

И.А. Родионова

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины

Киевская городская клиническая больница № 9, Киев, Украина

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЛОСАТОКЛЕТОЧНОГО ЛЕЙКОЗА И ЛИМФОМЫ СЕЛЕЗЕНКИ С ВОРСИНЧАТЫМИ ЛИМФОЦИТАМИ

Ключевые слова:

волосатоклеточный лейкоз, ворсинчатые лимфоциты, иммунофенотипирование.

Резюме. Волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ) и лимфома селезенки с ворсинчатыми лимфоцитами (ЛСВЛ) относятся к редким формам хронических лимфопролиферативных заболеваний. На протяжении последних лет наблюдается значительное увеличение количества больных с подобной патологией. Приведены клиничко-гематологические показатели больных с ВКЛ и ЛСВЛ. Показано, что для установления цитологического варианта и прогноза заболевания, а также назначения современной стандартной протокольной терапии, кроме морфологических признаков, следует учитывать результаты цитохимического и иммуноцитохимического анализа.

ВВЕДЕНИЕ

Группа хронических лимфопролиферативных заболеваний чрезвычайно гетерогенна. Она включает В-клеточный хронический лимфолейкоз (В-ХЛЛ) — около 30% всех больных — и более редкие нозологические формы, среди них выделяют волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ) и лимфому селезенки с ворсинчатыми лимфоцитами (ЛСВЛ). В европейских странах, Северной Америке и Японии на долю ВКЛ приходится 2% всех форм лейкозов [1, 2]. Залогом успешного лечения больных может быть своевременная и точная диагностика отдельных нозологических форм и вариантов хронических лимфолейкозов и неходжкинских злокачественных лимфом. ВКЛ и ЛСВЛ долгое время рассматривали как клиничко-морфологические варианты В-ХЛЛ, хотя уже с середины 50-х годов XX в. большинство исследователей обращали внимание на особенности клинической картины и своеобразные морфологические признаки опухолевых клеток. Современные же названия обоих процессов появились после электронно-микроскопического и цитохимического исследований лейкоэмических клеток при данных заболеваниях [1, 3].

ВКЛ и ЛСВЛ диагностируют преимущественно у лиц среднего и пожилого возраста. Мужчины заболевают в 4–5 раз чаще, чем женщины. Этиология рассматриваемых заболеваний окончательно не изучена [2]. Патогенез ВКЛ и ЛСВЛ, как и ряда других гемобластозов, представляет собой многоступенчатый процесс, ранним событием которого считается развитие генетической нестабильности.

Целью нашего исследования было изучение с помощью современных методов клинических особенностей и выявление лабораторных отличий ВКЛ, варианта ВКЛ и лимфомы селезенки с ворсинчатыми лимфоцитами.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Были обследованы 149 больных с В-клеточными хроническими лимфопролиферативными заболеваниями, находившихся на лечении в Киевской городской клинической больнице № 9 с 2001 по 2002 г. Среди них 20 пациентов были с диагнозом ВКЛ и ЛСВЛ — 16 (80%) мужчин и 4 (20%) женщины (табл. 1). Возраст больных варьировал от 30 до 70 лет (медиана — 50 лет).

Обследование больных включало: осмотр с тщательным анализом состояния лимфатических узлов, селезенки и печени; общий клинический анализ крови; клинический анализ мочи; биохимическое исследование сыворотки крови с определением содержания АЛТ, АСТ, уровней билирубина, белка и иммуноглобулинов, креатинина, азота мочевины; определение группы крови и резус-принадлежности; анализ крови на RW, маркеры вирусных гепатитов, анализ коагулограммы, рентгенографию органов грудной полости, ультразвуковое исследование органов брюшной полости и периферических лимфатических узлов (с указанием размеров печени, селезенки, максимальных размеров лимфатических узлов); пункцию костного мозга с подсчетом миелограммы. У ряда больных при необходимости проводили дополнительные исследования (компьютерная томография органов грудной полости; трепанобиопсия костного мозга; биопсия экстранодальных поражений).

