



Особенности иммунофенотипической диагностики В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний методом проточной цитометрии

Юлия Юрьевна Чуксина*, Елена Васильевна Катаева,
Татьяна Алексеевна Митина

Московский областной научно-исследовательский клинический институт
им. М.Ф. Владимирского, г. Москва, Россия

Реферат

Цель. Оценить информативность традиционных и дополнительных маркеров (CD200, CD305) при иммунофенотипической диагностике у пациентов с В-клеточными лимфопролиферативными заболеваниями методом проточной цитометрии.

Методы. Иммунофенотипическое исследование методом четырёхцветной проточной цитометрии проведено 204 пациентам с различными вариантами В-клеточных неходжкинских лимфом. Материалом для исследования служили периферическая кровь и костный мозг. Оценивали экспрессию CD45, CD19, CD20, CD22, CD79b, CD79a, CD5, CD10, CD23, FMC7, CD43, CD38, CD11c, CD103, CD25, CD200, CD305, лёгких цепей иммуноглобулинов (каппа/lambda) с помощью моноклональных антител (Becton Dickinson, США). Оценку интенсивности экспрессии антигенов проводили по параметру средней интенсивности флуоресценции (у.е.).

Результаты. Традиционная позитивная экспрессия FMC7 выявлена только у половины пациентов с различными вариантами лейкоемизации неходжкинских лимфом, в то время как нетипичная позитивная экспрессия CD23 отмечена у пациентов с лимфомой маргинальной зоны селезёнки и фолликулярной лимфомой в 27,3 и 28,6% случаев соответственно. При лимфоме из клеток мантийной зоны позитивная экспрессия CD200 выявлена в значительно меньшем количестве наблюдений, что сопровождалось и достоверным снижением средней интенсивности флуоресценции CD200 по сравнению с опухолевыми клетками В-клеточного хронического лимфолейкоза. Показатель средней интенсивности флуоресценции CD305 при волосатоклеточном лейкозе достоверно выше, чем при лейкоемизации лимфомы маргинальной зоны селезёнки с «ворсинчатыми» лимфоцитами.

Вывод. Выявлена различная степень информативности некоторых традиционных маркеров при иммунофенотипической диагностике В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний методом проточной цитометрии; использование дополнительных маркеров CD200 и CD305 показало их высокую информативность при дифференциальной диагностике между различными вариантами В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний со сходной иммунофенотипической и морфологической характеристиками лимфоидных элементов.

Ключевые слова: В-клеточные лимфопролиферативные заболевания, проточная цитометрия, маркеры CD200, CD305.

Для цитирования: Чуксина Ю.Ю., Катаева Е.В., Митина Т.А. Особенности иммунофенотипической диагностики В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний методом проточной цитометрии. *Казанский мед. ж.* 2020; 101 (1): 145–153. DOI: 10.17816/KMJ2020-145.

Features of immunophenotypic finding B-cell lymphoproliferative diseases by flow cytometry

J.J. Chuksina, E.V. Kataeva, T.A. Mitina

Moscow Regional Scientific and Research Clinical Institute named after M.F. Vladimirovskiy, Moscow, Russia

Abstract

Aim. To assess the information content of conventional and additional immunophenotypic markers (CD200,

CD305) in the differential diagnosis B-cell lymphoproliferative diseases by flow cytometry.

Methods. An immunophenotypic study using 4-color flow cytometry was performed in 204 patients with different variants of B-cell non-Hodgkin's lymphomas. The study material included peripheral blood and bone marrow. The expression of CD45, CD19, CD20, CD22, CD79b, CD79a, CD5, CD10, CD23, FMC7, CD43, CD38, CD11c, CD103, CD25, CD 200, CD 305, light chains of immunoglobulins (kappa/lambda) using monoclonal antibodies (Becton Dickinson, USA) was evaluated. The intensity of antigen expression was assessed using mean fluorescence intensity (y. e.).

Results. Conventional FMC7-positive expression revealed only half patients with different variants of leukemization of non-Hodgkin's lymphomas, whereas atypical positive expression of CD23 was observed in patients with marginal spleen lymphoma and follicular lymphoma in 27.3 and 28.6% of cases, respectively. In mantle cell lymphoma, expression of CD200 in B-cell was detected in a significantly smaller number of observations, accompanied by a significant decrease in the average intensity of CD200 fluorescence compared to B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) cells. The mean fluorescence intensity (MFI) of CD305 in hairy cell leukemia is significantly higher than in splenic marginal zone lymphoma (SMZL) with "villous" lymphocytes.

