

На правах рукописи

Шуплецова Ирина Александровна

**МОРФОИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ И
КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОДУЛЯРНОЙ
ЛИМФОМЫ ХОДЖКИНА С ЛИМФОИДНЫМ
ПРЕОБЛАДАНИЕМ И ЕЕ ВАРИАНТОВ**

14.01.21 – гематология и переливание крови

14.03.02 – патологическая анатомия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении
«Национальный медицинский исследовательский центр гематологии»
Минздрава России

Научные руководители:

доктор биологических наук Ковригина Алла Михайловна
кандидат медицинских наук Моисеева Татьяна Николаевна

Официальные оппоненты:

Тумян Гаяне Сепуговна – доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, ведущий научный сотрудник Отдела гематологии и трансплантации костного мозга ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Байков Вадим Валентинович – доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, заведующий лабораторией патоморфологии НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой.

Ведущая организация: Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба - филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России.

Защита состоится «13» ноября 2019 года в 14:30 часов на заседании диссертационного совета Д 208.135.01 при федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России по адресу: 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России и на сайте www.blood.ru
Автореферат разослан «__» _____ 2019 года

Ученый секретарь диссертационного совета
Кандидат медицинских наук

Сысоева Е.П.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоидным преобладанием (НЛХЛП) – редкий вариант лимфомы Ходжкина (ЛХ), составляющий около 5% случаев ЛХ и выделенный в классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) опухолей гематопозитической и лимфоидной тканей 2008 года (ВОЗ-2008) в отдельную нозологическую форму ввиду уникальной клинической картины, гистологических и иммунофенотипических характеристик. В отличие классической лимфомы Ходжкина (кЛХ) НЛХЛП имеет индолентное рецидивирующее клиническое течение, является высокочувствительной к химиотерапии опухолью и характеризуется риском трансформации в диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (ДВККЛ).

При НЛХЛП опухолевым субстратом являются LP-клетки (LP – lymphocyte predominant – преимущественно лимфоидные), которые, в отличие от субстрата кЛХ, обладают иммуногистохимическими (ИГХ) признаками В-клеточной лимфомы: интенсивно экспрессируют CD20, PAX5 и другие пан-В-клеточные антигены. Экспрессия опухолевыми клетками CD30 и CD15, характерная для кЛХ, в большинстве случаев отсутствует.

Ввиду редкой встречаемости, гетерогенной морфологической картины и иммуногистоархитектоники опухолевого субстрата, диагностика НЛХЛП представляет значительные сложности для врача-патологоанатома. По данным зарубежных авторов [Diehl V., 1999] и ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России [Мусеева Т.Н., 2015] в 51% и 45% случаев НЛХЛП соответственно были установлены другие нозологические формы: фолликулярная лимфома (ФЛ), фолликулярная гиперплазия, кЛХ (богатая лимфоцитами), периферическая Т-клеточная лимфома и ДВККЛ, что обусловило выбор других схем химиотерапии. В связи с трудностями дифференциальной диагностики НЛХЛП с неходжкинскими лимфомами, реактивными изменениями и кЛХ, актуальным вопросом является определение значимых морфоиммуногистохимических характеристик НЛХЛП, которые позволят улучшить качество патоморфологической диагностики и уменьшить число предлеченных больных. Морфологическая характеристика НЛХЛП включает в себя определение ИГХ подварианта при реакции с антителами к CD20 в соответствии с классификацией Z. Fan и соавторов 2003 года [Fan Z., 2003], которая в неизменном виде включена в классификацию ВОЗ опухолей гематопозитической и лимфоидной тканей в пересмотре 2017 года (ВОЗ-2017) [Stein H., 2017].

В настоящее время особый интерес представляет поиск и выделение неблагоприятных морфологических и ИГХ признаков, коррелирующих с клиническим течением и ответом на терапию. В качестве факторов с возможным прогностическим значением в аспекте изучения различных ИГХ подвариантов НЛХЛП и признаков опухолевой трансформации в ДВККЛ, были выбраны: метилтрансфераза EZH2 и Т-клеточный транскрипционный фактор GATA3. В настоящее время в литературе имеются противоречивые сведения об экспрессии опухолевыми клетками CD19 и BCL2 при НЛХЛП и крупноклеточной В-клеточной лимфоме, богатой Т-клетками/гистиоцитами (THRLBCL) [Ковригина А.М., 2007; Boudová L., 2003; Greiner A., 2005; Masir N., 2006], поэтому реакции с данными маркерами также были включены в исследование.

Иммунофенотип НЛХЛП в целом не отличается от иммунофенотипа THRLBCL, однако, детальная характеристика иммунофенотипа и иммуногистоархитектоники опухолевых клеток при различных ИГХ подвариантах НЛХЛП в настоящее время не изучена. Вместе с тем, THRLBCL, возникшая впервые (de novo), согласно классификации ВОЗ-2008, адаптированной классификации ВОЗ-2017 [Stein H., 2017], является самостоятельной нозологической формой. Различия между НЛХЛП и de novo THRLBCL были выявлены также при сравнительной геномной гибридизации [Franke S., 2002]. Патогенетическая взаимосвязь НЛХЛП с THRLBCL остается предметом научных исследований. Представленные в научной литературе сведения о возможности и частоте трансформации НЛХЛП в ДВККЛ крайне немногочисленны и разнородны [Al-Mansour M., 2010; Miettinen M., 1983; Poppema S., 1979].

Ввиду редкой встречаемости НЛХЛП и отсутствия проспективных клинических исследований, в настоящее время не определена взаимосвязь различных ИГХ подвариантов с особенностями клинического течения и эффективностью различных программ полихимиотерапии. Актуальным вопросом в лечении ЛХ в настоящее время является проведение иммунотерапии с моноклональными антителами, которые блокируют взаимодействие между рецептором запрограммированной смерти клетки (PD-1) и его лигандами (PD-L1 и PD-L2), тем самым повышая противоопухолевую активность эффекторных Т-клеток. В отношении экспрессии опухолевыми клетками PD-L1 при НЛХЛП в литературе имеются скудные данные при исследовании биопсийного материала небольших групп больных [Chen B.J., 2013, Panjwani P.K., 2018].

Верификация диагноза НЛХЛП в данной работе проводилась в соответствии с новыми критериями ВОЗ-2017. Настоящая диссертационная работа посвящена патоморфологической характеристике различных морфологических вариантов и ИГХ подвариантов НЛХЛП, исследованию клинического значения участков, напоминающих

THRLBCL (THRLBCL-подобные участки) при НЛХЛП, а также выявлению уникальных для НЛХЛП морфоиммуногистохимических характеристик, позволяющих с уверенностью проводить дифференциальную диагностику с другими нозологическими формами.

Цель исследования

Охарактеризовать морфологические варианты, иммуногистохимические подварианты нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоидным преобладанием и сопоставить с клиническим течением заболевания.

Задачи исследования

1. Охарактеризовать морфологическую картину нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоидным преобладанием.
2. Выделить иммуногистохимические подварианты нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоидным преобладанием.
3. Сопоставить иммуногистохимические подварианты нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоидным преобладанием с клиническим течением заболевания.
4. Оценить экспрессию BCL2 и CD19 опухолевыми клетками при различных иммуногистохимических подвариантах нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоидным преобладанием.
5. Изучить экспрессию EZH2, GATA3 и PD-L1 опухолевыми клетками при различных иммуногистохимических подвариантах нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоидным преобладанием.
6. Выявить частоту опухолевой трансформации нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоидным преобладанием в диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому в исследуемой группе больных.

