Практическое руководство по диагностике и классификации лимфом

Британский комитет по стандартам в гематологии,
Королевская коллегия патоморфологов

Адрес для переписки:
Администратор Британского комитета по стандартам в гематологии (BCSH)
Британское общество по гематологии
100 White Lion Street
London N1 9PF
e-mail: bcsh@b-s-h.org.uk

Авторский коллектив:
Parker A[1], Bain B[2], Devereux S[3], Gatter K[4], Jack A[5], Matutes E[6], Rooney N[7],Ross F[8], Wilkins B[9], Wotherspoon A[10], Ramsay A.[11]

Дата обзора: Руководство было опубликовано в апреле 2010 года. Это пересмотренная версия руководства от 2008 года, которая подлежит пересмотру в апреле 2012 г..

Отказ от ответственности.

Несмотря на то что приведенные в этом руководстве рекомендации и информация считались верными и точными на момент публикации, ни авторы, Британское общество по гематологии, ни издатели не несут никакой юридической ответственности за содержание этого руководства.

[1] Anne Parker, (руководитель BCSH), консультирующий гематолог, Королевская лечебница Глазго, г. Глазго
[2] Barbara Bain, консультирующий гематолог, больница Св. Марии, Паддингтон
[3] Steve Devereux, консультирующий гематолог, клиника Кингс-колледжа, Лондон
[4] Kevin Gatter, профессор патоморфологии, больница им. Джона Рэдклиффа, Оксфорд
[5] Andrew Jack, консультирующий патогистолог, больница общего профиля, Лидс
[6] Estella Matutes, консультирующий гематолог, клиника Роял Марсден, Лондон
[7] Nick Rooney, консультирующий патогистолог, больница Саутмид, Бристоль
[8] Fiona Ross, консультирующий научный сотрудник-клиницист, региональная генетическая лаборатория Уэссекса, Салисбери
[9] Bridget Wilkins, консультирующий патогистолог, Королевская больница им. Виктории, Ньюкастл-на-Тайне
[10] Andrew Wotherspoon, консультирующий патогистолог, клиника Роял Марсден, Лондон
[11] Alan Ramsay, консультирующий патогистолог (руководитель Королевской коллегии патоморфологов), клиника Университетского колледжа, Лондон

Адреса эл. почты см. на стр. 43

Содержание

Методология 3
Обновление и основные изменения в руководстве 3
Введение 3
Забор и транспортировка образцов 5
Обращение с образцами в лаборатории 6
Хранение образцов 11
Иммунодиагностика 11
Цитогенетический и молекулярно-генетический анализ 13
Совещание междисциплинарной группы 14
Общие закономерности лимфоидных заболеваний 14
Список литературы 22
Таблица 1. Степени доказанности 27
Таблица 2. Классы рекомендаций 27
Таблица 3. Антитела, обычно используемые при исследованиях лимофом 28
Таблица 4. Выбор иммуногистохимического метода диагностики лимфом 37
Таблица 5. В-клеточные лимфомы – антитела для иммунофенотипирования 39
Таблица 6. Антитела первой линии при лимфоме Ходжкина 41
Таблица 7. Антитела первой линии при Т-клеточной лимфоме 41
Рисунок 1. Предлагаемый подход к оценке лимфаденопатии 42
Контактная информация группы авторов: 43

Методология

Эти рекомендации разработаны под руководством Королевской коллегии патоморфологов (RCPath) и Британского комитета по стандартам в гематологии (BCSH). Рабочая группа состояла из четырех гематологов (AP, SD, BB, EM), шести патоморфологов (AR, KG, AJ, NR, BW, AW) и одного цитогенетика (FR). Рекомендации группы основаны на обзоре важнейших публикаций по декабрь 2005 года и согласованном мнении специалистов. В руководстве приведены наилучшие подходы к обработке тканей и выполнению исследований, необходимых при диагностике лимфом. В приложениях даны рекомендации по поводу основных критериев, необходимых для постановки диагноза «лимфома» с использованием классификации ВОЗ (Jaffe 2001).

Рекомендации были сформулированы с помощью инструмента для согласования (http://www.agreecollaboration.org), после чего были рассмотрены членами рабочих органов BCSH и RCPath, с отражением мнения сотрудников как учебных, так и районных больниц. Использованы степени доказанности, описанные Агентством США по политике и исследованиям в области здравоохранения (см. табл. 1 и табл. 2).

Обновление и основные изменения в руководстве

Это обновленная версия руководства, опубликованного в 2008 году, с включением изменений, внесенных в рекомендации ВОЗ от 2008 г. по лимфопролиферативным заболеваниям.

Введение

Национальный институт совершенствования медицинской помощи (NICE) в своем отчете об улучшении исходов в области гематологической онкологии (2003) обозначил необходимость квалифицированной отчетности о гематологических злокачественных новообразованиях. Это связано с тем, что для точного диагноза лимфоретикулярного заболевания нужно объединить результаты многих исследований при высоком качестве гистологического, иммунологического, молекулярного и генетического анализов. Кроме того, необходим опыт в области биопсии лимфатических узлов, т.к.существует много подводных камней, а последствия неверной диагностики весьма серьезны. По мнению авторов многих публикаций, надежность диагностики лимфоретикулярных заболеваний можно повысить за счет междисциплинарного подхода, как это делается в тех лабораториях, где у специалистов есть соответствующий опыт (Jarrett и соавт.2003, Lester и соавт. 2003). На сегодняшний день для различных форм лимфомы применяются разные протоколы лечения, а в будущем может понадобиться определять молекулярные мишени для терапии. Одно из основных различий в лечении лимфом по сравнению с большинством других опухолевых заболеваний у взрослых состоит в том, что опухолевый процесс в основном протекает скрыто. В лаборатории необходимо получить максимум информации из биоптата, чтобы выбрать тактику лечения и дать прогноз (Ashton-Key и соавт. 1995).

Структура лаборатории может варьироваться от единственной службы по гемопатологии, способной выполнить все тесты в самой лаборатории, до объединения местной лаборатории и региональных цитогенетических и молекулярно-генетических служб. Все лаборатории должны соблюдать стандарты, установленные организацией по аккредитации клинико-диагностических лабораторий (Clinical Pathology Accreditation Ltd) (Великобритания). Каковы бы ни были местные условия и источники различных составляющих, лаборатория должна дать группе клиницистов заключительный отчет,

объединив различные составляющие в логично вытекающий диагноз. Согласно рекомендациям NICE, это должен быть обзор материала, выполненный специалистом-гемопатологом, работа которого подлежит проверке. Эта проверка может проводиться на национальном или региональном уровнях, но всегда в дополнение к техническому контролю качества. Все специалисты, дающие в профессиональной сети заключение о лимфомах, должны быть перечислены в списке сертифицированных специалистов-гемопатологов и посещать не менее половины совещаний междисциплинарных групп (МДГ). В том случае, если случаями гемопатологических заболеваний занимаются другие специалисты, например детские патоморфологи или невропатологи, рекомендуется обеспечить им возможность консультации со специалистами по гемопатологии. В идеале специалист по гемопатологии должен быть привлечен к составлению заключения МДГ по каждому такому случаю. Если первичный диагноз ставился неспециалистом, окончательное заключение о доброкачественном характере заболевания следует давать, только если диагноз абсолютно ясен, т.к. это может ограничить любые дальнейшие исследования. Внимательный подход и раннее направление сомнительных случаев в специализированные центры позволят снизить риск пропуска лимфом. Следует также помнить, что лимфомы могут впервые проявляться у пациентов, перенесших лимфаденэктомию по поводу карциномы. В таких случаях лимфатические узлы исследуют врачи, которые специализируются на других видах опухолей, поэтому им также нужно знать обычную реакцию лимфоузлов и внешние проявления лимфом (Cox и соавт., 2005, Kampalath и соавт., 2004, Sheahan и соавт., 2005).

Для пациента с лимфомой прогноз определяется типом опухоли, ее стадией и другими прогностическими факторами. Например, в случае диффузной В-крупноклеточной лимфомы прогноз для пациента можно оценить с помощью Международного прогностического индекса по возрасту, общему состоянию пациента, стадии болезни, наличию экстранодальных очагов, а также уровню лактатдегидрогеназы (1997). Многие вспомогательные тесты находятся за пределами этого руководства. Однако существует ряд прогностических индикаторов, которые нужно оценить с помощью иммуногистохимического или молекулярно-генетического анализа. Не последний из них — экспрессия *BCL2* при диффузной В-крупноклеточной лимфоме, наличие которой означает более неблагоприятный прогноз, чем для *BCL2*-отрицательных опухолей (Gascoyne и соавт.1997, Hill и соавт. 1996, Weisenburger и соавт. 2000). Диффузная В-крупноклеточная лимфома не может больше рассматриваться как одно заболевание, поскольку прогноз при ней зависит от фенотипа в герминативном центре и вне его, от места возникновения, от ее принадлежности к опухолям низкой градации, от наличия t(14,18), экспрессии *BCL2* и мутации *TP53* (Barrans и соавт. 2002, Hans и соавт. 2004). Решения о лечении пациента все больше и больше будут зависеть от анализа этих и других маркеров, следовательно необходимо обеспечить проведение таких анализов в будущем, особенно с учетом быстрого прогресса в технологии микрочипов, позволяющей выявить новые гены, облегчающие диагностику и прогнозирование.

Рекомендации

- В каждую МДГ должен входить как минимум один сертифицированный патоморфолог, который будет рассматривать материалы всех новых случаев (класс С, степень доказанности IV).
- Заключительный отчет должен объединять все исследования, выполненные для данного образца (класс С, степень доказанности IV)
- Врачам таких специальностей, как педиатрия или невропатология, следует направлять пациентов с лимфомой для обследования к специалисту-гемопатологу (класс С, степень доказанности IV).

Забор и транспортировка образцов

Диагноз «лимфома» может быть поставлен на основании исследования различных образцов в зависимости от клинической картины. В специализированную гемопатологическую лабораторию могут поступить на исследование лимфоузлы, аспират костного мозга, трепанобиоптаты и периферическая кровь, а также и другие жидкости организма – спинномозговая, асцитическая или плевральная. В других больницах образцы тканей исследуют в лаборатории клеточной патологии, а аспират костного мозга и образцы крови поступают в гематологическую лабораторию. Не существует единого мнения о том, кто должен писать заключение по трепанобиоптатам костного мозга, патогистологи или гематологи, однако лучшим считается объединить в заключительном отчете результаты всех исследований. Поскольку гематолог является главным исследователем, целесообразно именно ему поручить объединение результатов исследований костного мозга, а патогистолог должен отвечать за объединенное заключение об образцах тканей — лимфатических узлов или селезенки. Конечно, допустимы другие варианты с учетом опыта на местах.

Количество патоморфологических тестов, необходимых для точной диагностики и классификации гематологической злокачественной опухоли, означает, что лучше иметь цельные образцы лимфоузла, а не толстоигольные биоптаты или тонкоигольные аспираты (ТИА) клеток. В диагностике опухолей недоступных локализаций, таких как забрюшинная, помогает толстоигольная биопсия. Однако если важно определить структуру, особенно для неходжкинской лимфомы низкой градации или узловой лимфомы Ходжкина с преобладанием лимфоцитов (УЛХПЛ), диагностика по таким образцам может быть затруднена. Тонкоигольная биопсия в комплексе с флюоресцентной гибридизацией *in situ* (FISH) и проточной цитометрией помогает в диагностической оценке при подозрении на трансформацию в опухоль высокой градации (Dunphy 2004, Jorgensen 2005), однако в целом для постановки первичного диагноза лимфомы ее обычно не используют, если есть другие доступные образцы тканей и соблюдены все другие диагностические критерии. Согласие пациента на все лабораторные исследования, необходимые для постановки диагноза, включая ДНК-анализ, должно быть получено при первоначальной консультации. В нем, как правило, говорится об исследованиях для поиска отклонений, без перечня конкретных тестов. Однако пациент может принять решение об ограничении числа анализов, исключив, например, серологическое исследование на ВИЧ. Врач обязан документировать согласие пациента должным образом. Если в результате исследований будет поставлен непредвиденный диагноз, необходимо обсудить это с пациентом и получить от него дополнительное согласие (Colvin 2005). Так как сфера гемопатологии меняется очень быстро, желательно получить согласие также и на последующие научные исследования, если это возможно.

Самый простой путь достижения наилучших результатов — организовать скорейшую передачу свежеполученных лимфатических узлов в лабораторию. Это позволяет не просто получить свежие образцы тканей для немедленного анализа, но оптимальным образом фиксировать образцы для заливки в парафин/пластик и обработки, а также подготовить отпечатки цитологических образцов. Наряду с тем, что окрашивание цитологических образцов по Гимзе помогает отнести лимфому к той или иной категории, истинная ценность отпечатков состоит в их пригодности для флюоресцентной гибридизации FISH.

Поскольку не все лаборатории клеточной патологии оборудованы для работы с опасными возбудителями, и клинической группе, и сотрудникам лаборатории нужно помнить о возможном заражении туберкулезом, ВИЧ-инфекцией или гепатитом В. Если биопсию

выполняют в целях клинической диагностики инфекционного заболевания, например туберкулеза, свежеполученные образцы можно отправлять прямо в микробиологическое подразделение.

Образцы в лабораторию необходимо доставлять в кратчайшие сроки после забора, т.к. для цитогенетического анализа необходима культура живых клеток, а РНК после удаления ткани из организма быстро разрушается. Это требует тесного взаимодействия с персоналом операционных, т.к. биопсия лимфоузлов часто стоит в конце списка хирургических манипуляций и образец может прибыть в лабораторию в конце дня. Если такие тесты, как цитогенетический анализ или проточная цитометрия, выполняются далеко от места забора материала, для сохранения диагностической ценности тканей следует использовать транспортную среду или питательную среду для тканей.