Conclusion. Different levels of the information content of some conventional markers were revealed in differential immunophenotypic diagnosis of B-cell lymphoproliferative diseases by flow cytometry; the use of additional markers CD200 and CD305 was highly informative in differential diagnostics between different variants of B-cell lymphoproliferative diseases with similar immunophenotypic and morphological characteristics of lymphoid elements.

Keywords: B-cell lymphoproliferative diseases, flow cytometry, CD200, CD305 markers.

For citation: Chuksina J.J., Kataeva E.V., Mitina T.A. Features of immunophenotypic finding B-cell lymphoproliferative diseases by flow cytometry. *Kazan medical journal*. 101 (1): 145–153. DOI: 10.17816/KMJ2020-145.

Преимущества метода многоцветной проточной цитометрии определяют широкие возможности его использования, прежде всего в диагностике и классификации лимфопролиферативных заболеваний (ЛПЗ) [1], мониторинге остаточного опухолевого клона, оценке факторов прогноза и резистентности к терапии. Традиционное морфологическое исследование при ЛПЗ не позволяет определить принадлежность опухолевых лимфоидных клеток к какой-либо линии (Т-, В- или НК) или стадии дифференцировки. Метод проточной цитометрии позволяет быстро выявить клональность опухолевых В-лимфоцитов, коэкспрессию основных для конкретной опухоли поверхностных и/или цитоплазматических маркеров. Однако не всегда иммунофенотипическая характеристика опухолевых лимфоцитов отдельных пациентов соответствует классической картине того или иного варианта В-ЛПЗ, что затрудняет интерпретацию полученных данных и может привести к неверному диагнозу.

В некоторых публикациях [2–5] появились данные об использовании относительно новых моноклональных антител в диагностической панели для иммунофенотипирования В-ЛПЗ. Мы проанализировали информативность традиционных и дополнительных иммунофенотипических маркеров (CD200, CD305) при различных вариантах В-клеточных ЛПЗ.

CD200 (OX2) — трансмембранный гликопротеид, относящийся к суперсемейству имму-

ноглобулинов, экспрессируется на тимоцитах, покоящихся и активированных Т- лимфоцитах, В-лимфоцитах, дендритных, эндотелиальных клетках, нейронах, но отсутствует на НК-клетках, моноцитах, гранулоцитах, тромбоцитах. Опухолевые В-клетки характеризуются яркой гомогенной экспрессией CD200 при В-клеточном хроническом лимфолейкозе (ХЛЛ), волосатоклеточном лейкозе (ВКЛ), значительно слабее её выраженность при лимфоме клеток мантийной зоны (ЛКМЗ) [4, 5]. Экспрессию CD200 считают неблагоприятным прогностическим признаком при множественной миеломе [6–8].

CD305, или LAIR-1 (от англ. Leukocyte-Associated Ig-Like Receptor-1), — трансмембранный гликопротеид, относится к суперсемейству иммуноглобулинов, экспрессируется на значительной части Т-, В-, НК-лимфоцитов, моноцитах, дендритных клетках, тимоцитах. Экспрессию LAIR-1 отмечают на ранних стадиях дифференцировки В-лимфоцитов, но она отсутствует на плазмобластах и плазмоцитах. Кроме того, LAIR-1 может функционировать как ингибирующий рецептор на Т- и НК-лимфоцитах [9, 10].

В рекомендациях Европейского консорциума по проточной цитометрии (EuroFlow) маркер LAIR-1 включён в дифференциально-диагностическую панель В-ЛПЗ для диагностики ВКЛ (Leukemia, 2012).

Цель исследования — оценить информативность традиционных и дополнительных имму-

нофенотипических маркёров (CD200, CD305) при дифференциальной диагностике В-ЛПЗ методом проточной цитометрии.

Иммунофенотипическое исследование проведено 204 пациентам с подозрением на В-ЛПЗ в научно-исследовательской лаборатории ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского». Также обследована группа из 20 пациентов с реактивным лимфоцитозом, у которых наличие В-ЛПЗ было исключено. Материалом для исследования служили периферическая кровь и костный мозг.

Исследования были одобрены на заседании независимого комитета по этике ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» (протокол №10 от 15.10.2015) и проведены с получением добровольного и информированного согласия пациентов.

Возраст пациентов варьировал от 30 до 80 лет, средний возраст составил 56 ± 15 лет.