Научная новизна

Охарактеризовано клиническое значение THRLBCL-подобных участков при НЛХЛП и определено процентное содержание этих участков в срезе лимфатического узла, коррелирующее с увеличением частоты экстранодальных поражений, диагностики IV клинической стадии и фактом достижения полной ремиссии ($p < 0,0001$, $p = 0,0507$, $p = 0,0126$ соответственно).

Были сопоставлены и проанализированы иммуногистоархитектоника опухолевого субстрата НЛХЛП и объем поражения в зависимости от времени с момента первых клинических проявлений (появление лимфаденопатии) до выполнения биопсии. Достоверной разницы по ИГХ подвариантам, экстранодальным локализациям опухоли и клиническим стадиям в сравниваемых подгруппах больных (в зависимости от медианы

времени) не выявлено ($p > 0,05$). Эти данные свидетельствуют в пользу того, что НЛХЛП является индолентно протекающим заболеванием.

Проведено сравнение опухолевых субстратов НЛХЛП в биопсийном материале на момент диагностики заболевания и при рецидиве/прогрессии НЛХЛП. В ходе сопоставления в большинстве случаев мы обнаружили преобладание более продвинутых гистологических вариантов и иммуногистохимических подвариантов при рецидиве/прогрессии НЛХЛП.

По результатам проведенной работы выявлена частота опухолевой трансформации НЛХЛП в ДВККЛ, которая составила 3% при медиане наблюдения за когортой больных 26 месяцев. У 28% больных с периодом наблюдения более 4-х лет частота трансформации в ДВККЛ составила 6%. Проведен анализ экспрессии BCL2 и CD19 опухолевыми клетками НЛХЛП в зависимости от иммуногистохимического подварианта. Значимо чаще экспрессия BCL2 и CD19 отмечалась в опухолевых клетках не-классических ИГХ подвариантов НЛХЛП ($p = 0,0120$, $p = 0,0134$ соответственно), что свидетельствует в пользу концепции гистологической и иммуногистохимической трансформации НЛХЛП в рамках одной нозологической формы.

Описаны патоморфологические различия опухолевого субстрата НЛХЛП в различных по локализации лимфатических узлах, а также в сателлитных лимфатических узлах и основной опухолевой массе. Эти данные подтверждают, что НЛХЛП - это В-клеточная лимфома с широким спектром сменяющих друг друга морфологических вариантов и ИГХ подвариантов.

Практическая значимость работы

Предложены подходы к улучшению качества дифференциальной диагностики НЛХЛП с другими вариантами лимфом и реактивными процессами. Выявлена прогностическая значимость выраженности THRLBCL-подобных участков при НЛХЛП с пороговым значением 50% от площади среза лимфатического узла. Определение THRLBCL-подобных участков полуколичественным методом в патоморфологическом заключении обосновано для выделения прогностически наиболее неблагоприятной клинической подгруппы с целью разработки дифференцированного терапевтического подхода.

Положения, выносимые на защиту

1. В исследованной группе больных выделены 4 гистологических варианта и 5 ИГХ подвариантов НЛХЛП, которые могут сочетаться в одном лимфатическом узле.
2. НЛХЛП – это заболевание с индолентным течением, которое может характеризоваться признаками гистологической и иммуногистохимической

трансформации в рамках одной нозологии, и в процессе эволюции опухоли представляет собой спектр сменяющихся иммуногистохимических подвариантов с возрастанием выраженности THRLBCL-подобных участков и наличием вероятности опухолевой трансформации в ДВККЛ.

3. Подгруппа больных с наличием THRLBCL-подобных участков $\geq 50\%$ площади среза лимфатического узла/биоптата иной локализации характеризуется наиболее неблагоприятным клиническим течением заболевания.

4. В рамках иммуногистохимической трансформации НЛХЛП происходит изменение иммунофенотипа опухолевых клеток, что выражается в появлении экспрессии CD19 и BCL2 при не-классических ИГХ подвариантах.

5. В отличие от классической лимфомы Ходжкина при НЛХЛП отсутствует экспрессия GATA3, что можно использовать в целях дифференциальной диагностики.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в практическую работу патологоанатомического отделения ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. Процентное содержание THRLBCL-подобных участков в срезах лимфатического узла с НЛХЛП учитывается при планировании химиотерапевтического лечения.

Апробация

Основные положения диссертации обсуждены в патологоанатомическом отделении и в консультативном гематологическом отделении с дневным стационаром по проведению интенсивной высокодозной химиотерапии, частично доложены на IV Конгрессе гематологов России (тезисы, Москва, 2018), Европейском Конгрессе патологов (ESP 2018, Бильбао, Испания), 11-ом Международном симпозиуме по лимфоме Ходжкина (ISHL 2018, Кельн, Германия).

Апробация диссертации состоялась на объединенном заседании проблемных комиссий ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России «Клинические исследования в гематологии и трансфузиологии» и «Фундаментальные исследования в гематологии, трансплантологии, трансфузиологии» 20 мая 2019 года (протокол №5).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 8 работ, из них 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, 5 тезисных сообщений.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 149 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов,

описания 4-х клинических случаев, обсуждения, выводов, списка литературы, а также 2-х приложений, включающих иллюстративную таблицу ИГХ подвариантов НЛХЛП и иллюстративную таблицу важных дифференциально-диагностических ИГХ маркеров. Список литературы включает 11 отечественных и 143 зарубежных источников. Иллюстративный материал представлен 57 рисунками и 19 таблицами.

Диссертация выполнена в патологоанатомическом отделении (заведующая отделением, д.б.н. Ковригина А.М.), консультативном гематологическом отделении с дневным стационаром по проведению интенсивной высокодозной химиотерапии (заведующая отделением, к.м.н. Моисеева Т.Н.) федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России (директор – академик РАН Савченко В.Г.).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данную работу были включены 80 больных с диагнозом НЛХЛП, верифицированным на биопсийном и операционном материале в патологоанатомическом отделении ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России за период с 2010 по 2017 гг. Больные наблюдались в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (53 человека) в Консультативном гематологическом отделении с дневным стационаром по проведению интенсивной высокодозной химиотерапии (зав. к.м.н. Моисеева Т. Н.), отделении Интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов с круглосуточным и дневным стационарами (зав. к.м.н. Кравченко С. К.), а также в других лечебных учреждениях России (27 человек).

Во всех случаях нами были пересмотрены гистологические и, при наличии, ИГХ препараты. При необходимости было проведено дополнительное ИГХ исследование. После анализа клинико-anamnestических данных и результатов гистологического и ИГХ исследований в группу исследования было включено 60 больных.

Критериями исключения из исследования явились: изменение диагноза после пересмотра, отсутствие гистологических препаратов/парафиновых блоков биопсийного материала на момент диагностики заболевания, отсутствие ИГХ верификации НЛХЛП (или отсутствие ИГХ препаратов для пересмотра) и возможности ее провести. Всем больным исследуемой группы диагноз НЛХЛП устанавливался в соответствии с новой редакцией Классификации опухолей кроветворной и лимфоидной тканей ВОЗ 2017 года [Stein H., 2017].

В 37 случаях нами были проанализированы трепанобиоптаты костного мозга, доступные для пересмотра и проведения ИГХ исследования.

Клинико-лабораторная характеристика больных представлена в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика больных НЛХЛП, включенных в исследование.