В любом случае, для оценки опасности образца и планирования исследований необходимы соответствующие клинические данные. Материалы для лабораторной диагностики могут быть утрачены, если сбор клинических данных отложен до совещания междисциплинарной группы. Помимо клинической картины необходимо резюме гематологического статуса пациента, включая количество лейкоцитов и результаты всех предшествующих исследований, например проточной цитометрии периферической крови. Если биопсию лимфоузлов проводят по запросу гематолога/онколога, заполнять заявку удобнее именно ему, а не хирургу, выполняющему биопсию.

Рекомендации

- Тонкоигольные аспирационные биоптаты обычно не используют как единственную ткань для диагностики (класс B, степень доказанности III).
- При подозрении на лимфому следует передавать в лабораторию только свежеполученные образцы тканей (класс C, степень доказанности IV).
- Отпечатки свежей лимфоидной ткани следует сделать сразу же после получения материала и оставить для хранения (класс C, степень доказанности IV).
- Материал, отправляемый для удаленного анализа, требует соответствующей транспортной среды и контроля температуры (класс C, степень доказанности IV).
- В заявке следует указывать важные клинические и лабораторные данные (класс C, степень доказанности IV).

Обращение с образцами в лаборатории

Правильное обращение с поступившими в лабораторию образцами имеет решающее значение для успешного заключения по образцу. Хотя много диагнозов можно поставить по ткани, подвергшейся обычной обработке, в некоторых случаях, таких как лимфома Беркитта, необходимы дополнительные тесты. Более того, цитогенетический и молекулярно-генетический анализы могут дать важную информацию в случаях с неясным диагнозом, а также помогают подтвердить диагноз в других случаях. Для цитогенетического анализа и проточной цитометрии (ПЦ) нужны свежие ткани, а для качественных гистологических срезов и надежного иммунохимического окрашивания нужны тщательно и равномерно фиксированные образцы. Если морфологию клеток определяют в одном, а ПЦ, цитогенетический и другие анализы проводят в других подразделениях, важно предусмотреть объединение всех результатов в окончательном заключении по образцу.

Образцы нужно обработать таким образом, чтобы при необходимости можно было выполнить следующие исследования:

- микроскопия соответствующим образом зафиксированного и окрашенного образца ткани;
- иммунологические исследования – иммуногистохимия и/или ПЦ;
- цитогенетический анализ путем дифференциального окрашивания хромосом по Гимзе (G-бэндинг);
- флуоресцентная гибридизация (FISH) на клеточной суспензии, тонких слоях, отпечатках или парафиновых срезах;
- молекулярно-генетический анализ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), ПЦР в реальном времени или секвенирование генов.

Образцы лимфоузлов

При получении такого образца необходимо провести следующие оценки.

Микробиологический риск

Всегда необходимо принимать во внимание, с какими микроорганизмами позволяет работать имеющееся в лаборатории оборудование. При подозрении на туберкулез или грибковую инфекцию свежие образцы необходимо сразу отправлять в микробиологическую лабораторию. Зафиксированные образцы должны быть помещены в формалин на 48 часов. Также при подозрении на ВИЧ в лабораторию, как правило, следует направлять лимфоузлы, зафиксированные в течение 48 часов до обработки.

Объем

Главное — фиксация в формалине для получения срезов из залитого парафином или пластиком материала для морфологического анализа и иммунофенотипирования. Если образец небольшой, например толстоигольный биоптат, то материала может не хватить для дополнительных исследований. В то же время, если получен образец в виде целого свежего лимфоузла достаточного объема, можно разделить его таким образом, чтобы фиксировать часть материала для гистологических срезов, а часть использовать в свежем виде для других исследований.

Далее образцы обрабатывают с использованием следующих методов.

Фиксация ткани

Поступившие в патоморфологическое отделение образцы лимфоузлов более 0,5 см в диаметре разрезают на части для должной фиксации. Для приготовления парафиновых блоков необходимы образцы тканей толщиной 3 мм. По возможности каждый срез следует помещать в отдельную кассету, т.к. иммунное окрашивание нескольких кусочков выполнять трудно. Чтобы обеспечить ровную поверхность срезов лимфоузлов и предупредить появление складок, в кассеты помещают губки. Фиксировать блок следует не менее 24-48 часов; при меньшей продолжительности клетки сохраняются хуже, вплоть до полной утраты информативности образца ткани. Стандартизация фиксации делает иммунохимию более надежным методом, поскольку время нагрева и восстановления протеаз будут одинаковыми. При более длительной фиксации иммунохимический анализ затруднен, а восстановления ДНК из парафиновых блоков может и не произойти.

Цитогенетика

Свежий образец материала в питательной среде для тканей следует направить на предварительное культивирование, прежде чем проводить цитогенетический анализ. Маловероятно, что оставленные на несколько часов без питательной среды клетки дадут полезную цитогенетическую информацию. Срезы, окрашенные гематоксилином и эозином,

необходимо исследовать сразу после приготовления для того, чтобы в случае обнаружения метастазов или явного реактивного состояния лимфоузлов можно было прекратить цитогенетический анализ, избежав значительных расходов на ненужные исследования.

Если свежий образец материала в питательной среде можно направить для цитогенетического анализа, то наименее затратный путь применения методов цитогенетики на биоптатах – это флюоресцентная гибридизация *in situ* на предмет специфических транслокаций. Поэтому из всех свежих биоптатов следует делать отпечатки тканей. Патоморфологам и генетикам следует держать связь друг с другом, чтобы эти отпечатки были наиболее информативными при использовании метода FISH. Сегодня большинство цитогенетических лабораторий предлагают услугу по использованию FISH на срезах тканей. Отпечатки или срезы можно отправлять на исследование FISH в том случае, если необходимы данные цитогенетики. Препараты свежих образцов для метафазного анализа следует сохранить и исследовать только после того, как морфологическая оценка образца покажет необходимость данных по цитогенетике.

Тем не менее, цитогенетические лаборатории должны хранить клеточные суспензии на случай необходимости последующих анализов.

Проточная цитометрия

Если образец должен быть исследован немедленно, в соответствующую лабораторию доставляется сухой свежий образец. Если доставка занимает слишком много времени, следует предварительно разделить и зафиксировать образец для анализа.

Молекулярная биология

Образец свежей ткани быстро замораживают и сохраняют для возможных последующих исследований, например ДНК.

Образцы периферической крови

Морфология

Периферическую кровь забирают в пробирки с достаточным для данного объема крови количеством ЭДТК.

Цитогенетика и FISH

Если кровь предназначена для цитогенетического анализа, лучше использовать гепарин без консервантов. Нефиксированные кровяные пленки, приготовленные с помощью покрытых силаном предметных стекол для FISH, могут служить альтернативой или дополнением к материалам, подготовленным для цитогенетики. Такие пленки должны готовиться из свежих образцов, однако можно получить адекватные результаты и спустя годы хранения при комнатной температуре. Они обладают тем преимуществом, что дают возможность проводить наряду с FISH и некоторую морфологическую оценку (например, из анализа можно исключить нейтрофилы).

Молекулярные тесты

В случаях, когда необходимы молекулярные тесты, такие как ПЦР в реальном времени, выбор антикоагулянта зависит от методологии конкретной лаборатории (чаще всего это этилендиаминтетрауксусная кислота, ЭДТК).

Проточная цитометрия

Образцы, направляемые на ПЦ, должны храниться при комнатной температуре и попадать в лабораторию в течение 24 часов, так как со временем происходит снижение, вплоть до полного исчезновения, их антигенной активности. Дальнейшую информацию по обработке

и хранению см. в руководстве BCSH 2002 (Bain и соавт. 2002).

Аспираты костного мозга

Их используют для исследования морфологии, в ПЦ, ПЦР, FISH и иногда для традиционного цитогенетического анализа, если нет возможности получить ткани лимфоузлов. Большинство лабораторий предоставляют подходящую транспортную среду. Как и в случае периферической крови, пленки костного мозга — хорошая альтернатива цитогенетической подготовке материала, если нужно провести FISH. Существенным недостатком жидкого костного мозга при цитогенетических исследованиях или FISH является то, что часть направленных для этих анализов образцов могут оказаться значительно более разбавленными, чем нужно для морфологической оценки. Поскольку в эти генетические тесты не входит оценка исследуемых клеток, отрицательный результат может быть следствием скорее отсутствия искомых клеток в образце, чем отсутствием аномалий в опухолевых клетках.

Трепанобиопсия костного мозга

Ценность трепанобиопсии костного мозга для диагностики и определения стадии лимфомы хорошо известна (Bartl и соавт. 1984, Burkhardt и соавт. 1982, Munker и соавт. 1995). Трепанобиоптат лучше брать из заднего гребня подвздошной кости, он должен быть не менее 1,6 см (лучше хотя бы 2 см) длиной, с несколькими срезами, взятыми на разных уровнях (Bain 2001, Bishop и соавт. 1992, Campbell и соавт. 2003, Hercher и соавт. 2001). Ранее рекомендовалось проводить двустороннюю трепанобиопсию (Juneja и соавт 1990, Luoni и соавт. 1995), однако при наличии одного образца достаточной длины и качества с несколькими срезами проводить две болезненные процедуры практически нет смысла (Campbell и соавт. 2003).

Забор и подготовка

Образец забирают в 4%-ный раствор формалина, т.к. этот фиксатор не оказывает влияния на последующее применение большинства красителей и молекулярных техник (Le Maitre и соавт. 2001). Образец можно хранить в течение 72 часов и более без обработки; этого времени достаточно для отправки в соответствующую лабораторию при необходимости (Krenacs и соавт. 2005). Дальнейшая подготовка зависит от принятого в лаборатории метода — есть сторонники как парафиновой, так и пластиковой заливки, каждая из которых имеет свои преимущества; некоторые лаборатории комбинируют оба метода (Gatter и соавт. 1987, Krenacs и соавт. 2005). Только парафиновая заливка после декальцинации дешевле и больше подходит для извлечения ДНК, однако заливка пластиком позволяет получить улучшенную морфологию и работать с большим количеством антител, а также основными тестами на ДНК.

Морфология

Срезы трепанобиоптата костного мозга всегда прокрашивают гематоксилином и эозином, а также ретикулиновым красителем; можно окрашивать и по Гимзе (Bain 2001). Сначала каждый препарат исследуют на насыщенность клетками, для чего лучше всего подходит трепанобиоптат (Pasquale и Chikkappa 1986). Необходимо указать и описать любые аномальные включения в отношении клеточной морфологии и типа инфильтрации. Последний обычно может быть описан как один из следующих видов (или их комбинации), возможно имеющих прогностическое значение (Arber and George 2005):

- интерстициальный,
- паратрабекулярный,
- узловой,
- диффузный.

Световая микроскопия сама по себе не позволяет отличить не-неопластические фолликулы или лимфоидную гиперплазию от лимфомного инфильтрата (Deverell и соавт 1997). Тем не менее, когда нет других тканей, можно ставить диагноз «лимфома» исключительно по образцу трепанобиоптата, если он или сопутствующий аспират подверглись должному иммунному окрашиванию, а также цитогенетическим и молекулярным исследованиям (Buhr и соавт. 2002, Pasquale и Chikkappa 1986, Thaler и соавт. 1991). Всегда нужно учитывать возможность различных результатов при исследовании лимфоузлов и трепанобиоптатов, поэтому по возможности следует выполнять необходимые исследования на образцах обеих тканей (Arber и George 2005, Conlan и соавт. 1990).

Образцы других тканей

Иногда целесообразно искать признаки заболевания в других тканях организма, например спинномозговой или плевральной жидкости. Их отправляют в лабораторию в стерильных контейнерах без консервантов, если предполагаемый срок транспортировки не превышает 24 часа; в противном случае нужно использовать питательную среду. Особенно неустойчивы клетки в спинномозговой жидкости; такие образцы необходимо доставлять в лабораторию для анализа в течение 6 часов. В таких ситуациях полезно проводить цитологическое исследование, но при достаточном количестве клеток более чувствительным методом может быть проточная цитометрия с использованием подходящих панелей. Иногда, например при первичной выпотной лимфоме, эти образцы могут стать единственным доступным материалом для постановки диагноза. Однако это справедливо лишь для случаев, когда не обнаружено признаков заболевания в тканях, доступных для биопсии.

Рекомендации

- Все образцы необходимо оценивать на предмет микробиологической опасности (класс C, степень доказанности IV).
- Если получено небольшое количество ткани лимфоузла, получение достаточного количества срезов для гистологического анализа превосходит по важности все другие исследования (класс B, степень доказанности III).
- Толщина фиксированных срезов лимфатических узлов должна составлять не более 0,5 см (класс C, степень доказанности IV).
- Цитогенетический анализ биоптата следует проводить после первичной оценки, обычно методом FISH на отпечатках или срезах тканей, а не методом метафазного анализа (класс C, степень доказанности IV).
- Трепанобиопсию костного мозга следует проводить всегда при подозрении на диагноз лимфомы, либо если этот диагноз поставлен по другим тканям (класс C, степень доказанности IV).
- Длина трепанобиоптата должна быть более 1,6 см, с несколькими срезами (класс B, степень доказанности III).
- Не требуется проводить двустороннюю трепанобиопсию гребней подвздошных костей, если получены срезы с нескольких уровней при достаточной длине образца (класс B, степень доказанности III).
- Если для анализа недоступны другие ткани, диагноз лимфомы может быть поставлен лишь на основании исследования костного мозга (класс B, степень доказанности III).
- Все подозрительные на лимфому образцы тканей следует подвергать базовым иммуногистохимическим тестам и/или проточной цитометрии (класс C, степень доказанности IV).

Хранение образцов

Ни один диагностический материал не может быть уничтожен до тех пор, пока не закончены все исследования. Королевская коллегия патоморфологов рекомендует сохранять парафиновые блоки в течение как минимум 30 лет. Окрашенные препараты должны храниться не менее 10 лет, а лучше дольше, особенно если это небольшие биоптаты, когда диагностический материал нельзя сохранить в виде парафиновых блоков. Замороженные ткани следует хранить при температуре -70ºC или ниже не менее 10 лет, лучше дольше. Хранение при температуре -170ºC и ниже требуется, когда необходимо сохранить жизнеспособные клетки, например культуру тканей. Подробные рекомендации можно получить в Королевской коллегии патоморфологов и в Институте биомедицинских наук (2009).