Иммунофенотипическое исследование проводили методом лазерной проточной цитометрии, применяя четырёхцветный проточный цитофлюориметр FACSCalibur (Becton Dickinson, США) с использованием программного обеспечения CellQuest, моноклональных антител, конъюгированных с флюоресцентными красителями (производство BD Biosciences, США). Использовали следующую панель моноклональных антител: Анти-CD45-FITC, Per-CP или Per-CP-Cy5,5, APC; анти-CD3-FITC, анти-CD19-APC, Per-CP или Per-CP-Cy5,5; анти-CD20-FITC, Per-CP или Per-CP-Cy5,5; анти-CD5, анти-FMC7, анти-CD38, анти-CD103, анти-CD43, анти-sIg kappa, меченные FITC; анти-CD(16+CD56), анти-CD10, анти-CD23, анти-CD56, анти-CD22, анти-CD79b, анти-CD25, анти-CD11c, анти-sIg lambda, меченные PE. Дополнительно в панель были включены моноклональные антитела анти-CD200 — PE (Clone MRC OX-104 BD Pharmingen), анти-CD305-PE (Clone DX26 BD Pharmingen).

Иммунофенотипическое исследование проводили с применением стандартной методики пробоподготовки. Критерием позитивности считали наличие экспрессии антигена на поверхности или в цитоплазме более чем 20% опухолевых клеток. Оценку интенсивности экспрессии антигенов проводили по параметру средней интенсивности флюоресценции (MFI — от англ. Mean Fluorescence Intensity), выраженной в условных единицах (y.e.).

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием статисти-

ческой программы Statistica 8.0 с расчётом средней величины и квадратичной ошибки средней ($M \pm m$). Для определения статистической значимости различий в средних значениях количественных показателей использовали t-критерий Стьюдента. Частоту антигенов в исследуемых когортах пациентов сравнивали по критерию Фишера.

Из 204 обследованных пациентов ХЛЛ был диагностирован у 104, у 18 человек — ВКЛ, у 41 пациента — ЛКМЗ, у 34 больных — лимфома маргинальной зоны селезёнки (ЛМЗС), у 7 пациентов — лейкоемизация фолликулярной лимфомы. Диагноз ЛКМЗ был подтверждён цитогенетическими исследованиями $t(11;14)$ и/или выявлением экспрессии циклина D1 иммуногистохимическими методами.

Данные по оценке традиционных иммунофенотипических маркёров при В-ЛПЗ представлены в табл. 1.

Общий иммунофенотипический признак всех В-ЛПЗ — обнаружение рестрикции мембранных лёгких цепей иммуноглобулинов (каппа- либо lambda-тип), что служит подтверждением клональности В-лимфоцитов при опухолевой трансформации. Оценка интенсивности экспрессии CD20 по параметру MFI позволяет дифференцировать клетки В-ХЛЛ с низкой/слабой (dim) степенью экспрессии от остальных опухолевых клеток В-ЛПЗ, для которых характерна промежуточная (mod), либо высокая/яркая (bright) интенсивность экспрессии данной молекулы, что служит одним из основных традиционных дифференциально-диагностических критериев, позволяющих отличить ХЛЛ от зрелоклеточных лимфом и ВКЛ. Общепринятым традиционным иммунофенотипическим признаком лейкоемизации неходжкинских лимфом и ВКЛ считают позитивность FMC7, который обычно не экспрессирован при ХЛЛ, что также служит дифференциально-диагностическим критерием.

Иммунофенотип лимфоцитов при ХЛЛ характеризовался классическими признаками: позитивной экспрессией антигенов CD5, CD23, CD43, отсутствием экспрессии CD10, FMC7. Все пациенты с ХЛЛ демонстрировали слабую (dim) экспрессию молекулы CD20, часть пациентов (4,5%) имели нетипичную яркую (bright) экспрессию CD22, у 33,8% пациентов обнаружено отсутствие мембранной экспрессии CD79b. У 14,4% больных не было выявлено рестрикции по мембранным лёгким цепям иммуноглобулинов. Отсутствие молекулы CD79b на поверхности клеток В-ХЛЛ может служить признаком делеции (13)(q14.3) или нарушения формиро-

Таблица 1. Частота выявления позитивных дифференциально-диагностических антигенов при различных вариантах В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний (доля наблюдений, %)