Характеристика больных	Количественная характеристика	%
Пол (М/Ж)	47/13	78% / 22%
Возраст (медиана, диапазон)	37(17-68)	
Вовлечение периферических лимфатических узлов	59/60	98%
Вовлечение висцеральных лимфатических узлов	26/60	43%
Экстранодальная локализация поражения:	22/60	37%
<i>из них поражение костного мозга</i>	9/22	41%
Анемия (Hb <100 г/л)	2/46	4%
Тромбоцитопения (тромбоциты < 100x10 ⁹ /л)	3/44	7%
В-симптомы	24/60	40%
активность ЛДГ выше референсных значений	5/26	19%
стадии по Ann Arbor		
I	15/60	25 %
II	13/60	22%
III	11/60	18%
IV	21/60	35%
Время с момента появления увеличенного лимфатического узла/узлов до выполнения биопсии	5 (0-293) мес.	-

Всем больным было проведено полное обследование согласно стандартам для больных лимфопролиферативными заболеваниями [Савченко В.Г., 2018]. При прогрессировании/рецидиве заболевания выполнялась повторная биопсия увеличенных лимфатических узлов. С целью оценки противоопухолевого ответа использовались международные стандартные критерии ответа на лечение лимфом [Cheson B.D., 2007].

Морфологическое и иммуногистохимическое исследование

Морфологическое и ИГХ исследования биопсийного материала проведены в патологоанатомическом отделении ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (зав. отд. д.б.н. А.М. Ковригина). Морфологическое и ИГХ исследования, необходимые для

верификации диагноза НЛХЛП, выполнены на срезах с парафиновых блоков биоптатов лимфатических узлов/новообразований иной локализации, полученных на момент диагностики заболевания: у 57 больных – биоптаты лимфатических узлов, в 2-х случаях – биоптаты печени, у 1-го пациента – трепанобиоптат костного мозга (с последующей верификацией на биоптате лимфатического узла). При наличии биопсийного материала при рецидиве/прогрессии заболевания у 8 пациентов также выполнялось морфологическое и ИГХ исследование.

Морфологическое исследование проведено на срезах с парафиновых блоков, окрашенных гематоксилином и эозином с оценкой во всех случаях характера роста опухоли.

Нами пересмотрены 37 доступных трепанобиоптатов костного мозга, выполненных в рамках стадирования лимфомы (36 образцов), и на момент первичной диагностики НЛХЛП (1 образец) с проведением ИГХ исследования с антителами к CD20 и CD3. При наличии поражения костного мозга при реакциях с антителами к CD20 был определен ИГХ подвариант опухолевого субстрата.

Определение иммунофенотипа опухолевых клеток выполняли ИГХ методом с широкой панелью антител к CD20 (L-26, Leica), CD15 (Carb-3/BY87, Dako), CD30 (Ber-H2, Dako), BCL6 (PG-B6p, Dako), BCL2 (124, Leica), PU.1 (EPR3158V, Cell Marque), IgD (NCL-L-IgD, Leica), Oct-2 (Oct-207, Cell Marque), BOB.1 (NCL-L-BoB1, Leica), EBV (LMP1 - CS1-4, Dako), CD19 (LE-CD19, Leica), EZH2 (11, Cell Marque), GATA3 (L50-823, Cell Marque), PD-L1 (EPR19759, Abcam), Fascin (55k-2, Dako) (при наличии достаточного количества материала в парафиновом блоке). Для оценки реактивного микроокружения в части случаев были выполнены реакции с антителами к CD3 (NCL-L-CD3-565, Leica), CD4 (4B12, Leica), CD8 (4B11, Leica), Granzyme B (NCL-L-GRAN-8, Leica), PD-1 (NAT105, Cell Marque). Сеть ФДК оценивали с помощью реакций с антителами к CD21 (NCL-L-CD21-2C9, Leica)/CD23 (NCL-L-CD23-1B12, Leica). Всего выполнено 950 ИГХ исследований.

С помощью ИГХ исследования с антителами к CD20 в каждом случае был определен ИГХ подвариант или их сочетание. У всех больных с наличием THRLBCL-нодулеподобных структур и THRLBCL-подобных участков был полуколичественно определен занимаемый ими процент площади среза лимфатического узла/биоптате иной локализации. Оценку ИГХ препаратов проводили полуколичественным методом с использованием микроскопии в 10 полях зрения (ув. x200, x400).

Критерием оценки реакции с антителами к В-клеточным транскрипционным факторам (PAX5, Oct-2, BOB.1) явилась интенсивность ядерной реакции в опухолевых

клетках. «Внутренним» позитивным контролем послужила интенсивность реакции в мелких В-клетках реактивного микроокружения.

Критерии оценки реакции с антителами к PD-L1: результат считался положительным при наличии мембранной экспрессии PD-L1 в $\geq 5\%$ опухолевых клеток независимо от интенсивности. Количество позитивных опухолевых клеток оценивалось в процентах при исследовании 10 полей зрения (ув. $\times 400$).

Критерий оценки реакции с антителами к GATA3 и EZH2: количество позитивных опухолевых клеток в процентах при исследовании 10 полей зрения (ув. $\times 200$) вне зависимости от интенсивности ядерной экспрессии. При наличии позитивной экспрессии нами было выбрано пороговое значение 50%.

Критерии трансформации НЛХЛП в ДВККЛ: трансформация в ДВККЛ устанавливалась в случае обнаружения групп (до 20 крупных клеток) и пластов крупных опухолевых клеток с морфологией центробластов и иммунобластов без формирования нодулярных структур мелкими В-клетками [Smith L.B., 2010]. Для визуализации и объективизации подсчета крупных клеток в скоплениях использовалась ИГХ реакция с антителами к CD20.

Критерии дифференциальной диагностики НЛХЛП с THRLBCL: при наличии хотя бы одной опухолевой нодулеподобной структуры в срезе препарата или предшествующего анамнеза заболевания НЛХЛП диагноз THRLBCL исключался согласно критериями ВОЗ-2017 [Ott G., 2017].

В ходе проведенного исследования для НЛХЛП нами был введен термин «*иммуногистохимической трансформации*», которая характеризует процесс эволюции опухоли в рамках одной нозологической формы, представленный спектром сменяющихся иммуногистохимических подвариантов с возрастанием выраженности THRLBCL-подобных участков, изменением иммунофенотипа опухолевых клеток и клеток реактивного микроокружения.

К «*опухолевой трансформации*» мы относим скачкообразную опухолевую прогрессию НЛХЛП в ДВККЛ, которая характеризует накопленный онкогенный потенциал на предыдущих этапах эволюции опухоли.

Методы статистической обработки данных

Статистический анализ проведен при участии информационно-аналитического отдела ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (зав. отделом к.т.н. С.М. Куликов). В диссертационной работе использованы классические методы статистического

анализа: описательный, частотный и анализ выживаемости. Категориальные признаки представлены в таблицах в виде числа и процентов, непрерывные в виде медианы и диапазона. Для сравнения непрерывных признаков используется непараметрический тест Вилкоксона. Для сравнения частотных характеристик использован критерий χ^2 . Отдаленные результаты лечения оценивались с помощью общей (ОВ) и безрецидивной выживаемости (БРВ). Оценки ОВ и БРВ рассчитывались по методу Каплана-Мейера, ОВ – от начала терапии, БРВ – от даты достижения ремиссии только у пациентов, достигших полной ремиссии. Для сравнения оценок выживаемости использовался лог-ранк тест. Результаты считались статистически значимыми при значении $p < 0,05$. Вычисления проводились с помощью статистических пакетов SAS, STATISTICA 10.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Морфологическая характеристика НЛХЛП на момент диагностики заболевания

В исследованной группе больных (60 человек) на основании характера роста НЛХЛП нами были выделены 4 гистологических варианта: нодулярный характер роста наблюдался у 17/60 (28%) пациентов, нодулярный рост с наличием значительного количества экстранодулярных LP-клеток – у 14/60 (23%) пациентов, нодулярно-диффузный рост – у 25/60 (42%) пациентов, преимущественно диффузный рост – у 4/60 (7%) пациентов (рисунок 1).