Рекомендации

- Окрашенные препараты должны храниться минимум 10 лет (класс C, степень доказанности IV).
- Парафиновые блоки и препараты аспирата костного мозга подлежат хранению как минимум 30 лет (класс C, степень доказанности IV).

Иммунодиагностика

Иммунное окрашивание необходимо проводить с набором (панелью) антител, а не как индивидуальный тест, чтобы можно было провести соответствующее сравнение. Это может быть ПЦ, позволяющая легко определить отдельные клеточные популяции. ПЦ особенно целесообразна в случаях однородных популяций опухолевых клеток, таких как лимфобластная лимфома, при которой легко определяется терминальная дезоксинуклеотидилтрансфераза (ТдТ), или хронический лимфолейкоз (ХЛЛ), а также лимфома из клеток мантийной зоны, когда на поверхности опухолевых клеток можно определить одновременную экспрессию кластеров дифференцировки CD5 и CD20. Данные, полученные при ПЦ, не ограничиваются процентным содержанием клеток с маркером, но и указывают на одновременную экспрессию маркеров и интенсивность окрашивания. С этой точки зрения ПЦ превосходит иммуногистохимию и, возможно, недостаточно используется в Великобритании (Camacho и соавт. 2003). Однако применение ПЦ имеет свои ограничения. Проблемой может стать определение возможной лимфомы Ходжкина, т.к. узловой фиброз может помешать восстановлению клеток Рид-Штернберга. Таким же образом отрицательный результат может показать некротическая опухоль, если небольшой образец для проведения ПЦ не содержит жизнеспособных опухолевых клеток (Ravoet и соавт. 2004).

Иммунохимия парафиновых или пластиковых срезов обладает тем преимуществом, что позволяет увидеть наличие или отсутствие конкретного маркера в клетках с гистологическими отклонениями . Это может быть просто дополнением к информации, полученной с помощью ПЦ, а может быть единственным исследованием, если невозможно выполнить ПЦ или нет свежих тканей. Если все блоки ткани одинаковы, иммунное окрашивание проводят только на одном из них, в противном случае необходимо подобрать подходящие блоки для постановки предполагаемых у пациента диагнозов, например наличия диффузной В-крупноклеточной лимфомы на фоне фолликулярной лимфомы. При выборе панелей для иммуногистохимии и иммуноцитохимии важно включить в них антитела с ожидаемым и положительным, и отрицательным результатом. Большинство лимфом имеют характерный иммунопрофиль. Расхождения морфологии с иммунофенотипом могут объясняться технической ошибкой, неверным диагнозом либо

действительно искаженным результатом. В таких случаях для уточнения результатов нужны дополнительные исследования (Bain и соавт., 2002). В окончательном заключении необходимо подчеркнуть расхождения и дать объяснение отклонениям или противоречиям при иммунохимическом исследовании.

Все исследования с иммунным окрашиванием должны выполняться на приемлемом методическом уровне и при должном внешнем контроле качества. При работе с некоторыми новыми антителами бывает трудно достичь результатов надлежащего качества, однако эти антитела имеют решающее значение для диагностики лимфом. Кроме того, для правильной интерпретации результатов нужно знать закономерности нормального окрашивания и перекрестные реакции антител. Данные по согласованию интерпретаций иммунного окрашивания между различными патоморфологами ограничены; необходима дальнейшая работа в этой области (Bertoni и Zucca 2005, Zu, и соавт. 2005)

Иммунохимические диагностические панели

Трудно представить себе ситуацию, когда пациент прошел множество предоперационных исследований с последующей биопсией лимфоузла, минуя иммунное окрашивание в том или ином виде. При обычных срезах с гематоксилин-эозиновым окрашиванием легко пропустить такие сложные для диагностики заболевания, как межфолликулярная лимфома Ходжкина, синусоидальная инфильтрация при анапластической крупноклеточной лимфоме или частичное поражение узлов при фолликулярной лимфоме. Эти состояния можно распознать при тщательной световой микроскопии, однако гораздо проще это сделать с помощью малой панели антител. В таблице 3 приведены наиболее распространенные антитела, используемые для диагностики лимфом, их специфичность, а также пригодность для иммуногистохимии или иммунофлуоресценции методом ПЦ. Последний столбец показывает, рекомендованы ли антитела в качестве тестов первой или второй линии при В-клеточных лимфомах (В), Т-клеточных лимфомах (Т), лимфоме Ходжкина (Н) или гистиоцитарных новообразованиях (HIS). Картина иммуногистохимического окрашивания отдельных злокачественных новообразований подробно описана в разделах по этим заболеваниям.

В некоторых случаях в качестве начального исследования полная панель не нужна. Тогда работают с меньшей панелью антител. В таблице 4 показаны границы применения панелей антител для разных диагностических условий.

Рекомендации

- Для помощи в постановке диагноза «лимфома» следует использовать проточную цитометрию (класс В, степень доказанности III).
- И ПЦ, и иммуногистохимию следует выполнять с использованием подходящих предопределенных панелей антител (класс С, степень доказанности IV)

Цитогенетический и молекулярно-генетический анализ

Конкретные хромосомные аномалии сильно связаны с конкретными подтипами. В некоторых случаях (например, транслокация t(8;14) или другие варианты при лимфоме Беркитта) до постановки диагноза необходимо обнаружить транслокацию; иногда при сомнительном диагнозе очень помогает обнаружение транслокации.

Полный генетический анализ также целесообразен и в более общем контексте редких случаев, когда нелегко правильно распознать происхождение опухолевых лимфоидных клеток другими методами; при этом ясное указание на лимфоидную природу опухоли дает скорее общая картина хромосомных нарушений, а не наличие или отсутствие конкретных транслокаций.

Наилучшим материалом для цитогенетического анализа на лимфомы почти всегда являются лимфоузлы, селезенка или другие первично пораженные ткани. Костный мозг, даже при тяжелом поражении, часто дает лишь картину нормальной метафазы из-за преобладающего *in vitro* роста реактивных миелоидных клеток, а в образцах периферической крови часто не удается увидеть митоз, особенно при лимфомах низкой градации. При попытках провести цитогенетический анализ костного мозга на предмет явной связи нарушений с лимфомой необходимо исследовать значительное количество клеток вместо того, чтобы подробно изучить небольшое их число, как в случае с лейкемией. Флюоресцентная гибридизация FISH аспиратов костного мозга подвержена ложноотрицательным результатам из-за невыявленной гемодилюции, а выполнить FISH на срезах трепанобиоптата костного мозга могут лишь немногие лаборатории, поскольку декальцинация мешает обработке.

Срезы биоптатов для FISH должны быть тонкими (2-4 мкм). Время протеазной денатурации будет меняться в зависимости от толщины среза, поэтому при неудачной гибридизации в лаборатории нужно повторить анализ со срезами, подвергнутыми более длительной денатурации. С опытом обычно точнее рассчитывают протеазное время. При частичном поражении биоптата патоморфолог должен четко пометить очаг, если анализ FISH выполняется в отдельной цитогенетической лаборатории, где нет возможности проконсультироваться с патоморфологом. При анализе FISH трудно исследовать большие участки срезов, а большинство цитогенетиков не имеет достаточных знаний по патогистологии. Интерпретация численных изменений хромосом затруднена при флюоресцентной гибридизации на парафиновых срезах, но обычно нетрудна на отпечатках. Обрабатывать последние обычно намного быстрее, поэтому рекомендуется готовить отпечатки во всех случаях поступления в патоморфологическую лабораторию свежих материалов.

В общем, цитогенетический и FISH анализы более полезны на стадии постановки диагноза, чем в период наблюдения за болезнью, т.к. они относительно нечувствительны при анализах крови и костного мозга. Молекулярный мониторинг уже известных, поддающихся обнаружению транслокаций намного более чувствителен, хотя доля стандартных транслокаций, выявленных с помощью FISH при диагностике, больше.

Молекулярные методы

ПЦР — важная часть диагностического арсенала для обнаружения конкретных транслокаций, например t(14:18), или выявления клональности Т-клеточных рецепторов и В-клеточной клональности на основе перестройки генов Т-клеточных рецепторов, а также тяжелой и легкой цепи иммуноглобулинов. Однако ставить диагноз только на основе ПЦР нельзя, поскольку бывают как ложноположительные, так и ложноотрицательные

результаты (Gebhard и соавт. 2001, Maes и соавт. 2000, Pittaluga и соавт. 1999).

Рекомендации

- Методы цитогенетики или FISH необходимы для постановки диагноза лимфомы Беркитта (класс С, степень доказанности III).
- Цитогенетический или FISH анализы не следует рутинно выполнять на образцах аспирата костного мозга (класс С, степень доказанности IV).
- Цитогенетический или FISH анализы служат дополнительными средствами диагностики и не требуются в качестве рутинных исследований для всех образцов (класс С, степень доказанности IV).
- Не следует ставить диагноз только по результатам ПЦР (класс С, степень доказанности III).

Совещание междисциплинарной группы

Данные, полученные при всех видах исследований, необходимо сопоставить и объяснить с учетом клинической картины. Не каждый случай лимфомы имеет типичные клинические проявления, классический фенотип или генетический профиль. Ответственный патоморфолог или гематолог (в случае исследования крови или биоптатов костного мозга) ставит диагноз и назначает необходимые дополнительные исследования для устранения разногласий. Личный опыт проведения различных исследований, знание закономерностей окрашивания при иммунохимии, умение интерпретировать результаты FISH и цитогенетического анализа играют большую роль в оценке вклада каждого из анализов в окончательную формулировку диагноза. Все диагнозы гематологических злокачественных заболеваний должны обсуждаться междисциплинарной группой. На совещании должны быть записаны и диагноз, и решения по клиническому ведению пациента.

Общие закономерности лимфоидных заболеваний

Крайне важно правильно отличить реактивную лимфаденопатию от лимфомы. Ниже предложены подходы к этой проблеме (см. рис. 1)

Реактивная лимфаденопатия

Классические проявления реактивной лимфаденопатии включают в себя фолликулярную гиперплазию, паракортикальную гиперплазию, синусовый гистиоцитоз и гиперплазию медуллярных плазмоцитов в любой комбинации и любых пропорциях. Фолликулы могут становиться больше, приобретать неровные очертания и в обычно окрашенных срезах фрагментированных лимфоузлов могут быть ошибочно приняты за лимфому высокой градации. Паракортикальная зона может расширяться, с инфильтрацией гистиоцитами по диффузному или гранулематозному типу. Это может скрыть инфильтраты при В-клеточной, Т-клеточной лимфоме или лимфоме Ходжкина. Минимальный набор необходимых для подтверждения доброкачественного диагноза исследований зависит от конкретного случая.

Основная панель иммуногистохимических красителей позволяет обнаружить незаметные очаги лимфомы; BCL2 для распознавания фолликулярной лимфомы (ФЛ), CD10 для тонких инфильтратов при лимфоме Беркитта (ЛБ), CD23 для диффузного инфильтрата при хроническом лимфолейкозе (ХЛЛ) и CD30 для выявления поражения синусов при анапластических крупноклеточных лимфомах (АККЛ).

Фолликулярная гиперплазия
Классические проявления состоят в наличии лимфоидных клеток только в лимфоузле с сохранением его структуры, капсулы и краевых синусов.
Обнаруживаются герминальные центры со светлыми и темными зонами, частично или полностью окруженные мантийной зоной из малых лимфоцитов.Диагноз должен быть подкреплен данными иммунного окрашивания, ПЦР или FISH. Информативные исследования:

BCL2: - отрицательный при фолликулярной гиперплазии и положительный в 90% случаев фолликулярной лимфомы;

Ki-67/Mib-1:- показывает зональность внутри реактивных герминальных центров;

CD10: - положительные лимфоидные клетки при реактивной гиперплазии должны быть ограничены зоной герминального центра (Dogan и соавт. 2000);

ПЦР: - в большинстве случаев фолликулярной лимфомы есть моноклональная перестройка генов иммуноглобулина (Diss и соавт. 1995, Diss и соавт. 2002, Pan и соавт. 1995);

FISH: - в 86% случаев фолликулярной лимфомы имеется транслокация t(14:18), (IGH-BCL2) (Einerson и соавт. 2005).

Узловая пролиферация

Узлы из клеток вне герминального центра часто встречаются при лимфаденопатии и обычно указывают на неопластический процесс. При болезни Кастельмана (гиалиновой сосудистой форме) возможно формирование узлов из малых лимфоцитов (IgM и CD23-положительных) с концентрической сетью фолликулярных дендритных клеток. Прогрессивная трансформация герминальных центров характеризуется большими узлами из лимфоцитов, ее следует дифференцировать с узловой лимфомой Ходжкина с преобладанием лимфоцитов (УЛХПЛ). Дифференциальный диагноз может быть сложным, более того, оба процесса могут сосуществовать в одном лимфоузле. Поэтому иммунное окрашивание необходимо для постановки диагноза УЛХПЛ (Anagnostopoulos и соавт. 2000).

Паракортикальная гиперплазия

Выраженная паракортикальная гиперплазия может наблюдаться в качестве реакции на лекарства или вирусную инфекцию и может имитировать картину Т-клеточной лимфомы. Она может скрывать или имитировать интерфолликулярную лимфому; особенно это относится к классической лимфоме Ходжкина, которую легко пропустить или неверно определить в таких условиях. Диагноз прояснит использование подходящих для лимфомы Ходжкина (ЛХ) иммуногистохимических панелей.