Вариант	Хронический лимфолейкоз/лимфоцитарная лимфома	Лимфома клеток мантийной зоны	Фолликулярная лимфома	Лимфома маргинальной зоны селезёнки	Волосатоклеточный лейкоз
АГ	N=104	N=41	N=7	N=34	N=18
CD19 ⁺	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
CD20 ⁺	100,0 dim*	80,0 bright; 20,0 dim	100,0 bright	85% bright; 15% dim	100,0 bright
CD22 ⁺	95,5 dim; 4,5 bright*	85,0 bright; 15,0 dim	100,0 bright	85% bright; 15% dim	100,0 bright
CD79b ⁺	66,2 dim	88,6 bright	100,0 bright	92% bright; 7,5% dim	100,0 bright
CD10 ⁺	0,0	5,7	100,0	0,0	5,5
CD5 ⁺	98,6	100	0,0	0,0	22,2
CD23 ⁺	92,3	11,4	28,6	27,3	11,1
FMC7 ⁺	4,8	57,1	57,1	54,5	88,9
CD43 ⁺	98,6	14,3	33,3	12,1	0,0
CD103 ⁺	0,0	0,0	0,0	0,0	77,7
CD25 ⁺	73,3	70,4	14,3	50,0	81,3
CD38 ⁺	26,0	45,2	43,0	0,0	12,5
Рестрикция мембранных лёгких цепей иммуноглобулина (SIg k/L)	86,6	97,4	57,1	100,0	82,4

*Примечание: dim — низкая интенсивность флюоресценции; bright — высокая интенсивность флюоресценции.

вания В-клеточного рецепторного комплекса [11]. 26% пациентов демонстрировали позитивную экспрессию CD38 на клетках В-ХЛЛ, что расценивают как иммунофенотипический показатель неблагоприятного прогноза и резистентности к терапии [12]. У 73% пациентов с ХЛЛ обнаружена позитивная экспрессия рецептора к интерлейкину-2 (CD25) на опухолевых В-лимфоцитах в диапазоне от 20 до 89% позитивных клеток. По данным литературы, у таких больных отмечают более агрессивное течение заболевания, есть связь с хромосомными аномалиями, стимуляцией Toll-like-рецепторов [13, 14]. По нашим данным, выраженная экспрессия CD25 на клетках В-ХЛЛ уже на этапе первичной иммунофенотипической диагностики служит маркёром высокой вероятности рефрактерности к проводимой терапии и низкого качества ремиссии заболевания, а также может быть показателем прогрессирования или развития рецидива заболевания [15].

Имунофенотипический профиль опухолевых В-лимфоцитов при лейкоемизации ЛКМЗ характеризовался позитивной экспрессией CD5,

отсутствием экспрессии CD23, CD43, CD10. У 20 и 15% пациентов с ЛКМЗ выявлена слабая (dim) экспрессия CD20 и CD22 соответственно, у 11,4% пациентов отсутствовала экспрессия CD79b. Позитивная экспрессия FMC7 выявлена только у 57,1% пациентов.

Особой проблемой при иммунофенотипировании становится дифференциальная диагностика между CD5-позитивными ХЛЛ и ЛКМЗ при вариабельности антигенов CD23, реже CD43, а также при вариабельности интенсивности экспрессии CD20. Использование маркёра CD200 может помочь в разрешении этой проблемы. Оценка экспрессии CD200 у исследованных пациентов представлена в табл. 2 и 3.

Во всех случаях ХЛЛ и в большинстве случаев реактивного лимфоцитоза выявлена позитивная экспрессия CD200 на В-лимфоцитах. Позитивная экспрессия CD200 обнаружена у пациентов с ЛКМЗ в значительно ($p=0,000$) меньшем количестве наблюдений, чем при ХЛЛ, что согласуется с данными литературы, хотя доля позитивных по CD200 пациентов с ЛКМЗ несколько выше, чем у других исследо-

Таблица 2. Частота выявления позитивных по экспрессии CD200 В-клеток при В-клеточных лимфопролиферативных заболеваниях и реактивном лимфоцитозе (доля наблюдений, %)

Вид патологии	Хронический лимфолейкоз/лимфоцитарная лимфома N=104	Лимфома клеток мантийной зоны N=26	Фолликулярная лимфома N=7	Лимфома маргинальной зоны селезёнки N=29	Волосатоклеточный лейкоз N=15	Реактивный лимфоцитоз N=20
	1	2	3	4	5	6
Показатель	104/104* (100,0%)	3/26 (11,5%)	4/7 (66,7%)	19/29 (65,5%)	13/15 (85,7%)	19/20 (98,3%)

Примечание: *статистически достоверные различия между хроническим лимфолейкозом и лимфомой клеток мантийной зоны: $p_{1-2}=0,000$; $p_{1-3}=0,00016$; $p_{1-4}=0,000$; $p_{1-5}=0,01496$; $p_{1-6}=0,16129$.