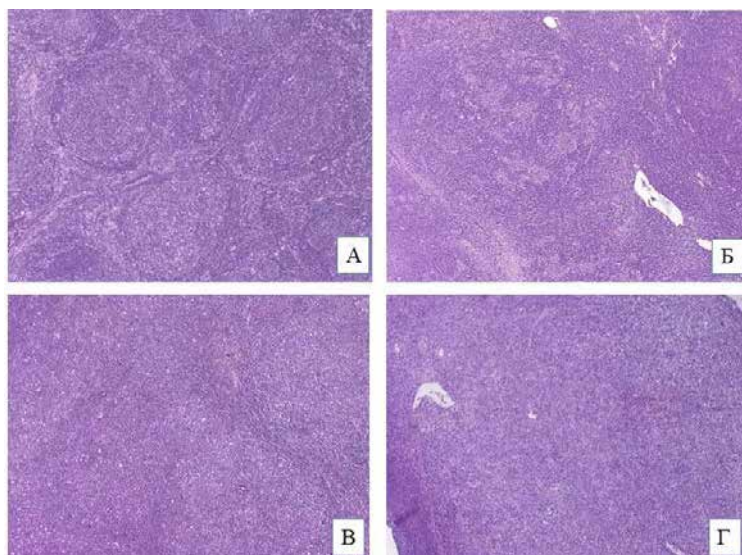


Рисунок 1. Спектр морфологической картины при НЛХЛП. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 50$. (А) Нодулярный характер роста. (Б) Нодулярный рост с наличием значительного количества экстранодулярных LP-клеток. (В) Нодулярно-диффузный рост. (Г) Преимущественно диффузный рост.

У 1/60 (2%) пациента в дебюте заболевания отмечено сочетание участков НЛХЛП и ДВККЛ (трансформация НЛХЛП в ДВККЛ). При морфологическом исследовании у 6/60

(10%) пациентов субстрат НЛХЛП был представлен большим количеством опухолевых клеток, расположенных в виде рыхлых и плотных крупноочаговых скоплений в пределах нодулеподобных структур. Среди всех 4 выделенных гистологических вариантов встречаются случаи, богатые опухолевыми клетками, с формированием синцитиальных скоплений (6/60, 10%).

Иммуногистоархитектоника опухолевого субстрата НЛХЛП в группе исследования

При проведении ИГХ реакций с антителами к CD20 во всех 60 образцах биоптатов лимфатических узлов/биоптатов иной локализации нами были выделены 5 ИГХ подвариантов; в 1/60 случаев на момент диагностики НЛХЛП отмечались участки ДВККЛ (рисунок 2).

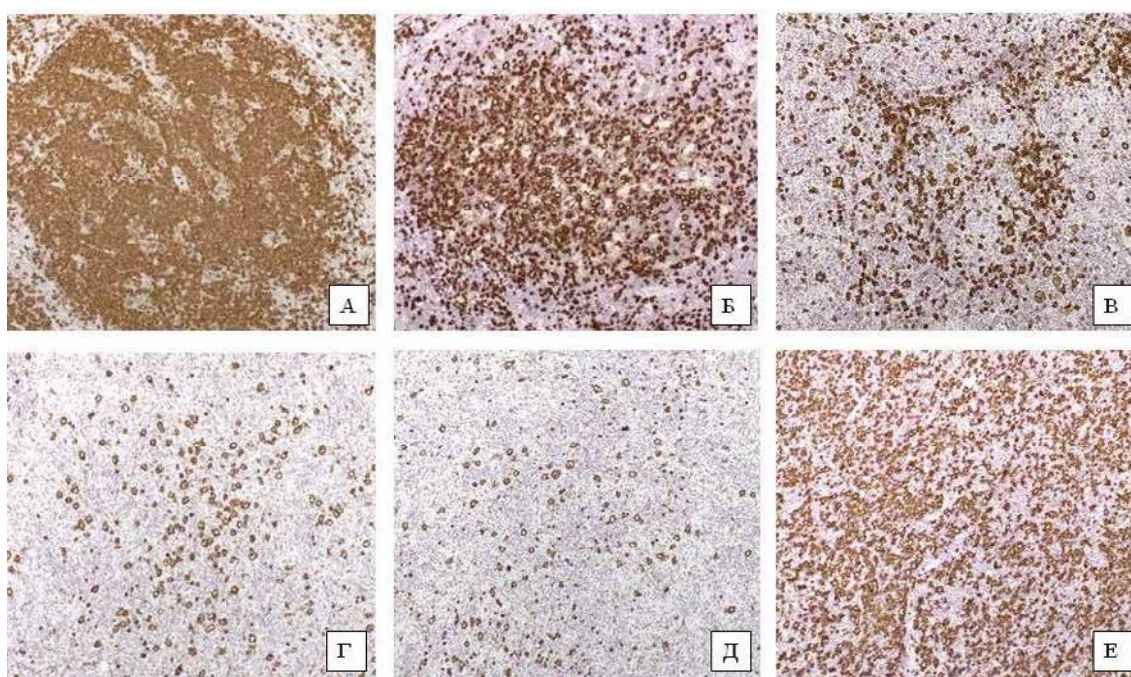


Рисунок 2. ИГХ подварианты НЛХЛП. Иммуноферментный метод. Реакции с антителами к CD20 Увеличение x100.

А. ИГХ подвариант 1 – классический (В-клеточные нодули).

Б. ИГХ подвариант 2 – В-клеточные нодули со значительным количеством экстранодулярных LP-клеток.

В. ИГХ подвариант 3 – нодулеподобные структуры с выраженным В-клеточным истошением.

Г. ИГХ подвариант 4 – THRLBCL-нодулеподобные структуры.

Д. ИГХ подвариант 5 – THRLBCL-подобный подвариант.

Е. ИГХ подвариант 6 – с диффузным ростом и выраженным В-клеточным микроокружением.

Для **ИГХ подварианта 1** характерно выраженное В-клеточное микроокружение, в пределах которого расположены LP-клетки. При **ИГХ подварианте 2** отмечается умеренно выраженное В-клеточное микроокружение, LP-клетки расположены интра- и

экстранодулярно. Для **ИГХ подварианта 3** характерно сохранение, но выраженное истощение В-клеточного микроокружения, среди которого разрозненно расположены LP-клетки. При **ИГХ подварианте 4** отмечается крупноочаговый характер расположения LP-клеток, и практически полное отсутствие В-клеточного микроокружения. При **ИГХ подварианте 5** наблюдается дискретный характер расположения крупных опухолевых клеток и практически полное отсутствие В-клеточного микроокружения, что делает его сходным с de novo THRLBCL.