Цитохимические и иммуноцитологические исследования костного мозга (РАР-, АРААР-, АВС-методы) с использованием широкой панели моноклональных антител (мкАТ) к линейно-специфическим и дифференцировочным антигенам лимфоцитов периферической крови и костного мозга были проведены в отделе иммуноцитохимии ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины.

Таблица 1
Пациенты с хроническими лимфопролиферативными заболеваниями, находившиеся на лечении в гематологических отделениях Киевской городской клинической больницы № 9 (2001–2002 гг.)

Нозологическая форма	Число больных
В-ХЛЛ	70
В-ПЛЛ	8
НЗЛ маргинальной зоны	10
Лимфома из клеток центров фолликулов	5
Лимфома из клеток мантийной зоны	13
Лимфома плазмочитарная лимфома	19
ВКЛ	10
ВВКЛ	3
ЛСВЛ	7
Т-ПЛЛ	4

Примечание. Здесь и в табл. 4: В-ПЛЛ — В-пролимфоцитарный лейкоз, НЗЛ — неходжкинская злокачественная лимфома, ВВКЛ — вариант волосатоклеточного лейкоза, ЛСВЛ — лимфома селезенки с ворсинчатыми лимфоцитами.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Больные с ВКЛ и ЛСВЛ при поступлении в стационар предъявляли жалобы на слабость, уменьшение массы тела, лихорадку, потливость, боль в области селезенки. У 6 больных отмечалось длительное бессимптомное течение заболевания. Основным клиническим проявлением была спленомегалия (селезенка пальпировалась на 6–7 см ниже края реберной дуги) (табл. 2).

Таблица 2
Данные клинического обследования больных

Показатель	ВКЛ (n = 10)	ВВКЛ (n = 3)	ЛСВЛ (n = 7)
Анамнестические данные	Слабость, тяжесть и болезненность в левом подреберье, фебрильная температура тела	Слабость, повышение температуры тела до фебрильных цифр	Слабость, повышение температуры тела до субфебрильных цифр, тяжесть в эпигастральной области
Гиперплазия лимфатических узлов	Шейные — 0,5 · 0,7 · 0,5 см	—	Увеличены периферические лимфатические узлы — 2 · 1,5 · 0,7 см
Гепатомегалия	+2 см	+1,5 см	+1,5 см
Спленомегалия	+10 см	+10 см	+6 см

Среди цитоморфологических особенностей лейкоцитарных клеток следует отметить их более крупный размер по сравнению с лимфоцитами и лимфоидными клетками при В-ХЛЛ. В костном мозге, селезенке и периферической крови выявлялись лейкоцитарные клетки с характерными «волосатыми» отростками цитоплазмы.

С учетом сходства клинической картины и неразличимости по цитоморфологическим признакам при рутинной окраске мазков периферической крови, костного мозга, пунктатов, отпечатков лимфатических узлов и селезенки при проведении дифференциальной диагностики необходимо использовать современные иммуноцитохимические методы.

Волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ). При осмотре отмечали жалобы больных на слабость, быструю утомляемость (чаще всего обусловленную низким уровнем гемоглобина), а также на боль или тяжесть в левом подреберье (вызванную растяжением капсулы селезенки). У 3 больных отмечались носовые кровотечения,

обусловленные тромбоцитопенией, у 4 — частые инфекционные заболевания вследствие нейтропении. В периферической крови у всех больных определяли панцитопению и нормохромную анемию, количество тромбоцитов составляло от $60 \cdot 10^9/\text{л}$ до $150 \cdot 10^9/\text{л}$, лейкоцитов — от $1,3 \cdot 10^9/\text{л}$ до $2,5 \cdot 10^9/\text{л}$. Характерным было наличие моноцитопении — 1–3% (табл. 3). У всех больных в периферической крови и костном мозге обнаруживали «волосатые» клетки.