Таблица 3. Средняя интенсивность флуоресценции (MFI) CD200 на опухолевых клетках при различных вариантах В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний и реактивном лимфоцитозе (M±m)

Нозологические формы	Хронический лимфолейкоз/лимфоцитарная лимфома N=30	Лимфома клеток мантийной зоны N=3	Фолликулярная лимфома N=4	Лимфома маргинальной зоны селезёнки N=15	Волосатоклеточный лейкоз N=9	Реактивный лимфоцитоз N=15
	1	2	3	4	5	6
MFI CD200, у.е.	370,5±14,6*	131,7±17,7	95,1±18,1	63,8±16,1	326,8±14,0	102,4±6,6

*Примечание: статистически достоверные различия между хроническим лимфолейкозом и лимфомой клеток мантийной зоны: $p_{1-2}=0,0000$; $p_{1-3}=0,0000$; $p_{1-4}=0,0000$; $p_{1-5}=0,016$; $p_{1-6}=0,0000$.

вателей [2, 3, 5]. Другие варианты В-ЛПЗ характеризовались большей выявляемостью CD200 по сравнению с ЛКМЗ. Однако у 11,5% пациентов с ЛКМЗ были обнаружены CD200-позитивные опухолевые В-клетки, в связи с чем мы оценили интенсивность экспрессии CD200 на В-лимфоцитах по параметру MFI (см. табл. 3).

Наиболее высокий показатель MFI CD200 обнаружен у больных ХЛЛ и ВКЛ, статистически значимо превышая значения MFI CD200 у пациентов с ЛКМЗ, фолликулярной лимфомой и ЛМЗС, реактивным лимфоцитозом. Определение MFI CD200 служит существенным критерием при дифференциальной диагностике CD5-позитивных ХЛЛ и ЛКМЗ с наличием высокого содержания CD200⁺ В-клеток. На рис. 1 представлены цитограммы больных ХЛЛ, ЛКМЗ и реактивным лимфоцитозом, отражающие различные варианты и интенсивность экспрессии антигена CD200 (пояснения под рисунком).

Особую группу лимфом из клеток мантии составляет так называемый бластоидный подвариант заболевания, при котором опухолевые клетки имеют бластную морфологию. Иммунофенотипически у таких пациентов (4 наблюдения) отмечена позитивная экспрессия CD10, слабая экспрессия CD45 и CD19, выраженная позитивная экспрессия активационных антигенов CD38 и CD25, в некоторых случаях отсут-

Таблица 4. Показатели экспрессии LAIR-1 (CD305) на опухолевых клетках при лимфоме маргинальной зоны селезёнки и волосатоклеточном лейкозе

Тип В-клеточного лимфопролиферативного заболевания	Лимфома маргинальной зоны селезёнки N=9	Волосатоклеточный лейкоз N=9
Содержание CD305-позитивных клеток, M±m (%)	44,02±11,98	65,9±8,5
Средняя интенсивность флуоресценции CD305, M±m (у.е.)	325,1±12,7*	1404,9±14,2

Примечание: * $p=0,0000$.

ствовала экспрессия CD79b, но присутствовала экспрессия CD79a. Экспрессии CD200 не было во всех случаях. На рис. 2 представлены варианты позитивной экспрессии антигена CD10, выявленного при фолликулярной лимфоме (А) и бластоидном варианте ЛКМЗ (Б).

Для фенотипа опухолевых клеток фолликулярной лимфомы была характерна яркая (bright) экспрессия всех пан В-клеточных маркёров в 100% наблюдений, позитивность CD10, варибельность маркёров CD23, CD43 и CD38. В 43% случаев рестрикция лёгких цепей иммуноглобулинов выявлена только при внутрицитоплазматическом окрашивании. Позитивная экспрессия FMC7 обнаружена только