Сопоставление характера роста и ИГХ подвариантов опухолевого субстрата НЛХЛП в исследованной группе пациентов

Мы сопоставили характер роста и ИГХ подвариант/подварианты опухолевого субстрата НЛХЛП у 59 больных исследуемой группы (за исключением 1 больного с трансформацией в ДВККЛ на момент диагностики заболевания). Отметим, что согласно классификации Z. Fan [Fan Z., 2003] ИГХ подварианты В и F в нашей исследуемой группе не встречались, а у 37/59 (63%) пациентов отмечалось сочетание двух и более ИГХ подвариантов в одном биоптате лимфатического узла. Таким образом, для НЛХЛП характерна мозаичность иммуногистоархитектоники опухолевого субстрата в одном лимфатическом узле.

В группе исследования во всех случаях с нодулярным характером роста отмечался ИГХ подвариант 1 (классический).

При нодулярном характере роста с наличием значительного количества экстранодулярных LP-клеток отмечалось преимущественно сочетание не-классических ИГХ подвариантов 2 и 3.

Для нодулярно-диффузного роста оказалось характерно сочетание не-классических ИГХ подвариантов 3 и 4.

При преимущественно диффузном характере роста преобладало сочетание не-классических ИГХ подвариантов 4 и 5. В случаях НЛХЛП, богатой опухолевыми клетками были представлены различные ИГХ подварианты и их сочетания.

Полученные данные позволяют утверждать, что выход LP-клеток за пределы нодулеподобных структур (ИГХ подварианты 2-5) способствует появлению диффузных участков роста опухолевого субстрата.

Имунофенотипические особенности опухолевого субстрата при НЛХЛП

Имунофенотип опухолевых клеток при НЛХЛП в исследованной группе: CD20 (100%), CD30 (25%, слабая цитоплазматическая экспрессия), CD15 (5%, слабая цитоплазматическая экспрессия отдельными клетками), PAX5 (100%, интенсивная

ядерная экспрессия), Oct-2 (100%, ядерная гиперэкспрессия), VOB.1 (100%, интенсивная ядерная экспрессия), BCL6 (100%), EBV (LMP1, 0%), IgD (16%). Характеристика экспрессии CD19, BCL2, Fascin, PU.1, в случаях с классическим ИГХ и не-классическими ИГХ подвариантами представлена в таблице 2.

Таблица 2. Характеристика экспрессии CD19, BCL2, Fascin, PU.1, CD30, IgD в случаях с классическим ИГХ и не-классическими ИГХ подвариантами.

Антител а	Количество исследованных случаев	Классический ИГХ подвариант	Не-классические ИГХ подварианты	р	НЛХЛП с трансформацией в ДВКЛ в дебюте заболевания
CD19	20/60	1/6 (17%)	10/13 (77%)	0,0134	1/1
BCL2	31/60	0/8 (0%)	11/22 (50%)	0,0120	1/1
Fascin	12/60	1/3 (33%)	5/8 (63%)	0,3869	0/1
PU.1	40/60	5/12 (42%)	14/27 (52%)	0,5570	1/1

Анализ полученных результатов показал, что при не-классических ИГХ подвариантах значимо чаще отмечалась экспрессия CD19 и BCL2 в опухолевых клетках, что свидетельствует об изменении иммунофенотипа опухолевых клеток после их выхода из В-клеточных нодулей. Достоверных различий в экспрессии Fascin и PU.1 не обнаружено.

Значения экспрессии PD-L1, GATA3 и EZH2 в исследованной группе больных и в группе контроля (кЛХ) представлены в таблице 3.

Таблица 3. Экспрессия PD-L1, GATA3 и EZH2 в исследуемой группе больных и группе контроля.

Антитела	Пороговые значения экспрессии антител	Исследуемая группа, n=21 (%)	Группа контроля (кЛХ), n=13 (%)	р
PD-L1	≥5%	1/21 (5%)	13/13 (100%)	<0,0001
	<5%	20/21 (95%)	0/13 (0%)	
GATA3	0%	21/21 (100%)	4/13 (31%)	<0,0001
	0>%<50	0/21 (0%)	0/13 (0%)	
	≥50%	0/21 (0%)	9/13 (69%)	

Продолжение таблицы 3

Антитела	Пороговые значения экспрессии антител	Исследуемая группа, n=21 (%)	Группа контроля (к.ЛХ), n=13 (%)	p
EZH2	0%	0/21 (0%)	0/13 (0%)	
	0>%<50	0/21 (0%)	0/13 (0%)	
	≥50%	21/21 (100%)	13/13 (100%)	

Экспрессия GATA3 отсутствовала, а PD-L1 экспрессирован опухолевыми клетками в 5% случаев нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоидным преобладанием по сравнению с группой контроля – классической лимфомой Ходжкина ($p < 0,0001$). Экспрессия EZH2 в опухолевых клетках отмечалась у 100% больных исследованной группы и у 100% - группы контроля (классическая лимфома Ходжкина).

В случае с участками трансформации в ДВККЛ опухолевые клетки экспрессировали EZH2 (интенсивная ядерная экспрессия) и не экспрессировали PD-L1, GATA3.

При нодулярном характере роста НЛХЛП визуализировалась широкая организованная сеть ФДК, по мере появления экстранодулярных LP-клеток отмечалась дезорганизация сети ФДК, при наличии диффузных участков роста и ИГХ подварианта 5 сеть ФДК не визуализировалась.

Характеристика опухолевого субстрата при рецидиве/прогрессии НЛХЛП

Нами проанализирован биопсийный материал у 8 больных на момент диагностики заболевания и при рецидиве/прогрессии заболевания: 4 случая – при рецидиве заболевания и 4 случая – при прогрессии заболевания. В 4/8 случаев характеристики опухолевых субстратов были идентичны. В 3/8 случаев при рецидиве/прогрессии заболевания отмечался более «продвинутый» гистологический вариант и ИГХ подвариант. В 1/8 случаев в рецидиве произошла трансформация НЛХЛП в ДВККЛ.

Выраженность субпопуляций Т-лимфоцитов реактивного микроокружения в зависимости от ИГХ подварианта НЛХЛП

Оценку Т-клеточного микроокружения мы проводили в биоптатах с различными ИГХ подвариантами: подвариант 1 (5 случаев), сочетание подвариантов 2, 3 и 4 (5 случаев), сочетание подвариантов 3, 4 и 5 (5 случаев), подвариант 4 с участками трансформации в ДВККЛ (1 случай). Во всех случаях мы выполнили ИГХ исследование с антителами к CD4, CD8, Granzyme B и PD-1.

При классическом ИГХ подварианте было отмечено преобладание популяции Т-клеток реактивного микроокружения с иммунофенотипом Tfh (CD4+, PD-1+) и формированием истинных розеткоподобных структур (PD-1+) вокруг крупных опухолевых клеток. При переходе к не-классическим ИГХ подвариантам увеличивалась популяция Т-клеток с цитотоксическим иммунофенотипом (CD8+, Granzyme B+), розеткоподобные структуры (PD-1+) становились немногочисленными.

Поражение костного мозга в исследуемой группе больных на момент диагностики НЛХЛП

Нами пересмотрены 37 трепанобиоптатов костного мозга у 9 больных с НЛХЛП с классическим ИГХ подвариантом и в 28 случаях с не-классическими ИГХ подвариантами. Всего в исследуемой группе поражение костного мозга составило 24% (9/37 человек). При наличии классического ИГХ подварианта НЛХЛП ни в одном случае не отмечалось поражения костного мозга 0/9 (0%), тогда как при не-классических ИГХ подвариантах оно составило 9/28 (32%), $p=0,0506$. В случаях, протекающих с поражением костного мозга, нами проведено сопоставление ИГХ подварианта в биоптате лимфатического узла и в костном мозге (таблица 4).