Другие варианты

Одна из наиболее трудных для оценки пролифераций — гранулематозная лимфаденопатия, поскольку ее признаки встречаются при многих лимфомах, а также могут появляться при доброкачественных иммунных патологиях с симптомами и признаками, похожими на таковые при лимфомах (Asakawa и соавт. 2001, Braylan и соавт. 1977, Fukudaи соавт. 1997, Haralambieva и соавт. 2004, Leach и Maclennan 1990). При токсоплазмозе гранулематозная реакция сопровождается фолликулярной гиперплазией и гиперплазией маргинальной зоны. Однако следует ставить диагноз только при условии наличия всех характерных признаков, т.к. есть возможность пропуска или гипердиагностики ЛХ.

Туберкулез и саркоидоз обладают собственными характерными признаками, и диагноз обычно можно поставить без иммунного окрашивания. Опять-таки, следует проявлять

осторожность и иметь в виду лимфомы, вызывающие гранулематозную реакцию. В таких случаях может потребоваться полная иммуногистохимическая панель для диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ) или ЛХ.

Синусовый гистиоцитоз — распространенная реакция на опухоль — встречается также при некоторых заболеваниях, таких как синусовый гистиоцитоз с массивной лимфаденопатией (СГМЛ, болезнь Розаи-Дорфмана) или у пациентов с иммунодефицитом (Lampert и Lennert 1976, Maric и соавт. 2005, Tsakraklides и соавт.1975).

Синусовая пролиферация может скрывать анапластическую крупноклеточную лимфому или лимфому маргинальной зоны также, как и следы метастатической карциномы или меланомы. Во избежание ошибок рекомендуется проводить соответствующие иммунохимические исследования.

В-мелкоклеточные новообразования

Группа В-мелкоклеточных лимфом — это разнородная группа неходжкинских лимфом, объединенных вместе по морфологическому признаку и в целом неактивному клиническому течению. Кроме того, у них есть некоторые общие клинические проявления. В последние годы с накоплением знаний об их происхождении и молекулярном патогенезе растет понимание исключений с более агрессивным клиническим течением (например, лимфома из клеток мантийной зоны или разновидности хронического лимфолейкоза). Будучи рассмотрены подробно, морфологические особенности этих лимфом демонстрируют по меньшей мере столько же различий, сколько и сходства, особенно если принимать во внимание результаты иммунофенотипирования. Это разнообразие клинических и патоморфологических признаков означает, что причин объединять их в одну группу становится все меньше. Акцент на наличии или отсутствии фолликулярной или узловой структуры также становится все менее важным в клинико-патологической оценке этих новообразований. Тем не менее, это по-прежнему полезно при начальной гистологической оценке, и патоморфологам важно знать, что данная группа опухолей может маскироваться под реактивный процесс и что в некоторых случаях можно увидеть узловую картину из-за фолликулярной колонизации.

Важная идея, заложенная в классификацию ВОЗ этих опухолей, состоит в том, что поведение некоторых из них больше напоминает лейкоз, что сильно влияет на клинические проявления (поражение крови и костного мозга с вторичным влиянием на гемопоэз; случаи спленомегалии и гипер- или гипоспленизма). Другая идея, касающаяся распространения процесса, состоит в различиях между узловыми В-мелкоклеточными лимфомами и экстранодальными лимфомами, особенно при поражении лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми (MALT). Различные особенности хоминга лимфоидных клеток из лимфоузлов и из MALT предположительно лежат в основе различных закономерностей распространения происходящих из них лимфом. Например, системная диссеминация MALT-лимфомы в ткани лимфоузлов или костного мозга нетипична и говорит о поздних стадиях заболевания.

Еще одна идея, лежащая в основе некоторых сходств и различий внутри данной группы лимфом, — это соматические сверхмутации. Лимфоидные клетки В-линии определяются по наличию перестроенных генов иммуноглобулинов, необходимых для нормального процесса воспроизведения антиген-специфических рецепторов клеточной мембраны, а также эффекторных молекул иммуноглобулинов для секреции. Последующее созревание аффинности под воздействием окружающей среды герминального центра приводит к дополнительным мутациям в генах иммуноглобулинов. Физиологически это связано с улучшением эффективности иммунного ответа. При лимфоидных опухолях следы соматических сверхмутаций могут быть обнаружены и использованы для предсказания

диагноза и клинического течения. Поначалу считалось, что некоторые из В-мелкоклеточных лимфом происходят из не-сверхмутировавших лимфоидных клеток, но в целом сейчас известно, что большинство случаев для большинства подтипов состоят из клонов клеток со сверхмутациями. Важнейшим исключением служит то, что примерно в 50% случаев хронического лимфолейкоза нет признаков соматической сверхмутации, а их клинический исход гораздо хуже, чем для случаев со сверхмутацией. Для В-мелкоклеточных лимфом, в отличие от ДВККЛ и других В-крупноклеточных лимфом, обычно мало данных за непрерывную клональную эволюцию через продолжение процесса сверхмутаций.

Диагностика этой группы, как и всех лимфом, должна основываться на рассмотрении широкого круга клинических и лабораторных данных, в сочетании с гистологическими результатами. Лабораторные результаты, а именно гистологическую картину (и/или цитологию, особенно при поражении крови или костного мозга) всегда необходимо толковать в свете данных иммунофенотипирования. Во многих случаях, особенно если иммунофенотипирование по каким-либо причинам проведено не до конца или дало нестандартные результаты, крайне важна информация цитогенетического анализа или FISH. Также бывает важен анализ клональности с помощью ПЦР в случаях, когда есть клинические или морфологические данные за то, что при иммунофенотипировании не был исключен такой альтернативный диагноз, как неопухолевая реактивная лимфоидная пролиферация. Известно, что эффективность ПЦР как индикатора моноклональности меняется в зависимости от групп заболеваний. Тем не менее, новые разработки в области дизайна праймеров (например, набор праймеров EU Biomed) и техники ПЦР обещают непрерывное улучшение. ПЦР может также помочь в определении генной перестройки *IGH-BCL2*, когда в предполагаемой фолликулярной лимфоме отсутствует экспрессия BCL2-белка. Однако доступные сейчас наборы праймеров не позволяют распознать все потенциальные перестройки, возникающие на основе t(14;18). FISH может показать лучшие результаты, поскольку все чаще проводится со срезами тканей и дисперсными ядерными препаратами из образцов лимфомы. Золотым стандартом уже стало определение генной перестройки *IGH-BCL1* при лимфомах из клеток мантийной зоны, когда устойчивое иммуногистохимическое выявление сверхэкспрессии циклина D1 затруднительно, а точки разрывов слишком разнородны, чтобы их можно было выявить с помощью ПЦР.

Все эти темы раскрыты в отдельных описаниях В-мелкоклеточных лимфом в разделах приложения, посвященных конкретным заболеваниям. Вот краткое резюме основных моментов.

Гистология

Определение имеющихся типов клеток (лимфоциты, центроциты, центробласты, параиммунобласты, плазмоциты, моноцитоидные клетки и пр.) и подтверждение либо и исключение реактивной патологии. Последнее — это основная сфера, в которой особенно важны структурные особенности ткани, хотя фолликулярные или нодулярные черты также служат отличительным признаком многих В-мелкоклеточных лимфом. Всегда следует учитывать возможность двойной патологии (включая сосуществование лимфомы и реактивных изменений, лимфомы и метастатического солидного новообразования, ходжкинской и неходжкинской лимфом).

Иммунофенотипирование

Большинство примеров В-мелкоклеточных лимфом можно легко классифицировать по установленному иммунофенотипу, в контексте цитологических и гистологических особенностей и клинических данных. В таблице 3 и диагностическом алгоритме (рис.1) подробно охарактеризована каждая из основных лимфом, которые можно распознать таким

способом. Следует отметить, что лимфоплазмоцитарную лимфому невозможно по иммунофенотипу отличить от разных подтипов лимфом маргинальной зоны; также нельзя таким способом различить отдельные подтипы лимфом маргинальной зоны (экстранодальная MALT-типа, узловая или лимфома селезенки). В каждом случае обязательно учитывать клинические и патоморфологические данные.

Генетический анализ

Изучение клональности на основе ПЦР стало хорошим подспорьем для разграничения опухолевой и реактивной лимфоидной пролиферации. В любом случае следует проанализировать перестройку генов и *TCR,* и *IGH* из-за возможного клонального несоответствия при подобных генетических процессах у пациентов с лимфомами. Последнее особенно важно для опухолей с более агрессивным течением и для опухолей с предполагаемым Т- или НК-клеточного происхождения, однако этот аспект также нужно учитывать и при В-мелкоклеточных лимфомах. Анализ сверхмутаций, особенно важный для определения подтипов хронического лимфолейкоза, следует по возможности выполнять всегда; современные методы требуют наличия ДНК из нефиксированных клеток и пока не могут быть воспроизведены на фиксированной ткани. Иммунофлюоресцентное определение экспрессии Zap70 методом сортировки клеток по активированной флуоресценции (FACS), представляется разумной заменой выявлению сверхмутаций, но результаты этих двух подходов не полностью соотносятся друг с другом; иммуногистохимическое окрашивание срезов тканей на Zap70 сейчас имеет ограниченную ценность в диагностической практике и сопряжено с дополнительными техническими трудностями.

Цитогенетический анализ методом кариотипирования также играет установленную роль в оценке тех В-мелкоклеточных пролиферации, которые имеют лейкемическую фазу или протекают с вовлечением костного мозга. Однако этот подход часто неинформативен, поскольку во многих случаях пролиферативная активность опухолевых клеток невысока. Конкретные представляющие интерес транслокации, а также удлинение или укорочение конкретных хромосом или их сегментов все чаще можно успешно изучать методом FISH.

Исследование возбудителей

Некоторые из В-мелкоклеточных лимфом сопровождаются иммунными нарушениями из-за воздействия конкретных возбудителей, чаще всего это *Helicobacter pylori* и экстранодальная лимфома маргинальной зоны MALT-типа в желудке. Кожные лимфомы маргинальной зоны связаны с возбудителем болезни Лайма, *Borrelia burgdorferi.* Появилось предположение о связи вируса гепатита С с лимфоплазмоцитарной и другими В-мелкоклеточными лимфомами, поэтому обнаружение этого вируса при подобных лимфомах может стать важным по мере уточнения его роли, . Во всех этих и других случаях, которые вероятно появятся в будущем, диагностика методами серологии и молекулярного анализа лимфомных тканей представляет растущий интерес.

Лифома Ходжкина

В настоящее время к лимфоме Ходжкина относят два больших типа заболевания. Более крупный из них — это классическая лимфома Ходжкина (КЛХ), меньшую долю составляет узловая лимфома Ходжкина с преобладанием лимфоцитов (УЛХПЛ). Взаимосвязь между ними скорее историческая, нежели биологическая, т.к их связь друг с другом не сильнее, чем со многими другими типами лимфом, например фолликулярной лимфомой. Для этих заболеваний характерно поражение лимфоузлов, а не иных органов. Обычно они встречаются у молодых людей, но КЛХ демонстрирует второй небольшой всплеск заболеваемости в позднем среднем возрасте.

Классическая лимфома Ходжкина (КЛХ)

Ее можно определить как лимфому, содержащую некоторое количество рассеянных крупных аномальных клеток, называемых клетками Ходжкина, в случае если они одноядерные, или клеток Рид-Штернберга, если они дву- или многоядерные. Эти клетки имеют характерные цитологические особенности и находятся среди большого количества гетерогенных примесей: неопухолевых воспалительных, стромальных и обкладочных клеток. Считается, что эти патологические клетки происходят из В-клеток герминального центра, т.к. они имеют моноклональные, но нефункциональные перестройки иммуноглобулиновых генов.

На основе особенностей сопутствующей тканевой реакции и количества патологических клеток можно выделить четыре подтипа КЛХ, а именно*

1) Богатый лимфоцитами (LRCHL)
2) Нодулярный склероз (NSCHL)
3) Смешанно-клеточный (MCCHL)
4) Лимфоидное истощение (LDCHL)

*сокращения из Классификации ВОЗ от 2008 г. (Swerdlow и соавт., 2008)

Узловая лимфома Ходжкина с преобладанием лимфоцитов (УЛХПЛ)

Эта моноклональная В-клеточная опухоль характеризуется по крайней мере частичной узловой пролиферацией в пределах лимфоузла. Внутри и вокруг этих лимфоузлов в разных количествах обнаруживаются характерные аномальные клетки с гиперсегментированными ядрами, обычно называемые L&H (лимфоцитарно-гистиоцитарные) или «попкорн»-клетки. Продолжаются неофициальные споры о том, следует ли причислять такие состояния к лимфоме Ходжкина (а не к неходжкинским лимфомам), однако на сегодняшний день решено, главным образом с клинической точки зрения, оставить их там, где они находятся согласно классификации ВОЗ.

Диагноз КЛХ и УЛХПЛ прежде всего основывается на морфологии и иммунофенотипе. Для этого по-прежнему в основном используют биопсию лимфоузла, причем лучше исследовать узел целиком, а не образец, полученный при толстоигольной или тонкоигольной биопсии. Иногда бывает трудно отличить анапластическую крупноклеточную лимфому от КЛХ или фолликулярную лимфому/реактивную гиперплазию от УЛХПЛ. Многие случаи КЛХ сопровождаются латентной инфекцией опухолевых клеток вирусом Эпштейна-Барр, чего не наблюдается при УЛХПЛ, за исключением редких случаев в сопутствующих реактивных стромальных клетках или лимфоцитах.

Гистология

Это хороший предиктор клинического течения этих новообразований, что постоянно подтверждается в клинических исследованиях на протяжении многих десятков лет. Цитологические исследования помогают сформулировать предварительный диагноз, который должен быть подтвержден гистологическим исследованием биоптата. Проточная цитометрия не играет роли в диагностике и ведении пациентов с КЛХ и УЛХПЛ.

Т-клеточные и НК-клеточные новообразования

Т-клеточные и НК(нормальные киллеры)-клеточные новообразования включают в себя множество нозологических единиц, возникших соответственно из клональных пролиферaций Т- и НК-клеток на разных стадия дифференцировки и/или активации. Эти опухоли образуют клинически неоднородную группу, поэтому у пациента могут

присутствовать признаки или лейкоза, или лимфомы. Лимфомы может возникать и в лимфоузлах и вне их. Патоморфологически опухоли имеют широкий цитологический спектр, одни состоят из небольших одинаковых клеток, другие — из крупных плейоморфных анапластических клеток.