Таблица 3
Гематологические показатели обследованных больных

Показатель	ВКЛ	ВВКЛ	ЛСВЛ
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	3,0–3,5	3,5–4,0	3,0–4,2
Гемоглобин, г/л	80–90	80–100	110–115
Цветной показатель	0,86–0,9	0,76–1,0	0,83–0,9
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	60–150	160–180	40–100
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	1,3–2,5	28–42	8–15
Нейтрофильные гранулоциты, %	18–20	28–32	19–30
Лимфоциты, %	70–78	55–66	66–73
Моноциты, %	1–3	6–8	3–10
Лимфоциты с ворсинчатыми отростками, %	20–30	20–25	15–20

Клетки при ВКЛ характеризуются средними размерами (большими, чем при В-ХЛЛ) с наличием умеренно широкой бледно-голубой или более базофильной цитоплазмы и «волосатых» отростков. Ядра клеток округлой, овальной или почковидной формы, иногда располагающиеся эксцентрично, с умеренно плотной структурой хроматина и нечетко контурирующимися ядрышками. Отличительный признак клеток при ВКЛ — наличие цитохимически выявляемой тартратрезистентной кислой фосфатазы. По фенотипу клетки при ВКЛ являются зрелыми В-лимфоцитами. На их поверхностных мембранах экспрессируются антигены CD19, CD22, CD20, CD24 и CD79a. Отмечается особо выраженная экспрессия антигена CD22. Умеренная реакция наблюдается при выявлении поверхностных иммуноглобулинов (чаще IgM) и отрицательная при определении антигенов CD5, CD10, CD23.

Характерным для клеток при ВКЛ является экспрессия активационного маркера — антигена CD25 (рецептора ИЛ-2) и ассоциированного с клетками моноцитарного ряда антигена CD11c (табл. 4). Средняя выживаемость больных, не получавших специфической терапии, составляла 5 лет.

Таблица 4
Основные маркерные признаки хронических лимфопролиферативных заболеваний В-клеточного происхождения

В-ХЛЛ	CD19 ⁺ CD22 ^{low} Ig ^{low} CD10 ⁺ CD23 ⁺ CD5 ⁺ CD25 ⁻
В-ПЛЛ	CD19 ⁺ CD22 ⁺ Ig ⁺ CD10 ⁻ CD23 ⁻ CD5 ⁻ CD25 ^{+/+} КФ тартратустойчива
НЗЛ мантийной зоны	Ig ⁺ CD19 ⁺ CD22 ⁺ CD10 ⁻ CD23 ⁻ CD5 ⁺ CD25 ⁻
НЗЛ из центров фолликулов	CD19 ⁺ CD22 ⁺ CD10 ⁺ CD5 ⁻ CD23 ^{+/+} CD25 ⁻ CD11c ⁻
НЗЛ маргинальной зоны	CD19 ⁺ CD22 ⁺ CD10 ⁻ CD5 ⁻ CD23 ⁻ CD25 ⁻ CD11c ⁻
ВКЛ	CD19 ⁺ CD22 ⁺ CD10 ⁻ CD5 ⁻ CD23 ⁻ CD25 ⁺ CD11c ⁺ CD103 ⁺ , тартратустойчивая КФ ⁺
ВВКЛ	Ig ⁺ HLA-DR ⁺ CD19 ⁺ CD20 ⁺ CD22 ⁺ CD10 ⁻ CD25 ⁻ реже ⁺ CD38 ^{+/+} CD5 ⁻
ЛСВЛ	CD19 ⁺ CD22 ⁺ CD10 ⁻ CD5 ⁻ CD23 ⁻ CD25 ⁻ CD11c ⁻
Лимфома плазмочитарная лимфома	CD19 ⁺ CD22 ⁺ CD10 ⁻ CD5 ⁻ CD23 ⁻ CD25 ⁻ CD38 ⁺
Иммуноцитомы	CD19 ⁻ CD20 ⁺ HLA-DR ⁺ CD10 ^{+/+} CD56 ^{+/+} CD38 ⁺