Таблица 4. Сопоставление ИГХ подвариантов в лимфатическом узле/биоптате иной (экстрамедуллярной) локализации и трепанобиоптате костного мозга.

№ случая с поражением костного мозга	ИГХ подвариант в лимфатическом узле/биоптате иной (экстрамедуллярной) локализации	ИГХ подвариант в костном мозге
1	2,3	3
2	3,4	4
3	3,4	4
4	3,4,5	5
5	3,4,5	5
6	4 с трансформацией в ДВККЛ	Субстрат ДВККЛ
7	4,5	5
8	3,4 (богатый опухолевыми клетками)	4 (богатый опухолевыми клетками)
9	3,4	4

Анализ полученных данных показал, что вовлечение костного мозга характерно для не-классических ИГХ подвариантов НЛХЛП и является манифестацией распространения

НЛХЛП с комплексом экстранодальных поражений. В костном мозге отмечался наиболее «продвинутый» ИГХ подвариант, чем наблюдавшийся в лимфатическом узле/биоптате иной локализации.

Формирование и клиническая характеристика групп «А» и «не-А»

Для проведения клиничко-патоморфологического сопоставления мы разделили 59 больных исследованной группы (за исключением 1 пациента с трансформацией в ДВККЛ на момент диагностики заболевания) в зависимости от ИГХ подварианта опухолевого субстрата: классический подвариант НЛХЛП - подвариант 1 (подвариант А по классификации Z. Fan [59]), наблюдался у 17/59 (29%) пациентов (1 группа «А»), подварианты «не-А» – у 42/59 (71%) пациентов (2 группа «не-А»). Сравнительная характеристика групп «А» и «не-А» представлена в таблице 5.

Таблица 5. Сравнение клинических показателей в группах пациентов «А» и «не-А».

Параметр	Группа «А»		Группа «не-А»		p
	n=17	%	n=17	%	
Клиническая стадия I-II III-IV	14 3	82 18	14 28	33 67	0,0006
Поражение экстранодальных локализаций	2/16	13	19/39	49	0,0120
Размер максимального пораженного лимфатического узла/конгломерата лимфатических узлов (мм) медиана (диапазон)	47 (15–93)		44 (15–123)		0,47
Время от первых клинических проявлений заболевания до выполнения биопсии (мес) Медиана (диапазон)	4,45 (0 – 293)		6,10 (0 – 243)		0,47
Результаты терапии 1-й линии					
Полная ремиссия	12/13	92	24/32	75	0,1883
Частичная ремиссия	1/13	8	6/32	19	0,3536
Прогрессия	0/13	0	2/32	6	0,3565

Нами было показано, что в группе «А» (классический ИГХ подвариант) преобладают пациенты с I-II клиническими стадиями заболевания по сравнению с

группой «не-А» (не-классические ИГХ подварианты), $p=0,0006$. В группе «не-А» достоверно чаще встречалось поражение экстранодальных локализаций, $p=0,012$

Медиана наблюдения за исследуемой группой пациентов составила 26 месяцев (0-130 мес, доверительный интервал 95%), у 17/60 (28%) больных период наблюдения составил >4 лет. Значимых различий в факте достижения полной ремиссии (ПР) или частичной ремиссии (ЧР) заболевания в результате терапии 1-й линии между двумя группами не выявлено. Кроме того, при сопоставлении двух групп «А» и «не-А» не обнаружено достоверной разницы во времени достижения ПР (медиана для группы «А» 3,5 мес, для группы «не-А» - 4,1 мес, $p=0,3912$). Для группы «А» пациентов с классическим ИГХ подвариантом характерно преобладание ранних клинических стадий и меньшее количество вовлеченных экстранодальных локализаций по сравнению с «не-А» группой. Время достижения ПР и общая выживаемость при НЛХЛП не зависят от ИГХ подварианта.

Характеристика экстранодальных поражений в зависимости от длительности болезни

Мы проанализировали доступные данные о времени первых клинических проявлений (появление лимфаденопатии) до выполнения биопсии у 50/60 человек исследованной группы, которое составило от 0 месяцев до 293 месяцев (медиана 5 месяцев). Пациенты были разделены на две подгруппы: 1-ая подгруппа – больные, у которых время от клинической манифестации заболевания до выполнения биопсии составило 5 месяцев и менее, 2-ая подгруппа – более 5 месяцев. В 1-ую подгруппу вошли 26/50 пациентов (время от появления лимфаденопатии до выполнения биопсии 0-5 месяцев, медиана 1 месяц). Во 2-ую подгруппу вошли 24/50 пациента, время от появления лимфаденопатии до выполнения биопсии 6-293 месяца, медиана 24 месяца

При сравнении двух подгрупп статистически значимых различий в вовлечении периферических и висцеральных лимфатических узлов, локализации экстранодального поражения, клиническим стадиям, наличию В-симптомов и ИГХ группам получено не было ($p > 0,05$).

Клиническая характеристика пациентов группы «не-А» в зависимости от выраженности THRLBCL-подобных участков

Для определения клинического значения выраженности THRLBCL-подобных участков мы разделили пациентов группы «не-А» на две подгруппы в зависимости от наличия/отсутствия THRLBCL-подобных участков. В подгруппе больных с наличием THRLBCL-подобных участков достоверно чаще отмечались: диагностика IV

клинической стадии, вовлечение костного мозга, селезенки ($p < 0,05$). Нами было показано, что при отсутствии THRLBCL-подобных участков чаще отмечалась ПР или ЧР после терапии 1-й линии ($p = 0,0193$ и $p = 0,0107$ соответственно).

Для определения возможного влияния выраженности THRLBCL-подобных участков на клиническое течение заболевания пациенты группы «не-А» (не-классические ИГХ подварианты) были разделены на 3 подгруппы, с учетом эмпирически выбранного нами порогового значения THRLBCL-подобных участков в 50%: 1 подгруппа 0% (17/42), 2 подгруппа - $0 > \% < 50\%$ (11/42), 3 подгруппа - $\geq 50\%$ (14/42). Значимых отличий по вовлечению висцеральных лимфатических узлов (внутрибрюшных, забрюшинных, подвздошных, медиастинальных) по подгруппам не обнаружено ($p > 0,05$).

В 1-й и 2-й подгруппах количество вовлеченных экстранодальных локализаций значительно ниже по сравнению с 3-й подгруппой, $p < 0,0001$ (рисунок 3).

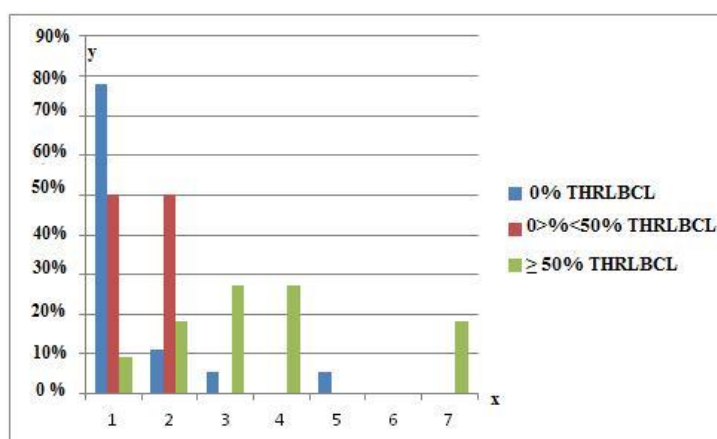


Рисунок 3. Вовлечение экстранодальных локализаций в группе пациентов с «не-А» иммуногистоархитектоникой в зависимости от значения %THRLBCL (ось x – количество вовлеченных экстранодальных локализаций НЛХЛП, ось y - % больных с вовлечением экстранодальных локализаций НЛХЛП по трем подгруппам).

