

7. Sah SP, Matutes E, Wotherspoon P, et al. A comparison of flow cytometry, bone marrow biopsy, and bone marrow aspirates in the detection of lymphoid infiltration in B cell disorders. J Clin Pathol. 2003;56(2):129–32. doi: 10.1136/jcp.56.2.129.

8. Пластинина Л.В., Ковригина А.М., Нестерова А.С. и др. Поражение костного мозга при фолликулярной лимфоме 3-го цитологического типа. Гематология и трансфузиология. 2018;63(S1):12–4.

[Plastinina LV, Kovrigina AM, Nesterova AS, et al. Bone marrow lesions in grade 3 follicular lymphoma. Gematologiya i transfuziologiya. 2018;63(S1):12–4. (In Russ)]

9. Френкель М.А., Чигринова Е.В., Купрышина Н.А., Павловская А.И. Диагностическое значение исследования отпечатков трепанобиоптатов костного мозга при периферических неходжкинских лимфомах. Клиническая лабораторная диагностика. 2007;1:44–7.

[Frenkel MA, Chigrinova EV, Kupryshina NA, Pavlovskaya AI. Diagnostic value of the analysis of bone marrow core biopsy imprints in peripheral non-Hodgkin's lymphomas. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 2007;1:44–7. (In Russ)]

10. Ruthenford SC, Li V, Chion P, et al. Bone marrow biopsies do not impact response assessment for follicular lymphoma patients treated on clinical trials. Br J Haemat. 2017;179(2):242–5. doi: 10.1111/bjh.14839.

11. Луговская С.А., Почтарь М.Е. Морфология клеток костного мозга в норме и патологии. Тверь: Триада, 2018. 246 с.

[Lugovskaya SA, Pochtar ME. Morfologiya kletok kostnogo mozga v norme i patologii. (The morphology of bone marrow cells under normal and pathological conditions.) Tver: Triada Publ.; 2018. 246 p. (In Russ)]

12. Фалалеева Н.А. Фолликулярная лимфома: клиническое и иммунопатогенетическое обоснование рациональной терапии. Дис. ... д-ра мед. наук. М., 2017.

[Falaleeva NA. Follikulyarnaya limfoma: klinicheskoe i immunopatogeneticheskoe obosnovanie ratsionalnoi terapii. (Follicular lymphoma: clinical and immunopathogenetic justification of rational therapy.) [dissertation] Moscow; 2017. (In Russ)]

13. Gomyo H, Shimoyama K, Minagava K, et al. Morphologic, cytometric and cytogenetic evaluation of bone marrow involvement in B-cell lymphoma. Haematologica. 2003;88(12):1358–65.

14. De la Motte Rouge T, Schneider M. Anemia in lymphoma. Bull Cancer. 2005;92(5):429–31.

15. Moullet I, Salles G, Ketterer N, et al. Frequency and significance of anemia in non-Hodgkin's lymphoma. Ann Oncol. 1998;9(10):1109–15. doi: 10.1023/a:1008498705032.

16. Park J. Follicular lymphoma in leukemic phase with unusual morphology at diagnoses. Blood Res. 2015;50(4):193–5. doi: 10.5045/br.2015.50.4.193.

17. Gine E, Montoto S, Bosch F, et al. The Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) and histological subtype are most important factors to predict histological transformation in follicular lymphoma. Ann Oncol. 2006;17(10):1539–45. doi: 10.1093/annonc/mdl162.

18. Solal-Celigny P, Roy P, Colombat P, et al. Follicular lymphoma international prognostic index. Blood. 2004;104(5):1258–65. doi: 10.1182/blood-2003-12-4434.

19. Jacobi N, Rogers TB, Peterson BA. Prognostic factors in follicular lymphoma: a single institution study. Oncol Rep. 2008;20(1):185–93. doi: 10.3892/or.20.1.185.

20. Vitolo U, Ferreri AJ, Montoto S. Follicular lymphoma. Crit Rev Oncol Hematol. 2008;66(3):248–61. doi: 10.1016/j.critrevonc.2008.01.014.

21. Kumagai S, Tashima M, Fujikawa J, et al. Ratio of peripheral blood absolute lymphocyte count to absolute monocyte count at diagnosis is associated with progression-free survival in follicular lymphoma. Int J Hematol. 2014;99(6):737–42. doi: 10.1007/s12185-014-1576-0.

22. Jellicic J, Balint MT, Jovanovic MP, et al. The role of lymphocyte to monocyte ratio, microvessel density and high CD44 tumor cell expression in non Hodgkin lymphomas. Pathol Oncol Res. 2016;22(3):567–77. doi: 10.1007/s12253-015-0032-7.

23. Marcheselli L, Bari A, Anastasia A, et al. Prognostic role absolute monocyte and absolute lymphocyte counts in patients with advanced-stage follicular lymphoma in the rituximab era: an analysis from the FOLL05 trial of the Fondazione Italiana Linfomi. Br J Haematol. 2015;169(4):544–51. doi: 10.1111/bjh.13332.