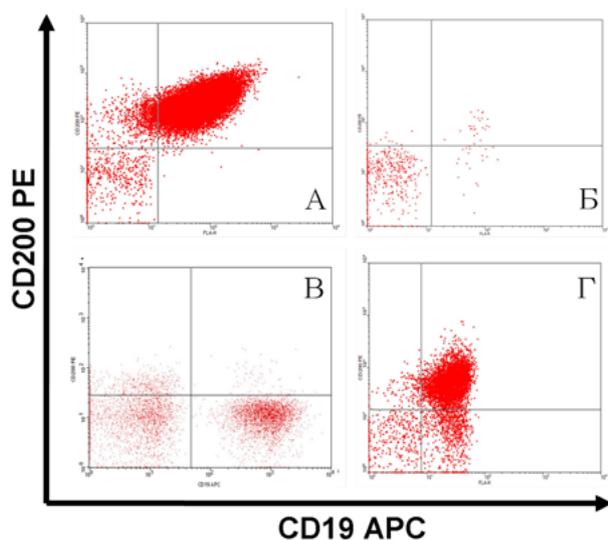


Рис. 1. Экспрессия CD200 на В-клетках при хроническом лимфолейкозе, реактивном лимфоцитозе и лимфоме клеток мантийной зоны (ЛКМЗ): А — хронический лимфолейкоз, экспрессия CD200 на 94% клеток В-хронического лимфолейкоза, интенсивность флуоресценции (MFI) 350 у.е.; Б — реактивный лимфоцитоз, экспрессия CD200 на 0,12% В-клеток, MFI=112,1 у.е.; В — ЛКМЗ, экспрессия CD200 на 1,22% В-лимфоцитов (негативная), MFI=57,9 у.е.; Г — ЛКМЗ, экспрессия CD200 на 82,9% В-лимфоцитов (позитивная), MFI=115,4 у.е.

у половины обследованных пациентов (57,1%), а позитивная экспрессия CD23 — в 28,6% наблюдений. В последней классификации Всемирной организации здравоохранения (2016) выделен новый вариант преимущественно диффузной CD23-позитивной фолликулярной лимфомы с фенотипом CD10⁺bcl-2⁺bcl-6⁺, характеризующийся более агрессивным течением и del 1p36 [16].

Иммунофенотип В-лимфоцитов при ЛМЗС характеризовался преимущественно яркой (bright) экспрессией всех пан В-клеточных маркеров, отсутствием экспрессии CD5, CD10, CD43, CD103 и CD38, вариабельностью CD23, CD25 и FMC7. В частности, не характерная для данной группы пациентов позитивная экспрессия антигена CD23 обнаружена практически у трети (27,3%) больных, а позитивная экспрессия классического традиционного маркера FMC7 выявлена только у половины (54,5%) пациентов.

Опухолевые клетки при классической форме ВКЛ демонстрировали яркую (bright) экспрессию всех пан В-клеточных маркеров, отсутствие CD5, наличие позитивной экспрессии антигенов FMC7, CD11c, CD103 и CD25. Из 18 пациентов с иммунофенотипически верифицированным диагнозом ВКЛ у 27,7% нами установлена вариантная форма с позитивной

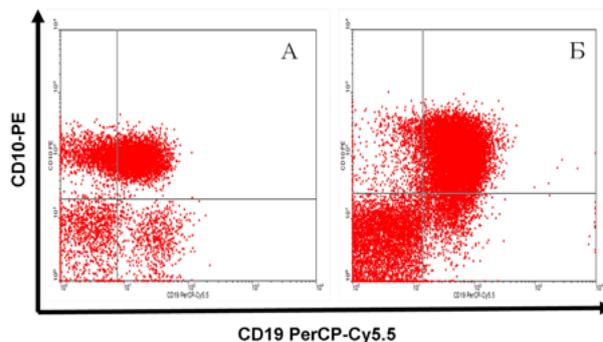


Рис. 2. Экспрессия CD10 на В-лимфоидных элементах при фолликулярной лимфоме и бластоидном варианте лимфомы клеток мантийной зоны: А — фолликулярная лимфома, экспрессия CD10 на 68,12% В-клеток, интенсивность флуоресценции 105,4 у.е.; Б — лимфома клеток мантийной зоны, бластоидный вариант, экспрессия CD10 на 55,5% В-клеток, интенсивность флуоресценции 88,1 у.е.