В трех анализируемых подгруппах отмечено значимое различие по наличию IV клинической стадии заболевания с выраженным преобладанием в 3 подгруппе ($p = 0,0507$). В 3 подгруппе также чаще встречалось поражение костного мозга ($p = 0,0005$) и селезенки, отмечалось более длительное время достижения ПР (медиана для 1, 2 и 3 подгрупп соответственно: 4,1 мес, 2,8 мес, 8,3 мес, $p = 0,5187$).

Характеристика экстранодальных поражений при длительно протекающей НЛХЛП в группе «не-А»

В группе «не-А» (не-классические ИГХ подварианты) данные о времени первых клинических проявлений до выполнения биопсии доступны у 36/43 человек. Время от первых клинических проявлений (появление лимфаденопатии) до выполнения биопсии в исследуемой группе пациентов с НЛХЛП составило от 0 месяцев до 243 месяцев,

медиана 6,1 месяцев. Пациенты были разделены на две подгруппы: 1 – пациенты, у которых время от клинической манифестации заболевания до выполнения биопсии составило 6 месяцев и менее (18/36 больных), 2 – более 6 месяцев (18/36 больных). При сравнении двух подгрупп не обнаружено достоверных различий по наличию вовлечения периферических и висцеральных лимфатических узлов, экстранодальным поражениям, клиническим стадиям, наличию В-симптомов и выраженности THRLBCL-подобных участков ($p > 0,05$).

Результаты терапии у больных с THRLBCL-подобными участками $\geq 50\%$

Мы проанализировали результаты терапии у больных из выделенной нами прогностически самой неблагоприятной подгруппы ($\geq 50\%$ THRLBCL-подобных участков). Медиана наблюдения за больными составила 35 месяцев (9-73 мес). Полные данные доступны у 9/14 больных исследуемой подгруппы. Данные по результатам терапии представлены в таблице 6.

Таблица 6. Результаты терапии у больных с THRLBCL-подобными участками $\geq 50\%$.

Паци- енты	Ста- дия	ИГХ подва- риант	Терапия 1-й линии	Результат терапии 1-й линии	Терапия 2-й линии	Реци- див	Прогрес- сия
1	IVB	4,5	R-CHOP	ЧР	Да		
2	IVB	3,4,5	R-BEACOPP	ПР	Нет		
3	IVB	3,4,5	R-BEACOPP	Прогрессия	Да		Да
4	IVA	3,4,5	R-BEACOPP	ПР	Нет		
5	IIIА	3,4,5	R-BEACOPP	ЧР	Да		Да
6	IVB	2,3,4	R-BEACOPP	ЧР	Да	Да, через 13 мес	
7	IVB	3,4	R-BEACOPP	ЧР	Нет, ЛТ		
8	IVA	3,4	R-BEACOPP	ПР	Да	Да, через 28 мес	
9	IVB	3,4	R-CHOP	ЧР	Да		Да

Условные обозначения. ПР – полная ремиссия, ЧР – частичная ремиссия,

Р – рецидив, ЛТ – лучевая терапия

Как видно из таблицы, только у 3/9 больных достигнута полная ремиссия после терапии 1-й линии. У 5/9 пациентов – частичная ремиссия заболевания, у 1/9 пациентов – прогрессия заболевания. 6/9 пациентам потребовалось назначение терапии 2-й линии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В нашем исследовании охарактеризована редкая нозологическая форма НЛХЛП на группе 60 больных. Представлена детальная морфологическая характеристика, оценены различные варианты иммуногистоархитектоники опухолевого субстрата при реакции с общедоступными антителами к CD20 и охарактеризованы иммунофенотипические особенности опухолевых клеток. В ходе нашего исследования мы попытались приблизиться к пониманию биологии НЛХЛП и рассмотрели THRLBCL-подобные участки в рамках одной нозологической формы с НЛХЛП, учитывая выявленную мозаичность иммуногистохимической картины и индолентное течение этой лимфомы. Различные ИГХ подварианты в сателлитных лимфатических узлах и основной опухолевой массе, в дебюте и при рецидиве/прогрессии заболевания, отсутствие временной зависимости при появлении THRLBCL-подобных участков, изменение иммунофенотипа опухолевых клеток при выходе за пределы нодулеподобных структур (появление экспрессии BCL2 и CD19) свидетельствуют в пользу единого спектра опухолевого субстрата, объединяющего НЛХЛП и THRLBCL. Количество и сочетание ИГХ подвариантов в лимфатическом узле может быть различным, а их выделение необходимо для сопоставления с клиническим течением заболевания и проведения дифференциальной диагностики с широким спектром лимфом и реактивных состояний. Ввиду наличия небольшого количества опухолевых клеток при НЛХЛП среди выраженного реактивного микроокружения наибольшую диагностическую ценность представляет маркер Oct-2, ядерная гиперэкспрессия которого является уникальной для НЛХЛП, свидетельствует о сохранной транскрипционной программе В-клеток зародышевых центров и упрощает визуализацию опухолевых клеток.

Течение НЛХЛП схоже с течением ФЛ с развитием поздних рецидивов и трансформации в ДВККЛ, частота которой зависит, в частности, от медианы наблюдения. Мы относим к опухолевой трансформации НЛХЛП только трансформацию в ДВККЛ, которая является биологически новым событием с определенным морфологическим субстратом и агрессивным клиническим течением.

Для ИГХ исследования целесообразно выбирать срез с наиболее выраженными диффузными участками опухолевого роста (при наличии), в отдельных случаях при различном характере роста и морфологии опухолевого субстрата необходимо

исследовать 2 блока с различной морфологией. Верификация диагноза НЛХЛП сложна ввиду редкости данной нозологии и высокой вероятностью ошибочного диагноза. Поэтому в сложных случаях необходима консультация биопсийного материала в референсных лабораториях с использованием соответствующей панели антител. ИГХ панель при классической морфологической картине НЛХЛП может быть узкой (CD20, Oct-2, PD-1), или расширенной, при дифференциальной диагностике с кЛХ, с включением в панель CD30, CD15, EBV (LMP1), PAX5, BCL6, при необходимости - маркеров для оценки популяций Т-клеточного микроокружения и маркеров визуализации сети ФДК (CD21, CD23).

На основании проведенного нами исследования и выявленных клинико-патоморфологических корреляций в патологоанатомическом заключении следует указывать гистологический характер роста опухоли и ИГХ подвариант с использованием формулировок: классический ИГХ подвариант (при отсутствии других даже минорных компонентов), НЛХЛП с наличием экстранодулярных LP-клеток, В-клеточного истощения, а при визуализации THRLBCL-подобных участков указывать их площадь в срезе с пороговым значением в 50%.

Выделение прогностически неблагоприятной группы НЛХЛП (более 50% THRLBCL-подобных участков в срезе лимфатического узла) клинически обосновано ввиду статистически значимого преобладания IV клинической стадии, множественного экстранодулярного поражения и плохим ответом на терапию 1ой линии. В настоящее время существует необходимость разработки дифференцированного подхода к терапии при не-классических ИГХ подвариантах.