Диагностика этих нозологических единиц должна базироваться на совокупности клинических и лабораторных признаков. Оценка этих опухолей включает в себя морфологию клеток крови, гистологию, иммунофенотипирование и, если необходимо, молекулярно-генетический анализ. Иммуногистохимия — это ключевое исследование, с его помощью выявляют ряд антигенов, связанных с Т- и НК-клетками. Однако биология этих состояний изучена недостаточно и мало какие иммунофенотипические или генетические маркеры имеют решающее диагностическое значение. Бывает трудно отличить их от В-клеточных новообразований, т.к. Т-клеточным лимфомам бывает свойственна патологическая экспрессия В-клеточных антигенов, а некоторые из них сопровождаются вторичной пролиферацией В-клеток. Целый ряд этих лимфом имеет территориальные особенности распространения; некоторые ассоциированы с заражением вирусом Эпштейна-Барр (EBV) или Т-лимфотропным вирусом человека I (HTLV-I).

В целом, гистология — плохой предиктор клинического течения этих опухолей и лишь небольшое число клинических исследований в литературе основано на хорошо описанных гистопатологических признаках.

Ниже описаны лабораторные тесты, используемые для исследования и диагностики различных опухолей этой группы, происходящих из Т- и НК-клеток.

Гистология

Гистологическая оценка необходима для диагностики большинства лимфом этой группы, но редко позволяет поставить диагноз сама по себе. Какими бы ни были морфологические признаки, для подтверждения Т-клеточного или НК-клеточного фенотипов требуется иммунофенотипирование; для подтверждения клональной Т-клеточной пролиферации рекомендуются молекулярные исследования. Это особенно справедливо для тех случаев, когда опухоль состоит преимущественно из мелких клеток.

Иммунофенотипирование

Опухолевые Т-клетки могут экспрессировать любую комбинацию Т-клеточных антигенов и цитотоксических маркеров, а НК-клетки — некоторые из менее специфичных антигенов Т-клеток. Т-клеточные лимфомы могут также демонстрировать аномальную экспрессию антигенов В-клеток. Для диагностики всех опухолей данной группы обязательно иммунофенотипирование, также можно провести проточную цитометрию с иммуногистохимическим исследованием. Из-за сложной природы этих новообразований рекомендуется применять широкую панель антител. В таблице 7 приведен список антител для диагностики Т-клеточных и НК-клеточных новообразований.

Цитогенетический анализ

Цитогенетические исследования не играют большой роли для данной группы опухолей. Диагностическое или прогностическое значение цитогенетическая информация может иметь при анапластической крупноклеточной лимфоме. Также она может сыграть свою роль в подтверждении диагноза вялотекущей Т-клеточной пролимфоцитарной лейкемии или Т-клеточной лимфоме печени и селезенки, а также для установления клональности в опухолях НК-клеточного происхождения. В других случаях Т-клеточных и НК-клеточных опухолей цитогенетические исследования редко имеют диагностическое значение.

Молекулярные тесты

Исследования клональности важны для подтверждения опухолевой природы и Т-клеточного происхождения пролиферации. Такие исследования не нужны в случаях ярко выраженных агрессивных заболеваний, но при неактивных формах опухолей низкой градации рекомендуется изучать клональность. Исследование клональности должно включать оценку обеих линий и Т-, и В-клеток. При Т-клеточной лимфоме возможна экспрессия некоторых признаков В-клеток, а вторичные В-клеточные лимфомы могут возникать на фоне опухолей из Т-клеток.

Вирусологические исследования

Вирусологические исследования важны при многих состояниях, входящих в данную группу. В частности, во многих случаях обязательна гибридизация *in situ* на малые РНК (EBER). Важны также серологическое, иммуногистохимическое или молекулярное тестирование на HTLV-I.

Рекомендации

- Основная панель антител (см. табл. 4) должна применяться для всех лимфатических узлов, даже при подозрении на их реактивное состояние (класс С, степень доказанности IV).
- В таблице 5 предлагается основная панель для диагностики В-клеточной лимфомы (класс С, степень доказанности IV).
- В таблице 6 приведена рекомендованная основная панель для диагностики лимфомы Ходжкина (класс С, степень доказанности IV).
- В таблице 7 приведена рекомендованная основная панель для диагностики НК- и Т-клеточной лимфомы (класс С, степень доказанности IV).
- Можно применять FISH/ПЦР/цитогенетические тесты, однако отрицательные результаты не исключают диагноза лимфомы (класс С, степень доказанности IV).
- Проточная цитометрия не поможет в диагностике лимфомы Ходжкина (класс С, степень доказанности IV).
- Нельзя ставить диагноз при лимфоме Ходжкина только по тонкоигольному биоптату (класс С, степень доказанности IV).
- В случаях, когда требуется подтвердить клональность методом ПЦР, нужно параллельно оценивать и В-клеточную, и Т-клеточную клональность независимо от предполагаемого происхождения (класс В, степень доказанности III).

Список литературы

(1997) A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Blood,* **89,** 3909-3918.

(2009) *The retention and storage of pathological records and specimens (4th edition).* Royal College of Pathologists, Institute of Biomedical Science, London.

Anagnostopoulos, I., Hansmann, M.L., Franssila, K., Harris, M., Harris, N.L., Jaffe, E.S., Han, J., van Krieken, J.M., Poppema, S., Marafioti, T., Franklin, J., Sextro, M., Diehl, V. & Stein, H. (2000) European Task Force on Lymphoma project on lymphocyte predominance Hodgkin disease: histologic and immunohistologic analysis of submitted cases reveals 2 types of Hodgkin disease with a nodular growth pattern and abundant lymphocytes. *Blood,* **96,** 1889-1899.

Arber, D.A. & George, T.I. (2005) Bone marrow biopsy involvement by non-Hodgkin's lymphoma: frequency of lymphoma types, patterns, blood involvement, and discordance with other sites in 450 specimens. *Am J Surg Pathol,* **29,** 1549-1557.

Asakawa, H., Tsuji, M., Tokumine, Y., Kashihara, T., Okuno, M., Takenak, R. & Kawakami, F. (2001) Gastric T-cell lymphoma presenting with epithelioid granulomas mimicking tuberculosis in regional lymph nodes. *J Gastroenterol,* **36,** 190-194.

Ashton-Key, M., Diss, T.C., Isaacson, P.G. & Smith, M.E. (1995) A comparative study of the value of immunohistochemistry and the polymerase chain reaction in the diagnosis of follicular lymphoma. *Histopathology,* **27,** 501-508.

Bain, B.J. (2001) Bone marrow trephine biopsy. *J Clin Pathol,* **54,** 737-742.

Bain, B.J., Barnett, D., Linch, D., Matutes, E. & Reilly, J.T. (2002) Revised guideline on immunophenotyping in acute leukaemias and chronic lymphoproliferative disorders. *Clinical and Laboratory Haematology,* **24,** 1-13.

Barrans, S.L., Carter, I., Owen, R.G., Davies, F.E., Patmore, R.D., Haynes, A.P., Morgan, G.J. & Jack, A.S. (2002) Germinal center phenotype and bcl-2 expression combined with the International Prognostic Index improves patient risk stratification in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood,* **99,** 1136-1143.

Bartl, R., Frisch, B., Burkhardt, R., Jager, K., Pappenberger, R. & Hoffmann-Fezer, G. (1984) Lymphoproliferations in the bone marrow:

identification and evolution, classification and staging. *J Clin Pathol,* **37,** 233-254.

Bertoni, F. & Zucca, E. (2005) State-of-the-Art Therapeutics: Marginal-Zone Lymphoma. *J Clin Oncol,* **23,** 6415-6420.

Bishop, P.W., McNally, K. & Harris, M. (1992) Audit of bone marrow trephines. *J Clin Pathol,* **45,** 1105-1108.

Blythe, D., Hand, N.M., Jackson, P., Barrans, S.L., Bradbury, R.D. & Jack, A.S. (1997) Use of methyl methacrylate resin for embedding bone marrow trephine biopsy specimens. *J Clin Pathol,* **50,** 45-49.

Braylan, R.C., Long, J.C., Jaffe, E.S., Greco, F.A., Orr, S.L. & Berard, C.W. (1977) Malignant lymphoma obscured by concomitant extensive epithelioid granulomas: report of three cases with similar clinicopathologic features. *Cancer,* **39,** 1146-1155.

Buhr, T., Langer, F., Schlue, J., von Wasielewski, R., Lehmann, U., Braumann, D. & Kreipe, H. (2002) Reliability of lymphoma classification in bone marrow trephines. *Br J Haematol,* **118,** 470-476.

Burkhardt, R., Frisch, B. & Bartl, R. (1982) Bone biopsy in haematological disorders. *J Clin Pathol,* **35,** 257-284.

Camacho, F., Algara, P., Mollejo, M., Garcia, J., Montalban, C., Martinez, N., Sanchez-Beato, M. & Piris, M. (2003) Nodal marginal zone lymphoma: a heterogeneous tumor: a comprehensive analysis of a series of 27 cases. *Am J Surg Pathol.,* **27,** 762-771.

Campbell, J.K., Matthews, J.P., Seymour, J.F., Wolf, M.M. & Juneja, S.K. (2003) Optimum trephine length in the assessment of bone marrow involvement in patients with diffuse large cell lymphoma. *Ann Oncol,* **14,** 273-276.

Colvin, B. (2005) *Guidance on processing and analysis of clinical samples following an initial consultation.* Royal College of Pathologists, London.

Conlan, M.G., Bast, M., Armitage, J.O. & Weisenburger, D.D. (1990) Bone marrow involvement by non-Hodgkin's lymphoma: the clinical significance of morphologic discordance between the lymph node and bone marrow. Nebraska Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol,* **8,** 1163-1172.

Cox, J., Lunt, L. & Webb, L. (2005) Synchronous presentation of breast carcinoma and lymphoma in the axillary nodes. *Breast*.

Deverell, M.H., Best, E. & Salisbury, J.R. (1997) Lymphoid infiltrates in B cell non Hodgkin's lymphoma: comparing nuclear characteristics between lymph node and bone marrow; and evaluating diagnostic features of bone marrow infiltrates in paraffin embedded tissues. *Anal Cell Pathol,* **14,** 1-7.

Diss, T.C., Ashton-Key, M., Pan, L.X. & Isaacson, P.G. (1995) Clonality analysis of B-cell lymphomas. *Hum Pathol,* **26,** 1046.

Diss, T.C., Liu, H.X., Du, M.Q. & Isaacson, P.G. (2002) Improvements to B cell clonality analysis using PCR amplification of immunoglobulin light chain genes. *Mol Pathol,* **55,** 98-101.

Dogan, A., Bagdi, E., Munson, P. & Isaacson, P.G. (2000) CD10 and BCL-6 expression in paraffin sections of normal lymphoid tissue and B-cell lymphomas. *Am J Surg Pathol,* **24,** 846-852.

Dunphy, C.H. (2004) Applications of flow cytometry and immunohistochemistry to diagnostic hematopathology. *Arch Pathol Lab Med,* **128,** 1004-1022.

Einerson, R.R., Kurtin, P.J., Dayharsh, G.A., Kimlinger, T.K. & Remstein, E.D. (2005) FISH is superior to PCR in detecting t(14;18)(q32;q21)-IgH/bcl-2 in follicular lymphoma using paraffin-embedded tissue samples. *Am J Clin Pathol,* **124,** 421-429.

Excellence, N.I.o.C. (2003) *Improving outcomes in haematological cancer -the manual.* Department of Health London.

Fend, F., Gschwendtner, A., Gredler, E., Thaler, J. & Dietze, O. (1994) Detection of monoclonal B-cell populations in decalcified, plastic-embedded bone marrow biopsies with the polymerase chain reaction. *Am J Pathology,* **102,** 850-855.

Fukuda, T., Sato, K., Tachikawa, S., Ohnuki, K., Ohtani, H. & Suzuki, T. (1997) Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma coexisting with epithelioid granulomas in the stomach of a patient with systemic sarcoidosis. . *Pathol Int,* **47,** 870-875.

Gascoyne, R.D., Adomat, S.A., Krajewski, S., Krajewska, M., Horsman, D.E., Tolcher, A.W.,

O'Reilly, S.E., Hoskins, P., Coldman, A.J., Reed, J.C. & Connors, J.M. (1997) Prognostic significance of Bcl-2 protein expression and Bcl-2 gene rearrangement in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood,* **90,** 244-251.

Gatter, K.C., Heryet, A., Brown, D.C. & Mason, D.Y. (1987) Is it necessary to embed bone marrow biopsies in plastic for haematological diagnosis? *Histopathology,* **11,** 1-7.

Gebhard, S., Benhattar, J., Bricod, C., Meuge-Moraw, C. & Delacretaz, F. (2001) Polymerase chain reaction in the diagnosis of T-cell lymphoma in paraffin-embedded bone marrow biopsies: a comparative study. *Histopathology,* **38,** 37-44.

Hans, C.P., Weisenburger, D.D., Greiner, T.C., Gascoyne, R.D., Delabie, J., Ott, G., Muller-Hermelink, H.K., Campo, E., Braziel, R.M., Jaffe, E.S., Pan, Z., Farinha, P., Smith, L.M., Falini, B., Banham, A.H., Rosenwald, A., Staudt, L.M., Connors, J.M., Armitage, J.O. & Chan, W.C. (2004) Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood,* **103,** 275-282.

Haralambieva, E., Rosati, S., van Noesel, C., Boers, E., van Marwijk Kooy, M., Schuuring, E. & Kluin, P. (2004) Florid granulomatous reaction in Epstein-Barr virus-positive nonendemic Burkitt lymphomas: report of four cases. *Am J Surg Pathol,* **28,** 379-383.