Вариант ВКЛ (ВВКЛ). Помимо классического ВКЛ, известна еще более редкая форма заболевания, обозначаемая как ВВКЛ. При подобном варианте у больных количество лейкоцитов в периферической крови колебалось в пределах $28 \cdot 10^9/\text{л}$ – $42 \cdot 10^9/\text{л}$. Не наблюдалось моноцитопении и нейтропении, не отмечалась ретикулярный фиброз костного мозга. При цитоморфологическом исследовании клеток крови и костного мозга определялось более высокое ядерно-цитоплазматическое соотношение, чем у клеток при ВКЛ, и более базофильная цитоплазма с «волосатыми» отростками. Ядра клеток имели более конденсированную структуру хроматина, выраженные ядрышко и больше напоминали пролимфоциты, чем классические «волосатые» клетки. Важным дифференциально-диагностическим признаком являлась отрицательная реакция при цитохимическом выявлении тартратрезистентной КФ.

Поверхностный иммунофенотип субстратных клеток при ВВКЛ ближе к В-ПЛЛ, чем к классическому ВКЛ, но отмечалась и экспрессия антигена CD11c. От классического ВКЛ клетки ВВКЛ отличались также отрицательной реакцией на использование мКАТ к антигенам CD25, HCL-2 и CD103.

Лимфома селезенки с ворсинчатыми лимфоцитами (ЛСВЛ) по клинико-лабораторным признакам напоминает ВКЛ. Однако несмотря на наблюдающуюся анемию (гемоглобин в пределах 110–115 г/л) и тромбоцитопению ($40 \cdot 10^9/\text{л}$ – $100 \cdot 10^9/\text{л}$), у обследованных больных количество лейкоцитов было в пределах нормы или несколько повышенным ($8 \cdot 10^9/\text{л}$ – $15 \cdot 10^9/\text{л}$). Абсолютный лимфоцитоз отсутствовал у 2 больных, а содержание лимфоидных клеток с ворсинчатыми отростками не превышало 20%.

При цитоморфологическом исследовании лимфоциты при ЛСВЛ были таких же размеров, как и при ВКЛ, с округлыми или овальными ядрами и глыбчатой структурой хроматина. Иногда определялось ядрышко. Ободок цитоплазмы варьировал по размерам, но чаще был более узким, чем в клетках при ВКЛ. Отмечалась умеренная базофилия цитоплазмы с короткими ворсинчатыми отростками, локализованными у полюсов клетки. В отличие от ВКЛ или ВВКЛ отмечалось более высокое ядерно-цитоплазматическое соотношение. У 4 больных наблюдались плазматизация — эксцентрично расположенное ядро с более выраженной базофилией цитоплазмы.

Как и при ВВКЛ, клетки крови, костного мозга и селезенки больных с ЛСВЛ при цитохимическом анализе проявляли отрицательную реакцию при обнаружении тартратрезистентной КФ. При иммунофенотипировании отмечали положительную реакцию при выявлении В-клеточных антигенов CD19, CD20, CD24, выраженную экспрессию антигена CD22. Не выявлялись антигены CD23, CD5, CD10 и CD103, а также антиген CD25. У больных с ЛСВЛ отмечается благоприятный прогноз, средняя выживаемость, по данным доступной литературы, составляет более 10 лет.

В заключение отметим, что проведение дифференциальной диагностики между ВКЛ, ВВКЛ и ЛСВЛ необходимо для назначения протокольной терапии соответственно мировым стандартам для данной категории больных [3–10].

Известно, что использование препаратов интерферона альфа-2b и аналогов пуриновых нуклеотидов, хорошо зарекомендовавших себя при лечении больных с ВКЛ, неэффективно при ВВКЛ и ЛСВЛ. В то же время некоторые авторы отмечают частичный эффект при лечении ВВКЛ кладрибином в сочетании со спленэктомией. Лечение ЛСВЛ осуществляется с использованием стандартной полихимиотерапии в комбинации с мКАТ (ритуксимаб), а также с включением в протокол терапии флударабин.