ВЫВОДЫ

1. Охарактеризованы 4 гистологических варианта нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоидным преобладанием и частота их диагностики у 60-ти больных исследованной группы: с нодулярным ростом - 28% случаев, с нодулярным ростом с наличием экстранодулярных LP-клеток - 23% случаев, с нодулярно-диффузным ростом - 42% случаев и преимущественно с диффузным ростом - 7% случаев.
2. Выделены 5 иммуногистохимических подвариантов нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоидным преобладанием: 1 - классический, 2 – В-клеточные нодули со значительным количеством экстранодулярных LP-клеток, 3 - нодулеподобные структуры с выраженным В-клеточным истощением, 4 - THRLBCL-нодулеподобные структуры, 5 - THRLBCL-подобный подвариант. В 63% случаев отмечалось сочетание нескольких ИГХ подвариантов в одном лимфатическом узле.

3. При полуколичественной оценке выраженности THRLBCL-подобных участков выделены 3 иммуногистохимические подгруппы нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоидным преобладанием: 0% (n=17), 0%<50% (n=11) и $\geq 50\%$ (n=14) THRLBCL-подобных участков. Все подгруппы статистически значимо различались по клиническим параметрам: частоте диагностики IV стадии заболевания ($p=0,0507$), количеству вовлеченных экстранодальных локализаций ($p<0,0001$), достижению полной ремиссии ($p=0,0126$).

4. Выявлено, что экспрессия опухолевыми клетками BCL2 и CD19 значимо чаще встречается при не-классических иммуногистохимических подвариантах ($p=0,0120$, $p=0,0134$ соответственно), что может служить маркерами иммуногистохимической трансформации нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоидным преобладанием.

5. Доказано, что экспрессия GATA3 отсутствовала, а PD-L1 экспрессирован опухолевыми клетками в 5% случаев нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоидным преобладанием по сравнению с группой контроля – классической лимфомой Ходжкина ($p<0,0001$), что позволяет использовать данные маркеры для дифференциальной диагностики этих двух нозологий. Экспрессия EZH2 в опухолевых клетках отмечалась у 100% больных исследованной группы и у 100% - группы контроля (классическая лимфома Ходжкина).

6. Определено, что опухолевая трансформация нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоидным преобладанием в диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому является редким событием и характеризуется агрессивным течением заболевания. Частота опухолевой трансформации в диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому составила 3% случаев в исследованной группе пациентов при медиане наблюдения 26 месяцев (0-130 мес., доверительный интервал 95%).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Шуплецова И.А. Синцитиальный вариант нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоидным преобладанием» / Ковригина А.М., Моисеева Т.Н. // Клиническая и экспериментальная морфология. 2017. - Т.4. - №24. – С.38-43.
2. Шуплецова И.А. Характеристика морфологического субстрата и иммуногистоархитектоники при нодулярной лимфоме Ходжкина с лимфоидным преобладанием. / Ковригина А.М., Моисеева Т. Н., Дорохина Е.И. // Сибирский научный медицинский журнал. – 2019. Т.1. С.27-33.
3. Шуплецова И.А. Клинико-патоморфологическое сопоставление различных иммуноморфологических подвариантов нодулярной лимфомы Ходжкина с лимфоидным преобладанием на этапе первичной диагностики опухоли. / Ковригина А.М., Моисеева

- Т.Н., Дорохина Е.И, Куликов С.М. // Клиническая онкогематология. – 2019. – Т.12. - №2. – С.185–93.
4. Шуплецова И.А. Особенности гисто-и иммуногистоархитектоники у больных нодулярной лимфомой Ходжкина с лимфоидным преобладанием в дебюте заболевания / Ковригина А.М., Моисеева Т.Н., Дорохина Е.И. // Гематология и трансфузиология. – 2018. – Т.63. – №S1. – С.198.
 5. Шуплецова И.А. Иммунофенотипические особенности опухолевого субстрата больных нодулярной лимфомой Ходжкина с лимфоидным преобладанием в дебюте заболевания / Ковригина А.М., Моисеева Т.Н., Дорохина Е.И. // Гематология и трансфузиология. – 2018. – Т.63. – №S1. – С.198.
 6. Шуплецова И.А. Клинические особенности и результаты терапии больных нодулярной лимфомой Ходжкина с лимфоидным преобладанием с наличием участков по типу в-клеточной крупноклеточной лимфомы, богатой Т-клетками и/или гистиоцитами / Дорохина Е.И., Моисеева Т.Н., Ковригина А.М., Аль-Ради Л.С., Мангасарова Я.К., Горячева С.Р. // Гематология и трансфузиология. – 2018. – Т.63. – №S1. – С.63-63.
 7. Shupletsova I. Clinical characteristics and treatment outcome of nodular lymphocyte predominant Hodgkin's lymphoma with THRLBCL-like patterns / Dorokhina E.I., Moiseeva T.N., Kovrigina A.M., Al-Radi S., Mangasarova Ya.K., Goryacheva S.R. // Abstract Book for the 11th International Symposium on Hodgkin Lymphoma. – 2018/ - Т. 2. - №S3. –С.30.
 8. Shupletsova I. Comparison immunoarchitectural patterns of primary, extranodal and bone marrow lesions in nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma / Kovrigina A., Moiseeva T., Dorokhina E. // Abstract Book for the 11th International Symposium on Hodgkin Lymphoma. – 2018/ - Т.2. - №S3. –С.30-31.

Список используемых сокращений

БРВ – безрецидивная выживаемость

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ДВККЛ – диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома

ИГХ – иммуногистохимическое

кЛХ – классическая лимфома Ходжкина

ЛХ – лимфома Ходжкина

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

НЛХЛП – нодулярная лимфома Ходжкина с лимфоидным преобладанием

ОВ – общая выживаемость

ПР – полная ремиссия

ФДК – фолликулярные дендритические клетки

ФЛ – фолликулярная лимфома

ЧР – частичная ремиссия

BCL2 – B cell lymphoma/leukemia 2 – белок-регулятор апоптоза

BCL6 – B cell lymphoma/leukemia 6 – транскрипционный фактор, участвующий в герминальной дифференцировке В-лимфоцитов

BOB.1 – B-cell specific octamer binding protein-1 – В-клеточный специфичный октамер-связывающий белок-1

CD – cluster of differentiation – номенклатура дифференцировочных антигенов лейкоцитов человека

EBER – Epstein-Barr virus EBV-encoded small RNAs – кодируемые вирусом Эпштейна-Барр малые РНК

EBV – Epstein-Barr virus – вирус Эпштейна-Барр

ESMO – European Society for Medical Oncology – Европейское общество медицинской онкологии

GATA3 – GATA (последовательность нуклеотидов) - связывающий белок 3

THRLBCL – T-cell/histiocyte rich large B-cell lymphoma – крупноклеточная В-клеточная лимфома, богатая Т-клетками/гистиоцитами

LMP1 – latent membrane protein-1 – латентный мембранный белок-1

LP – lymphocyte predominant – преимущественно лимфоидные

Oct-2 – octamer binding protein-2 - октамер-связывающий белок-2

PAX5 – Paired box protein Pax-5 – транскрипционный фактор, член семейства Paired-box (PAX)

PD-1 – Programmed cell death-1 – запрограммированная смерть клетки 1

PD-L1 – Programmed death-ligand 1 – лиганд рецептора PD-1 (запрограммированной смерти клетки 1)

PD-L2 – Programmed death-ligand 2 – лиганд рецептора PD-1 (запрограммированной смерти клетки 2)

Tfh – follicular helper T-cells – фолликулярные Т-клетки-хелперы

THRLBCL-подобный подвариант – подвариант НЛХЛП, напоминающий крупноклеточную В-клеточную лимфому, богатую Т-клетками/гистиоцитами