Hercher, C., Robain, M., Davi, F., Garand, R., Flandrin, G., Valensi, F., Vandeputte, H., Albert, A., Maynadie, M., Troussard, X., Simon, G.H., Lespinasse, J., Portefaix, G. & Merle-Beral, H. (2001) A multicentric study of 41 cases of B-prolymphocytic leukemia: two evolutive forms. *Leuk Lymphoma,* **42,** 981-987.

Hill, M.E., MacLennan, K.A., Cunningham, D.C., Vaughan Hudson, B., Burke, M., Clarke, P., Di Stefano, F., Anderson, L., Vaughan Hudson, G., Mason, D., Selby, P. & Linch, D.C. (1996) Prognostic significance of BCL-2 expression and bcl-2 major breakpoint region rearrangement in diffuse large cell non-Hodgkin's lymphoma: a British National Lymphoma Investigation Study. *Blood,* **88,** 1046-1051.

Jaffe, E.S., Harris N L, Stein H, Vardiman J W (Eds.) (ed.) (2001) *World Health Organisation Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Haemopoietic and Lymphoid Tissues.* IARC Press, Lyon.

Jarrett, R.F., Krajewski, A.S., Angus, B., Freeland, J., Taylor, P.R., Taylor, G.M. & Alexander, F.E. (2003) The Scotland and Newcastle epidemiological study of Hodgkin's disease: impact of histopathological review and EBV status on incidence estimates. *J Clin Pathol,* **56,** 811-816.

Jorgensen, J.L. (2005) State of the Art Symposium: flow cytometry in the diagnosis of lymphoproliferative disorders by fine-needle aspiration. *Cancer,* **105,** 443-451.

Juneja, S.K., Wolf, M.M. & Cooper, I.A. (1990) Value of bilateral bone marrow biopsy specimens in non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Pathol,* **43,** 630-632.

Kampalath, B., Abed, N., Chitambar, C.R., Vantuinen, P., Chakrabarty, G., Hanson, G., Rao, R.N., Shidham, V.B. & Chang, C.C. (2004) Mantle cell lymphoma in lymph nodes with metastatic small cell carcinoma of lung: a diagnostic and treatment dilemma. *Leuk Lymphoma,* **45,** 409-414.

Krenacs, T., Bagdi, E., Stelkovics, E., Bereczki, L. & Krenacs, L. (2005) How we process trephine biopsy specimens: epoxy resin embedded bone marrow biopsies. *J Clin Pathol,* **58,** 897-903.

Lampert, F. & Lennert, K. (1976) Sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy: fifteen new cases. *Cancer,* **37,** 783-789.

Le Maitre, C.L., Byers, R.J., Liu Yin, J.A., Hoyland, J.A. & Freemont, A.J. (2001) Dual colour FISH in paraffin wax embedded bone trephines for identification of numerical and structural chromosomal abnormalities in acute myeloid leukaemia and myelodysplasia. *J Clin Pathol,* **54,** 730-733.

Leach, I.H. & Maclennan, K.A. (1990) Gastric lymphoma associated with mucosal and nodal granulomas: a new differential diagnosis in granulomatous gastritis. *Histopathology,* **17,** 87-89.

Lester, J.F., Dojcinov, S.D., Attanoos, R.L., O'Brien, C.J., Maughan, T.S., Toy, E.T. & Poynton, C.H. (2003) The clinical impact of expert pathological review on lymphoma management: a regional experience. *Br J Haematol,* **123,** 463-468.

Lin, M.H. & Kuo, T.T. (2001) Specificity of the histopathological triad for the diagnosis of toxoplasmic lymphadenitis: polymerase chain reaction study. *Pathol Int,* **51,** 619-623.

Luoni, M., Declich, P., De Paoli, A.p., Fava, S., Marinoni, P., Montalbetti, L., Sangalli, G., Sciuccati, P., Tocci, A., Tosi, A. & et al. (1995) Bone marrow biopsy for the staging of non-Hodgkin's lymphoma: bilateral or unilateral trephine biopsy? *Tumori,* **81,** 410-413.

Maes, B., Achten, R., Demunter, A., Peeters, B., Verhoef, G. & De Wolf-Peeters, C. (2000) Evaluation of B cell lymphoid infiltrates in bone marrow biopsies by morphology, immunohistochemistry, and molecular analysis. *J Clin Pathol,* **53,** 835-840.

Maric, I., Pittaluga, S., Dale, J.K., Niemela, J.E., Delsol, G., Diment, J., Rosai, J., Raffeld, M., Puck, J.M., Straus, S.E. & Jaffe, E.S. (2005) Histologic features of sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy in patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Am J Surg Pathol,* **29,** 903-911.

Moore, S.W., Schneider, J.W. & Schaaf, H.S. (2003) Diagnostic aspects of cervical lymphadenopathy in children in the developing world: a study of 1,877 surgical specimens. *Pediatr Surg Int,* **19,** 240-244.

Munker, R., Hasenclever, D., Brosteanu, O., Hiller, E. & Diehl, V. (1995) Bone marrow involvement in Hodgkin's disease: an analysis of 135 consecutive cases. German Hodgkin's Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol,* **13,** 403-409.

Ott, G., Katzenberger, T., Lohr, A., Kindelberger, S., Rudiger, T., Wilhelm, M., Kalla, J., Rosenwald, A., Muller, J.G., Ott, M.M. & Muller-Hermelink, H.K. (2002) Cytomorphologic, immunohistochemical, and cytogenetic profiles of follicular lymphoma: 2 types of follicular lymphoma grade 3. *Blood,* **99,** 3806-3812.

Pan, L.X., Diss, T.C. & Isaacson, P.G. (1995) The polymerase chain reaction in histopathology. *Histopathology,* **26,** 201-217.

Pasquale, D. & Chikkappa, G. (1986) Comparative evaluation of bone marrow aspirate particle smears, biopsy imprints, and biopsy sections. *Am J Hematol.,* **22,** 381-389.

Pittaluga, S., Tierens, A., Dodoo, Y., Delabie, J. & De Wolf-Peeters, C. (1999) How reliable is histologic examination of bone marrow trephine biopsy specimens for the staging of non-Hodgkin lymphoma? A study of hairy cell leukemia and mantle cell lymphoma involvement of the bone marrow trephine specimen by histologic, immunohistochemical, and polymerase chain reaction techniques. *Am J Clin Pathology,* **111,** 179-184.

Ravoet, C., Demartin, S., Gerard, R., Dehon, M., Peny, M.O., Petit, B., Delannoy, A. & Husson, B. (2004) Contribution of flow cytometry to the diagnosis of malignant and non malignant conditions in lymph node biopsies. *Leuk Lymphoma,* **45,** 1587-1593.

Rudiger, T., Hofler, H., Kreipe, H.H., Nizze, H., Pfeifer, U., Stein, H., Dallenbach, F.E., Fischer, H.P., Mengel, M., von Wasielewski, R. & Muller-Hermelink, H.K. (2002) Quality assurance in immunohistochemistry: results of an interlaboratory trial involving 172 pathologists. *Am J Surg Pathol,* **26,** 873-882.

Sheahan, P., Hafidh, M., Toner, M. & Timon, C. (2005) Unexpected findings in neck dissection for squamous cell carcinoma: incidence and implications. . *Head Neck,* **27,** 28-35.

Swerdlow SH, Campo C, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (eds) 2008 WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues, IARC, Lyon. 185-187.

Symmers, W.S., Sr. (1968) Survey of the eventual diagnosis in 600 cases referred for a second histological opinion after an initial biopsy diagnosis of Hodgkin's disease. *J Clin Pathol,* **21,** 650-653.

Thaler, J., Dietze, O., Denz, H., Demuth, R., Nachbaur, D., Stauder, R. & Huber, H. (1991) Bone marrow diagnosis in lymphoproliferative disorders: comparison of results obtained from conventional histomorphology and immunohistology. *Histopathology,* **18,** 495-504.

Tsakraklides, V., Tsakraklides, E. & Good, R.A. (1975) An autopsy study of human axillary lymph node histology. *Am J Pathol,* **78,** 7-22.

Tuzuner, N., Dogusoy, G., Demirkesen, C., Ozkan, F. & Altas, K. (1996) Value of lymph node biopsy in the diagnosis of acquired toxoplasmosis. *J Laryngol Otol,* **110,** 348-352.

Vincic, L., Weston, S. & Riddell, R.H. (1989) Bone core biopsies. Plastic or paraffin? *Am J Surg Pathol,* **13,** 329-334.

Weisenburger, D.D., Gascoyne, R.D., Bierman, P.J., Shenkier, T., Horsman, D.E., Lynch, J.C., Chan, W.C., Greiner, T.C., Connors, J.M., Vose, J.M., Armitage, J.O. & Sanger, W.G. (2000) Clinical significance of the t(14;18) and BCL2 overexpression in follicular large cell lymphoma. *Leuk Lymphoma,* **36,** 513-523.

Wickham, C.L., Boyce, M., Joyner, M.V., Sarsfield, P., Wilkins, B.S., Jones, D.B. & Ellard, S. (2000) Amplification of PCR products in excess of 600 base pairs using DNA extracted from decalcified, paraffin wax embedded bone marrow trephine biopsies. *Mol Pathol,* **53,** 19-23.

Zu, Y., Steinberg, S.M., Campo, E., Hans, C.P., Weisenburger, D.D., Braziel, R.M., Delabie, J., Gascoyne, R.D., Muller-Hermlink, K., Pittaluga, S., Raffeld, M., Chan, W.C. & Jaffe, E.S. (2005) Validation of tissue microarray immunohistochemistry staining and interpretation in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma,* **46,** 693-701.

Таблица 1. Степени доказанности

Ia	Доказательства получены при мета-анализе рандомизированных контролируемых исследований.
Ib	Доказательства получены хотя бы из одного рандомизированного контролируемого исследования.
IIa	Доказательства получены хотя бы из одного хорошо спланированного нерандомизированного исследования, включая II фазу клинических исследований и исследования «случай-контроль».
IIb	Доказательства получены хотя бы из одного хорошо спланированного квазиэкспериментального исследования другого типа, т.е. исследования без запланированного вмешательства, включая наблюдательные исследования.
III	Доказательства получены из хорошо спланированных неэкспериментальных описательных исследований. Доказательства получены при мета-анализе рандомизированных контролируемых исследований или исследований II фазы, опубликованных только в виде резюме.
IV	Доказательства из отчетов экспертных комитетов и/или клинического опыта авторитетных специалистов.

Таблица 2. Классы рекомендаций

Класс A, степень доказанности Ia, Ib	Рекомендация основана на результатах как минимум одного рандомизированного контролируемого исследования надлежащего качества и согласованного, которое посвящено конкретной рекомендации.
Класс B, степень доказанности IIa, IIb	Рекомендация основана на хорошо проведенных, но нерандомизированных контролируемых исследованиях по теме рекомендации.
класс C, степень доказанности IV	Рекомендация основана на заключениях экспертных комитетов и/или клиническом опыте авторитетных специалистов.

Таблица 3. Антитела, обычно используемые при исследованиях лимофом

Антитело	Основные точки приложения	Проточная цитометрия	Иммуногисто-химия (ИГХ)	Тип ИГХ-окрашивания	Панель
CD1a	Клетки Лангерганса и кортикальные тимусные Т-клетки (положительно в некоторых случаях Т-клеточного лимфобластного лейкоза из клеток-предшественников)	Н/П	Да	Мембрана	T2, HIS
CD2	Маркер любых Т-клеток, кортикальных и зрелых тимоцитов и НК-клеток. Экспрессия в опухолях Т-клеточного происхождения, некоторых острых миелобластных лейкозах и некоторых опухолях В-клеточного происхождения.	Да	Да	Мембрана	B1, T1, H1
CD3	Общий Т-клеточный маркер, маркер зрелых тимоцитов и зрелых Т-клеток. Экспрессия на многих опухолях из зрелых Т-клеток. Экспрессия на поверхности мембран встречается в некоторых случаях лейкемии/лимфомы из предшественников Т-клеток, в большинстве случаев экспрессия в цитоплазме. Большинство антител, которые используют с залитыми парафином тканями, опознают эпсилон-цепочки CD3-молекулы и демонстрируют положительный результат в цитоплазме НК-клеток.	Да	Да	Мембрана Цитоплазма	B1, T1, H1
CD4	Субпопуляция Т-хелперов; слабая экспрессия на моноцитах и макрофагах. Экспрессия в некоторых случаях лейкемии/лимфомы из предшественников Т-клеток и при некоторых опухолях из зрелых Т-клеток. Положительно в некоторых случаях острого миелобластного лейкоза, особенно при моноцитарной дифференцировке.	Да	Да	Мембрана	T1
CD5	Общий Т-клеточный маркер, экспрессируется В-клетками при В-клеточном хроническом лимфолейкозе, при лимфоме из клеток мантийной зоны, лимфоме селезенки из маргинальной зоны и более чем в 20% случаев диффузной В-крупноклеточной лимфомы.	Да	Да	Мембрана	B1, T1
CD7	Маркер любых Т-клеток, а также экспрессируется миелоидными и НК-клетками. В меньшинстве случаев ОМЛ обнаруживается на бластных клетках.	Да	Да	Мембрана	T1
CD8	Субпопуляция цитотоксических Т-клеток. Экспрессия в некоторых случаях лейкемии/лимфомы из	Да	Да	Мембрана	T1