Успехам, достигнутым в диагностике хронических лимфопролиферативных заболеваний, способствует новая классификация ВОЗ опухолей кроветворной и лимфоидной ткани (1999 г.), разработанная группой международных экспертов и прошедшая апробацию в университетских клиниках США и большинства стран Запада. Согласно этой классификации при выделении различных форм злокачественных лимфопролиферативных заболеваний, помимо клинических признаков, обязательно должны учитываться результаты иммуноцитохимических и молекулярно-генетических исследований. Это позволяет точно установить форму и цитологический вариант заболевания, определить прогноз и назначить соответствующую протокольную терапию. В нашей клинике при лечении данной категории больных стали применять новые лекарственные препараты — флударабин и кладрибин, благодаря чему отмечаются увеличение периода ремиссии и улучшение качества жизни пациентов с хроническими лимфопролиферативными заболеваниями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Диагностика лейкозов. Атлас и практическое руководство/Под ред ДФ Глузмана. Киев: Морион, 2000: 57–70.
2. Клиническая онкогематология/Под ред МА Волковой. Москва, 2001: 396–411.
3. **Новак АА.** Парадигма терапии и паллиативной помощи при злокачественных лимфомах. Материалы Рос-Голланд конф «Диагностика и лечение лимфом». СПб, 2001: 91–104.
4. **Finn J, Byrd J, Morrison C, et al.** Fludarabine and cyclophosphamide with filgrastim support in patients with previously untreated indolent lymphoid malignancies. *Blood* 2000; **96** (1): 71–5.
5. **Hochster H, Oken M, Winter J, et al.** Study of fludarabine plus cyclophosphamide in patients with previously untreated low-grade lymphoma: results and long-term follow-up. A report from the Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol* 2000; **18** (12): 987–8.
6. **Nishii K, Katayama N, Maeda H, et al.** Successful treatment with low-dose splenic irradiation for massive splenomegaly in an elderly patient with hairy-cell leukemia. *Eur J Haematol* 2001; **67** (4): 255–7.
7. **Palomera L, Domingo JM, Sola C, et al.** Cladribine (2-chlorodeoxyadenosine) therapy in hairy cell leukemia variant. A report of three cases. *Haematologica* 2002; **87** (1): 107–8.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

8. Al-Sheikh JH, Quadri MJ. Hairy cell leukemia — variant. Saudi Med J 2001; **22** (1): 72–3.

9. Allsup DJ, Canley JC. The diagnosis and treatment of hairy — cell leukaemia. Blood Rev 2002; **16** (4): 255–62.

10. Franco V, Ffloreana AM, Stella M, et al. Splenectomy influences bone marrow infiltration in patients with splenic marginal zone cell lymphoma with or without villous lymphocytes. Cancer 2001; **91** (2): 294–301.

CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS OF HAIRY-CELL LEUKOSIS AND LYMPHOMA OF THE SPLEEN WITH VILLOUS LYMPHOCYTES

I.A. Rodionova

Summary. *The hairy cell leukemia (HCL) and the splenic lymphoma with villous lymphocytes (SLVL) represent the rare forms of the chronic lymphoproliferative diseases. Over several recent years the incidence of such the dis-*

eases has been shown to increase. The clinical and hematological features of HCL and SLVL patients are presented. It has been shown that besides the clinical and morphological features the results of the cytochemical analysis as well as immunocytochemical are important for delineating the cytological variant of the disease and predicting the prognosis with the aim of employing the up-to-date standard protocol therapy.

Key Words: hairy cell leukemia, villous lymphocytes, immunophenotyping.

Адрес для переписки:

Родионова И.А.

03022, Киев, ул. Васильковская, 45

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, отдел иммуноцитохимии