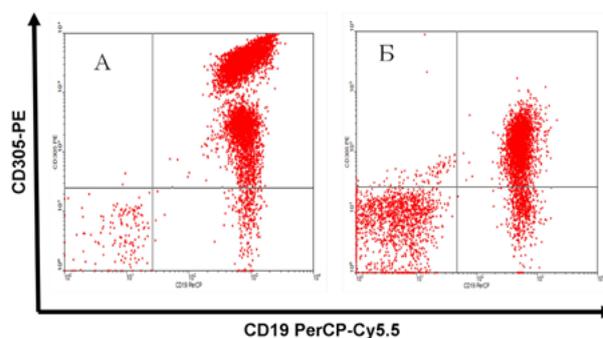


Рис. 3. Экспрессия CD305 (LAIR-1) на В-лимфоцитах при волосатоклеточном лейкозе (ВКЛ) и лимфоме маргинальной зоны селезенки (ЛМЗС): А — ВКЛ, гетерогенная экспрессия CD305 на 94,5% В-клеток, MFI=1404 у.е.; Б — ЛМЗС, экспрессия CD305 на 59,3% В-клеток, интенсивность флуоресценции 320,5 у.е.

экспрессией либо CD5, либо CD10, с отсутствием экспрессии либо CD103, либо CD25, либо CD11c, либо CD305. В некоторых случаях отсутствовала экспрессия CD79b, но выявлялась экспрессия CD79a. Только в 48% случаев иммунофенотипически верифицированного диагноза ВКЛ морфологически были выявлены типичные «волосатые клетки» или дана описательная характеристика лимфоидных элементов с цитоплазматическими выростами.

Определённые трудности возникают при диагностике ЛМЗС и ВКЛ, что связано с наличием отростчатых или виллезных клеток и «волосатых» клеток соответственно при данных заболеваниях. Помимо традиционных антигенов CD25, CD11c, CD103, нами была исследована экспрессия CD305 (LAIR-1) при ЛМЗС и ВКЛ, что представлено в табл. 4.

Не было обнаружено достоверных различий по содержанию CD305-позитивных клеток

между данными группами пациентов, но средняя интенсивность флюоресценции CD305 при ВКЛ была достоверно выше, чем при лейкомизации ЛМЗС (рис. 3). Этот факт может быть использован при иммунофенотипической дифференциальной диагностике этих вариантов В-ЛПЗ со сходной морфологической характеристикой лимфоидных элементов.

ВЫВОДЫ

1. Обнаружены некоторые особенности иммунофенотипической характеристики опухолевых клеток у пациентов с В-клеточными лимфопролиферативными заболеваниями.

2. От 7,5 до 20% пациентов с лейкомизацией лимфомы клеток мантийной зоны и лимфомы маргинальной зоны селезёнки могут демонстрировать нетипичную слабую (dim) интенсивность экспрессии CD20, CD22 и CD79b, что затрудняет дифференциальную диагностику с хроническим лимфолейкозом.

3. Позитивная экспрессия традиционного маркера FMC7, характерная для лейкомизации зрелоклеточных лимфом и волосатоклеточного лейкоза, выявлена только у половины пациентов с лимфомой клеток мантийной зоны, фолликулярной лимфомой и лимфомой маргинальной зоны селезёнки.

4. Обнаружено относительно много наблюдений с нетипичной позитивной экспрессией CD23 у пациентов с фолликулярной лимфомой и лимфомой маргинальной зоны селезёнки (28,6 и 27,3% соответственно).

5. Позитивная экспрессия CD200 на опухолевых клетках выявлена у пациентов с лимфомой клеток мантийной зоны в значительно ($p < 0,0001$) меньшем количестве наблюдений, чем при хроническом лимфолейкозе и других вариантах В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний.

6. Статистически значимое ($p < 0,001$) снижение средней интенсивности флюоресценции CD200 при лимфоме клеток мантийной зоны по сравнению с хроническим лимфолейкозом даёт возможность использования данного критерия в дифференциальной диагностике этих вариантов В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний у больных с высоким содержанием CD200-позитивных опухолевых В-клеток.

7. Показатель средней интенсивности флюоресценции CD305 при волосатоклеточном лейкозе достоверно выше, чем при лейкомизации лимфомы маргинальной зоны селезёнки, что может быть использовано при дифференциальной диагностике этих вариантов В-клеточных

лимфопролиферативных заболеваний со сходной морфологической характеристикой лимфоидных элементов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Ed. S.H. Swerdlow, E. Campo, N.L. Harris et al. Lyon. 2017; 585 p.