	предшественников Т-клеток, Т-клеточной лейкемии из крупногранулярных лимфоцитов, некоторых случаях Т-клеточного пролимфоцитарного лейкоза и некоторых случаях лимфом из зрелых Т-клеток.				
CD10	Общий антиген для ОЛЛ. Экспрессируется в герминальном центре В-клеток и некоторых нормальных предшественниках В-клеток Окрашивает клетки во многих случаях лимфомы/лейкемии из предшественников В-лимфобластов, фолликулярной лимфомы, лимфомы Беркитта и примерно в 40% случаев диффузной В-крупноклеточной лимфомы. Экспрессия Т-клетками при лимфоме/лейкемии из предшественников Т-лимфобластов, часто слабее, чем при опухолях В-происхождения. Окрашивает опухолевые Т-клетки в 50-60% ангиоиммунобластной Т-клеточной лимфомы и некоторых случаях периферической Т-клеточной лимфомы (неуточненных). Окрашивает клетки стромы костного мозга и демонстрирует ложную связь с ишемическими и инфарктными лимфоцитами.	Да	Да	Мембрана	B1, T2
CD11b	НК-клетки, гранулоциты и моноциты; экспрессия в некоторых случаях ОМЛ М5 (моноцитарного/монобластного).	Да	Н/П	Н/П	T2
CD11b	Моноциты, НК-клетки и нейтрофилы (также экспрессируется при волосковоклеточном лейкозе, некоторых случаях вариантного волосковоклеточного лейкоза, лимфоме из клеток маргинальной зоны селезенки, некоторых случаях хронического лимфолейкоза и других неходжкинских В-лимфом).	Да	Да	Цитоплазма	B2
CD13	Маркер миелоидных клеток. Экспрессия в некоторых случаях АККЛ.	Да	Да	Мембрана	T2
CD15	Окрашивает зрелые миелоидные клетки, при использовании чувствительных методов может окрашивать макрофаги, также IgM моноклональные LeuM1 Экспрессия клетками Рид-Штернберга, частью Т-крупноклеточных лимфом, в редких случаях при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. Также обнаруживается в некоторых случаях ОМЛ и	Да	Да	Мембрана Цитоплазма	T1, H1

	лейкемии/лимфомы из предшественников В-клеток.				
CD16	Маркер НК-клеток и макрофагов; окрашивание при НК-пролиферативных нарушениях, Т-клеточном лейкозе из крупногранулярных лимфоцитов и гепатоспленической Т-клеточной лимфоме.	Да	Да	Мембрана и цитоплазма	Т2
CD19	Антиген В-клеток	Да	Да	Мембрана	В1
CD20	Антиген В-клеток, экспрессируется при опухолях из зрелых В-клеток (включая узловую лимфому Ходжкина с преобладанием лимфоцитов) и некоторые опухоли из предшественников В-клеток. Обнаруживается на клетках в некоторых случаях плазмоцитарной миеломы.	Да	Да	Цитоплазма Мембрана	В1, Т1, Н1
CD21	Маркер фолликулярных дендритных клеток. Маркер лимфоцитов мантии, демонстрирует экспрессию низкой плотности при широком спектре В-клеточных лимфом.	Н/П	Да	Мембрана	В1, Т1, Н2, HIS
CD22	Маркер В-клеток. Экспрессия при опухолях из зрелых В-клеток, исключая хронический лимфолейкоз. Экспрессия в цитоплазме в большинстве случаев лейкемии/лимфомы из предшественников В-клеток.	Да	Н/П	Н/П	В1
CD23	Маркер фолликулярных дендритных клеток, лимфоцитов мантии и активированных В-клеток. Экспрессия при хроническом лимфоцитарном лейкозе, при части фолликулярных лимфом и некоторых диффузных крупноклеточных лимфомах, особенно диффузной В-крупноклеточной лимфоме средостения.	Да	Да	Мембрана	В1, Т2
CD25	Выявляет активирующий антиген (альфа-цепь рецептора ИЛ-2) на Т- и В-клетках. Обнаруживают при волосковоклеточном лейкозе, анапластической крупноклеточной лимфоме, Т-клеточной лейкемии взрослых, реже — при других Т- и В-клеточных опухолях.	Да	Да	Мембрана	В2, Т2
CD30	Маркер активированных Т- и В-лимфоидных клеток, также окрашивает клетки эмбриональной карциномы и злокачественной меланомы. Экспрессия в клетках Рид-Штернберга и клетках Ходжкина при классической лимфоме Ходжкина, анапластической крупноклеточной лимфоме,	Н/П	Да	Цитоплазма Мембрана	В2, Т1, Н1

	иногда при диффузных В-крупноклеточных лимфомах (в частности, при медиастинальной В-клеточной лимфоме), плазмобластной лимфоме и некоторых случаях лимфомы с первичным выпотом.				
CD33	Маркер миелоидных клеток.	Да	Да	Мембрана	Т2
CD34	Гемопоэтические стволовые клетки. Также окрашивает эндотелиальные клетки (может указывать на интраваскулярную лимфому).	Да	Да	Цитоплазма Мембрана	
CD35	Маркер фолликулярных дендритных клеток. Может экспрессироваться при ОМЛ, особенно при моноцитарной дифференцировке.	Н/П	Да	Цитоплазма	В2
CD38	Плазмоциты и опухоли из них, включая «плазмобластные» лимфомы и лимфоплазмоцитарную лимфому. Окрашивание клеток центральных отделов фолликула, клеток фолликулярной лимфомы, лимфомы из клеток мантийной зоны, при части случаев ХЛЛ, лимфоме с первичным выпотом и злокачественной меланоме. При ХЛЛ проявляется в подгруппе с неблагоприятным прогнозом.	Да	Да	Цитоплазма	В2
CD43	Окрашивает нормальные Т-клетки, миелоидные клетки, 40-50% случаев диффузной В-крупноклеточной лимфомы, АККЛ, ХЛЛ, лимфомы из клеток мантийной зоны, а также часть случаев лимфом из маргинальной зоны. Сильная экспрессия при миелоидной саркоме (хлороме).	Да	Да	Мембрана	В2
CD45	Общий лейкоцитарный антиген (LCA)	Да	Да	Мембрана	В2, Т2, Н2
CD45R0	LCA, преимущественно представленный на Т-клетках	Да	Да	Мембрана	Т2
CD56	Маркер НК-клеток, также проявляется на субпопуляции Т-клеток, миелоидных клетках, нейроэндокринных клетках (N-CAM) и в большинстве случаев плазмоцитарной миеломы. Обнаруживают при ОМЛ, главным образом М5. Экспрессия при лейкозе из плазмоцитоидных дендритных клеток, НК-клеточном лейкозе из крупногранулярных лимфоцитов и некоторых Т-клеточных лейкозах из крупногранулярных лимфоцитов.	Да	Да	Мембрана	Т1
CD57	Маркер НК- и Т-клеток, в частности интрафолликулярных	Да	Да	Мембрана	Т2, Н2

	Т-клеток				
CD68	Моноциты и макрофаги; некоторые эпитопы экспрессируются на клетках гранулоцитарного происхождения		Да	Цитоплазма	T2, HIS
CD75	Молекула клеточной адгезии. Общий В-клеточный маркер с сильной экспрессией в клетках фолликулярного центра. Окрашивает L&H-клетки при узловой лимфоме Ходжкина с преобладанием лимфоцитов.	Н/П	Да	Мембрана и цитоплазма	H2
CD79a	Альфа-цепь антигенного рецептора В-клеток. Отличает широкий круг В-клеточных опухолей от ХЛЛ из предшественников В-клеток до плазмоцитарных опухолей. Окрашивается в части случаев лейкемии/лимфомы из предшественников Т-лимфобластов.	Да (цитоплазма-тический эпитоп)	Да	Мембрана Цитоплазма	B1, T1, H2
CD79b	Бета-цепь антигенного рецептора В-клеток. Экспрессируется при большинстве злокачественных образований из зрелых В-клеток, за исключением ХЛЛ; не проявляется при ОЛЛ из предшественников В-клеток.	Да	Н/П	Н/П	B2
CD103	Т-клетки интраэпителиальной и слизистой локализации, моноциты и небольшая подгруппа Т-клеток периферической крови. Помогает определить энтеропатический тип Т-клеточной интестинальной лимфомы и Т-клеточной лейкемии/лимфомы взрослых. Также экспрессируется при волосковоклеточном лейкозе.	Да	Да (замороженные срезы)	Мембрана	T2
CD123	Опознает альфа-цепь рецептора ИЛ-3. Экспрессируется в плазмоцитоидных дендритных клетках, НК-клетках, эозинофилах, базофилах и моноцитах. Обнаруживают при волосковоклеточном лейкозе, в 50% случаев ОМЛ и лимфомы/лейкоза из предшественников В-лимфобластов.	Да	Да	Мембрана	B2
CD138	Окрашивает зрелые плазмоциты и предшественники В-клеток. Экспрессируется при плазмоклеточной миеломе, плазмобластной лимфоме, лимфоме с первичным выпотом и в некоторых случаях лимфоплазмоцитарной лимфомы. Также окрашивает широкий спектр нормальных и опухолевых эпителиальных клеток.	Да	Да	Цитоплазма Мембрана	B2

CD163	Гликопротеин рецепторов гемоглобина типа скевенджер. Экспрессируется на моноцитах и макрофагах. Обнаруживают при миеломоноцитарном лейкозе и гистиоцитарных злокачественных образованиях.	Да	Да	Мембрана	H1
CD207	Клетки Лангерганса	Н/П	Да	Цитоплазма Мембрана	T2, HIS
BCL2	Регулятор апоптоза. Чрезмерная экспрессия в большинстве случаев фолликулярной лимфомы, но не в центрах реактивных фолликулов. Также окрашивает широкий круг нормальных и опухолевых Т- и В-клеток.	Н/П	Да	Мембрана	B1
BCL6	Фактор транскрипции, экспрессируется в ядре клеток герминального центра. Обнаруживается при фолликулярной лимфоме и иногда при диффузной В-крупноклеточной лимфоме.	Н/П	Да	Ядро	B1
BOB1	Кофактор транскрипции лимфоцитов. Маркер L&H-клеток при узловой лимфоме Ходжкина с преобладанием лимфоцитов, обычно не обнаруживается на клетках Рид-Штернберга при классической лимфоме Ходжкина.	Н/П	Да	Ядро	H2
Циклин D1	Лимфома из мантийных клеток и часть случаев волосковоклеточного лейкоза; обнаруживается в опухолевых клетках в некоторых случаях плазмоклеточной миеломы.	Н/П	Да	Ядро	B1
Десмоплакин	Компонент цитоскелета десмосом; присутствует в эпителии и фолликулярных дендритных клетках.	Н/П	Да	Цитоплазма	HIS
EBV-LMP1/ EBER ISH	Латентный мембранный белок (LMP1) вируса Эпштейна-Барр или ЕВ-кодированная вирусная РНК (EBER)	Н/П	Да	Цитоплазма (LMP1) Ядро (EBER)	B2
Эпителиальный мембранный антиген (EMA)	Клетки эпителиального происхождения; также экспрессируется плазмоцитами; в некоторых случаях миеломы, гистиоцитарной лимфомы, частично при Т-клеточных лимфомах (особенно АККЛ); в L&H клетках при узловой лимфоме Ходжкина с преобладанием лимфоцитов, в некоторых случаях лимфом с первичным выпотом и диффузной В-крупноклеточной лимфомы, богатой Т-клетками.	Н/П	Да	Мембрана	B2
Фактор XIIIa	Гистиоциты и дермальные дендроциты	Н/П	Да	Цитоплазма	HIS
Фасцин	Актин-связывающий белок, обнаруживаемый в дендритных клетках (и клетках Рид-Штернберга).	Н/П	Да	Цитоплазма	HIS

FMC7	Подгруппа В-клеток, но не предшественники В-клеток. Экспрессируется при волосковоклеточном лейкозе и в большинстве В-клеточных лимфом, за исключением ХЛЛ.	Да	Н/П	Н/П	B2
Гранзим В	Маркер цитотоксических Т-клеток, обнаруживается в части случаев Т-клеточных лимфом.	Да	Да	Цитоплазма	T2
HLA-DR	Антигенпредставляющие клетки, включая В-клетки; маркер активации на Т-клетках. Экспрессируется при большинстве лейкемий/лимфом из предшественников В-клеток и ОМЛ, за исключением мегакариобластного и эритроидного лейкоза.	Да	Да	Мембрана Цитоплазма	HIS
IRF4 (MUM1)	Определяет белки MUM1/IRF4, маркер пролиферации/ дифференциации В-клеток. Широкая экспрессия при гематолимфоидных опухолях (и злокачественной меланоме). Экспрессия MUM1/IRF4 имеет прогностическое значение при диффузной В-крупноклеточной лимфоме и позволяет дифференцировать классическую лимфому Ходжкина (наличие) от узловой лимфомы Ходжкина с преобладанием лимфоцитов (отсутствие).	Н/П	Да	Ядро	B1
ISH для цитоплазматических каппа- и лямбда-легких цепей	Обнаружение рестрикции легких цепей	Н/П	Да	Цитоплазма	B2
J-цепь	Обнаруживается в крупных клетках при узловой лимфоме Ходжкина с преобладанием лимфоцитов (отсутствует на клетках Рид-Штернберга при классической лимфоме Ходжкина).	Н/П	Да	Мембрана	H2
Ki67/MIB1	Маркер пролиферации	Да	Да	Ядро	B1
KIR (CD158a, CD158b и CD158e)	Иммуноглобулиноподобные рецепторы клеток-киллеров (KIR). Выявляет клональность при Т- и НК-клеточном лейкозе из крупногранулярных лимфоцитов.	Да	Н/П	Н/П	T2
Лизоцим	Моноциты и макрофаги; клетки гранулоцитарного происхождения. Экспрессируется во многих случаях ОМЛ.	Да	Да	Цитоплазма	HIS
Миелопероксидаза	Маркер миелоидных клеток (зрелых миелоидных клеток); клетки моноцитарной линии окрашивает слабее, чем гранулоцитарной. Экспрессируется в большинстве случаев ОМЛ.	Да	Да	Цитоплазма	HIS
OCT2	Регулятор транскрипции генов	Н/П	Да	Ядро	H2