2. Луговская С.А., Кисиличина Д.Г., Почтарь М.Е. и др. Новые маркёры (CD160, CD200, LAIR-1) в диагностике В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний. *Клин. онкогематол. Фундаментал. исслед. и клин. практика.* 2013; 6 (1): 45–53. [Lugovskaya S.A., Kisilichina D.G., Pochtar M.E. et al. New markers (CD160, CD200, and LAIR-1) in diagnosis of B-cell lymphoproliferative disorders. *Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamental'nye issledovaniya i klinicheskaya praktika.* 2013; 6 (1): 45–53. (In Russ.)]

3. Palumbo G.A., Parrinello N., Fargione G. et al. CD200 expression may help in differential diagnosis between mantle cell lymphoma and B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Res.* 2009; 33 (9): 1212–1216. DOI: 10.1016/j.leukres.2009.01.017.

4. Brunetti L., Di Noto R., Abate G. et al. CD200/OX2, a cell surface molecule with immuno-regulatory function, is consistently expressed on hairy cell leukaemia neoplastic cells. *Br. J. Haematol.* 2009; 145 (5): 665–667. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07644.x.

5. Sander B. Mantle cell lymphoma: recent insights into pathogenesis, clinical variability, and new diagnostic markers. *Semin. Diagn. Pathol.* 2011; 28 (3): 245–255. DOI: 10.1053/j.semdp.2011.02.010.

6. Moreaux J., Hose D., Reme T., Jourdan E. CD200 is a new prognostic factor in multiple myeloma. *Blood.* 2006; 108 (13): 4194–4197. DOI: 10.1182/blood-2006-06-029355.

7. Olteanu H., Harrington A.M., Parameswaran H., Kroft S.H. CD200 expression in plasma cell myeloma. *Br. J. Haematol.* 2011; 153: 408–411. DOI: 10.1111/j.1365-2141-2010.08555.x.

8. Desoukey N.A., Afify R.A., Amine D.G., Mohammed R.F. CD200 expression in B-cell chronic lymphoproliferative disorders. *J. Investig. Med.* 2012; 60: 56–61. DOI: 10.2310/JIM.0b013e31823908f9.

9. Brondijk C., de Ruiter T., Ballering J. et al. Crystal structure and collagen binding site of immune inhibitory receptor LAIR-1: unexpected implications for collagen binding by platelet receptor GPVI. *Blood.* 2010; 115 (7): 1364–1373. DOI: 10.1182/blood-2009-10-246322.

10. Meyaard L. The inhibitory collagen receptor LAIR-1 (CD305). *J. Leuk. Biol.* 2008; 83: 799–803. DOI: 10.1189/Jeb.0907609.

11. Alfarano A., Indraccolo S., Circosta P. et al. An alternatively spliced form of CD79b gene may account for altered B-cell receptor expression in B-chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999; 93 (7): 2327–2335. PMID: 10090943.

12. Krober A., Seiler T., Benner A. et al. V(H) mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2002 (100): 1410–1416. PMID: 12149225.

13. Quijano S., López A., Rasillo A. et al. Impact of trisomy 12, del(13q), del(17p), and del(11q) on the immunophenotype, DNA ploidy status, and proliferative rate of

leukemic B-cells in chronic lymphocytic leukemia. Cytometry. Part B. *Clin. Cytom.* 2008; 74B (3): 139–149. DOI: 10.1002/cyto.b.20390.

14. Muzio M., Scielzo C., Bertilaccio M.T. et al. Expression and function of toll like receptors in chronic lymphocytic leukaemia cells. *Br. J. Haematol.* 2009; 144 (4): 507–516. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07475.x.

15. Чукина Ю.Ю., Яздовский В.В., Шевелёв С.В. и др. Прогностическая значимость иммунофенотипических маркеров при оценке минимальной остаточной болезни у больных хроническим лимфолейкозом после проведения иммунохимиотерапии. *Рос. иммунол. ж.*

2015; 9 (3-1): 236–238. [Chuksina Y.Y., Yazdovskiy V.V., Shevelev S.V. et al. Prognostic significance of immunophenotypic markers in the evaluation of minimal residual disease in patients with chronic lymphocytic leukemia after immunochemotherapy. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal.* 2015; 9 (3-1): 236–238. (In Russ.)]

16. Katzenberger T., Kalla J., Leich E. et al. A distinctive subtype of t(14;18)-negative nodal follicular non-Hodgkin lymphoma characterized by a predominantly diffuse growth pattern and deletions in the chromosomal region 1p36. *Blood.* 2009; 113 (5): 1053–1061. DOI: 10.1182/blood-2008-07-168682.