	иммуноглобулинов в В-клетках, сильная экспрессия при узловой лимфоме Ходжкина с преобладанием лимфоцитов и угнетение при классической лимфоме Ходжкина.				
p21(WAF1)	Ингибитор циклинзависимой киназы; прогностический показатель при множественной миеломе. Окрашивание ядра означает худший прогноз, чем окрашивание цитоплазмы.	Н/П	Да	Ядро Цитоплазма	B2
p27 ^{Kip1}	Ядерный регуляторный белок клеточного цикла, присутствует в нормальных В-клетках. Экспрессия регулируется по пути циклина D1; реципрокная экспрессия с циклином D1. Может выявляться при атипичных случаях ХЛЛ, когда отсутствует CD23. Помогает выявить редкие циклин D1-отрицательные типы лимфом из клеток мантийной зоны, при которых p27 угнетен.	Н/П	Да	Ядро	B2
p53	Белок p53 является частью пути супрессии опухоли; патологическая экспрессия белка p53 имеет прогностическое значение при В-клеточном ХЛЛ и других лимфоидных опухолях.	Да	Да	Ядро	B2
p63 (VS38c)	Белок p63 связан с гранулярным эндоплазматическим ретикуломом. Помечает плазмоциты и В-клетки с плазмоцитарной дифференциацией. Также окрашивает клетки меланомы и некоторые эпителиальные клетки.	Н/П	Да	Цитоплазма	B2
CD246 (p80; ALK1)	Анапластическая крупноклеточная лимфома; ALK-положительная; также ALK-антитела направлены против цитоплазматических доменов ALK-молекул).	Н/П	Да	Ядро и/или цитоплазма (в зависимости от типа ALK-транслокации)	B2,
PAX5	Фактор транскрипции, регулирующий экспрессию генов и дифференциацию В-лимфоцитов (выявляется на клетках Рид-Штернберга).	Н/П	Да	Ядро	B2,
Перфорин	Маркер цитотоксических Т-клеток, обнаруживается в части случаев Т-клеточных лимфом.	Да	Да	Цитоплазма	T2
S100	Взаимопроникающие ретикулярные клетки и клетки Лангерганса, большинство гистиоцитарных сарком, 30% клеток Рид-Штернберга, также гамма/дельта Т-клетки (еще клетки меланомы и шванновские клетки).	Н/П	Да	Цитоплазма	HIS
Тяжелые цепи D, M, G SmIg	Тяжелые цепи поверхностных мембранных иммуноглобулинов (SmIg).	Да	Да	Мембрана	B2
Легкие цепи K, L SmIg	Легкие цепи поверхностных мембранных	Да	Да	Мембрана	B2

	иммуноглобулинов (SmIg).				
TCRβ	Общий маркер Т-клеток.	Да	Да	Мембрана	T2
TdT	Терминальная дезоксинуклео-тидилтрансфераза. Экспрессируется предшественниками Т- и В-клеток. Выявляется при большинстве лимфобластных лейкозов/лимфом из предшественников и в некоторых случаях ОМЛ.	Да	Да	Ядро	B2
TIA-1	Маркер цитотоксических Т-клеток, обнаруживается в части случаев Т-клеточных лимфом, включая Т-клеточную лимфому печени и селезенки и Т-клеточный лейкоз с крупногранулярными лимфоцитами.	Да	Да	Цитоплазма	T2
ZAP70	Один из представителей семейства тирозинкиназ Syk/ZAP. Экспрессируется Т- и НК-клетками, но не нормальными зрелыми В-клетками. Экспрессия ZAP-70 обычно проявляется в случаях ХЛЛ с немутировавшими генами вариабельной области иммуноглобулинов (слабее, чем это наблюдается в Т-клетках), что имеет прогностическое значение. Также обнаруживается в некоторых случаях В-клеточного пролимфоцитарного лейкоза.	Да	Да	Цитоплазма	B2

Таблица 4. ВЫБОР ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО МЕТОДА ДИАГНОСТИКИ ЛИМФОМ

A	B	C	D	E
A1. Реактивное состояние в сравнении с лимфомой	**B1. Простое определение диффузной В-крупноклеточной узловой лимфомы Ходжкина**	**C1. Лимфома в сравнении с метастатической карциномой или меланомой**	**D1. Простое определение болезни Ходжкина**	**E1. Периферические Т-клеточные лимфомы**
	Основная панель плюс		**Основная панель плюс**	**Основная панель плюс**
(Основная панель)	***(панель «Крупные В-клетки»))***	***(панель «Недифференцированные злокачественные новообразования»)***	***(Ходжкинская панель)***	***(панель Т-клеток)***
CD20	BCL6	CD45	CD2/CD3	CD2
CD79a	CD10	Цитокератины	CD20	CD4
CD2/CD3	(CD138)	S100	CD30	CD5
(CD45RO)	p21	MelanA	CD15	CD7
Ki67	p53	(+/- основная панель)	EBV-LMP1/ EBER (ISH)	CD8
BCL2	IRF4/MUM1		MUM1	(CD3эпсилон)
(добавить EBV-EBER ISH при подозрении на острую инфекцию EBV)			(добавить CD57, CD75, BOB1 и OCT2 при подозрении на УЛХПЛ)	(добавить TdT и CD43 при подозрении на Т-лимфобластную лимфому) (добавить CD10, CD21, CD23 и EBV-EBER ISH при подозрении на ангиоиммунобластную Т-лимфому) (добавить CD56, CD57, перфорин, гранзим И и TIA-1 при подозрении на НК-клеточную лимфому/лейкоз)

A2. Фолликулярная лимфома в сравнении с другими В-мелкоклеточными лимфомами	**B2. Диффузная В-крупноклеточная лимфома в сравнении с лимфомой Беркитта/бластоидной лимфомой из клеток мантийной зоны/В-лимфобластной лимфомой**	**C2. Лимфома в сравнении с миелолейкозом**	**D2. Лимфома Ходжкина или АККЛ**
Основная панель плюс	**Основная панель и панель мелких В-клеток плюс**	**Основная панель плюс**	**Основная панель, Ходжкинская панель и панель Т-клеток плюс**
(Панель мелких В-клеток)	***(Бластоидная панель)***	***(Миелоидная панель)***	
CD15 CD10 CD23 циклин D1 BCL6 (добавить цитокератины при подозрении на лимфоэпителиальное поражение)	TdT CD5 CD43 (добавить EBV-EBER ISH при подозрении на иммунодефицит или иммуносупрессию)	Миелопероксидаза CD68 (KP1) CD68R (PGM1) CD34 (добавить Mac387, CD14, CD15, CD34, CD42b, CD61, CD117, гликофорин С позднее, если необходимо)	CD246 (ALK-1;p80) (добавить CD56 и CD57 позднее, если нет результата)

Таблица 5. В-клеточные лимфомы – антитела для иммунофенотипирования

	Иммунофлюоресценция	**Иммуногистохимия**
SmIg, легкие цепи K, L	Применимо	2
SmIg, тяжелые цепи D, M, G	Применимо	2
CD19	Применимо	2
CD20	Применимо	1
CD79a	Н/П	1
CD79a	Применимо	Н/П
CD22	Применимо	Н/П
CD23	Применимо	1
FMC7	Применимо	Н/П
CD10	Применимо	1
CD2/CD3	Применимо	1
CD5	Применимо	1
CD43	Применимо	2
BCL2	Н/П	1
BCL6	Н/П	1
Ki67	Н/П	1
IRF4/MUM1	Н/П	1
CD21	Н/П	1
p53	Применимо	2
p21(WAF1)	Применимо	2
Циклин D1	Н/П	1
TdT	Применимо	2
PAX5	Н/П	1
p63 (антитело VS38c)	Н/П	3
CD38	Применимо	2
ZAP70	Применимо	3
CD138	Применимо	2
CD56	Применимо	2

ISH для цитоплазматических K & L клеток	Применимо	1 (при пролиферации плазмоцитов)

1. Антитела первой линии
2. Антитела второй линии
3. Антитела третьей линии

Н/П —Антитело не применимо для данной методики

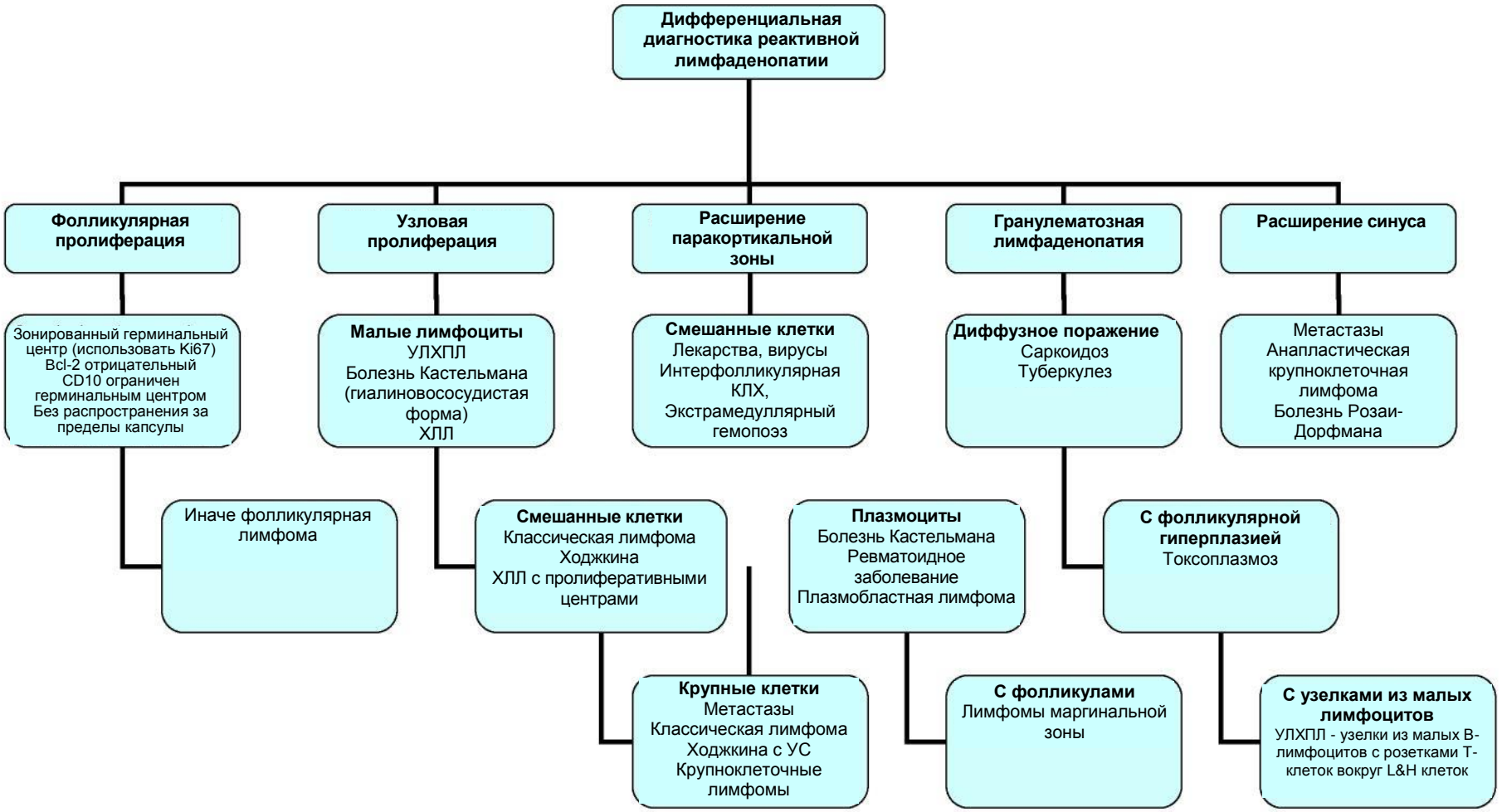
Таблица 6. Антитела первой линии при лимфоме Ходжкина

CD2/CD3
CD20
CD30
CD15
EBV-LMP1/ EBER (ISH)
IRF4/MUM1
PAX5

Таблица 7. Антитела первой линии при Т-клеточной лимфоме

CD2
CD3
CD4
CD5
CD7
CD8
CD56
Ki67
CD20
CD79a
CD15

Рисунок 1. Предлагаемый подход к оценке лимфаденопатии



Декларация интересов:

Никто из авторов не заявлял о конфликте интересов. В онкогематологическую рабочую группу BCSH во время написания этого документа входили J. Wimperis (председатель), F. Matthey (секретарь), K. Ardeshna, J. Bird, G. Jackson, M. Lyttelton, A. McMillan, A. Parker.

Контактная информация группы авторов:

[1] Anne Parker, (BCSH Lead), Consultant Haematologist, Glasgow Royal Infirmary, Glasgow anne.parker@northglasgow.scot.nhs.uk
[2] Barbara Bain, Consultant Haematologist, St Marys Hospital, Paddington b.bain@ic.ac.uk
[3]Steve Devereux, Consultant Haematologist, Kings College Hospital, London, stephen.devereux@kcl.ac.uk
[4]Kevin Gatter, Professor of Pathology, John Radcliffe Hospital, Oxford kevin.gatter@ndcls.ox.ac.uk
[5]Andrew Jack, Consultant Histopathologist, Leeds General Hospital, Leeds andrew.jack@leedstl.nhs.uk
[6]Estella Matutes, Consultant Haematologist, The Royal Marsden, London estella.matutes@icr.ac.uk
[7]Nick Rooney, Consultant Histopathologist, Southmead Hospital, Bristol nicholas.rooney@nbt.nhs.uk
[8]Fiona Ross, Consultant Clinical Scientist, Wessex Regional Genetics Laboratory, Salisbury, fiona.ross@salisbury.nhs.uk
[9]Bridget Wilkins, Consultant Histopathologist, Royal Victoria Infirmary, Newcastle upon Tyne Bridget.Wilkins@gstt.nhs.uk
[10]Andrew Wotherspoon, Consultant Histopathologist, The Royal Marsden, London, andrew.wotherspoon@rmh.nhs.uk
[11]Alan Ramsay, Consultant Histopathologist (RCPath Lead), University College Hospital, London a.ramsay@ucl.ac.uk