

# ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОРАЖЕНИЯ КОСТНОГО МОЗГА ПРИ ФОЛЛИКУЛЯРНОЙ ЛИМФОМЕ

О.П. Колбацкая, Н.А. Фалалеева, А.М. Моженкова, Н.А. Купрышина, А.И. Павловская

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Наталья Александровна Фалалеева falaleeva – n@mail.ru

**Введение.** Костный мозг (КМ) является одной из «излюбленных» зон поражения при фолликулярной лимфоме (ФЛ) — до 70 % случаев. Вместе с тем сопоставление субпопуляционного состава лимфоцитов КМ больных ФЛ с иммунофенотипом первичной опухоли и характеристиками неопухолевого микроокружения до настоящего времени не проводилось.

**Цель исследования** — сопоставление субпопуляционного состава лимфоцитов КМ больных ФЛ с иммунофенотипом первичной опухоли и характеристиками неопухолевого микроокружения.

**Материалы и методы.** В исследование включены 78 больных ФЛ. Во всех случаях диагноз был верифицирован иммуногистохимически в соответствии с критериями классификации Всемирной организации здравоохранения (2008).

**Результаты.** При отсутствии специфического поражения КМ по данным гистологического исследования у больных отмечено достоверное повышение содержания цитотоксических CD8<sup>+</sup> лимфоцитов в КМ —  $21,9 \pm 4,5$  и  $10,1 \pm 1,7$  %;  $p = 0,005$ . Наличие специфического поражения по данным гистологического исследования трепанобиоптатов КМ сопровождалось достоверным повышением уровня В-клеток (CD19<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>), а также CD10<sup>+</sup> лимфоцитов в аспиратах КМ. Содержание Т-лимфоцитов КМ (CD5<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup>) было достоверно более высоким в CD10<sup>-</sup>негативных случаях ФЛ ( $32,2 \pm 7,6$  и  $13,5 \pm 3,4$  %;  $p = 0,021$ ). Количество В-клеток в КМ (CD19<sup>+</sup>CD5<sup>-</sup>, CD10<sup>+</sup>) было достоверно более высоким в CD10<sup>-</sup>позитивных случаях ( $p < 0,05$ ). В случаях выраженной Т-клеточной инфильтрации первичной опухоли уровни костномозговых В-клеток со специфическим для ФЛ иммунофенотипом (CD10<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>CD23<sup>+</sup>) были достоверно более низкими,  $p = 0,001$  и  $0,048$  соответственно. Повышенное содержание лимфоцитов в КМ достоверно ассоциируется с повышенным содержанием Т-клеток: CD3, CD5, CD7, CD4, CD8. Вместе с тем содержание зрелых В-клеток (CD20<sup>+</sup>, CD22<sup>+</sup>) было одинаковым в 2 сравниваемых группах, а содержание В-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>CD5<sup>-</sup>), а также В-клеток, экспрессирующих HLA-DR, CD23, CD10, CD38, — более высоким при отсутствии лимфоцитоза в КМ. По этим причинам верификация поражения КМ у больных ФЛ должна быть только иммунологической. Уровни зрелых В-лимфоцитов КМ (CD19, CD20, CD22) были достоверно более высокими у больных с нормальным содержанием оксифильных нормобластов в миелограмме.

**Заключение.** Наши данные указывают на то, что верификация поражения КМ у больных ФЛ должна быть только иммунологической. Т-клеточное микроокружение первичной опухоли препятствует диссеминации ФЛ в КМ. Субпопуляционный состав лимфоцитов КМ взаимосвязан с иммунофенотипом ФЛ (CD10). Костномозговое микроокружение (CD8<sup>+</sup> лимфоциты) ассоциируется с отсутствием специфического поражения КМ по данным гистологического исследования трепанобиоптатов КМ.

**Ключевые слова:** фолликулярная лимфома, костный мозг, субпопуляция лимфоцитов

DOI: 10.17650/1726-9784-2016-15-4-110-116

## IMMUNOLOGICAL ASPECTS OF BONE MARROW INVOLVEMENT IN FOLLICULAR LYMPHOMA

O.P. Kolbatskaya, N.A. Falaleeva, A.M. Mozhenkova, N.A. Kupryshina, A.I. Pavlovskaya

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center at the Ministry of Health of Russia; 24 Kashyrskoe Sh., Moscow, 115478, Russia

**Introduction.** Bone marrow is one of the most common sites of involvement in follicular lymphoma (70 % of cases). Comparison of bone marrow lymphocyte subpopulations with the immunophenotype of primary tumor and its microenvironment has not been done.

**Materials and methods.** Study has been done in 78 patients with follicular lymphoma. Diagnosis in each case was verified according to criteria of WHO classification (2008).

**Objective** — to compare subpopulation composition of lymphocytes in bone marrow of patients with follicular lymphoma with immunophenotype of the primary tumor and the characteristics of the non-tumor microenvironment.

**Results.** Histological detection of bone marrow involvement was associated with significant elevation of mature B-cells (CD19<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>) as well as CD10<sup>+</sup> lymphocytes in bone marrow aspiration biopsy specimens. In CD10<sup>-</sup>negative follicular lymphoma T-cell content (CD5<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup>) was higher than in CD10<sup>+</sup> cases ( $32.2 \pm 7.6$  % vs  $13.5 \pm 3.4$  %;  $p = 0.021$ ). Oppositively, number of B-cells in bone marrow (CD19<sup>+</sup>CD5<sup>-</sup>, CD10<sup>+</sup>) was higher in CD10<sup>+</sup> cases ( $p < 0.05$ ). Intensive infiltration of primary tumor with T-cells was associated with lower number of bone marrow B-cells with specific follicular lymphoma phenotype — CD10<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>CD23<sup>+</sup> — ( $p = 0.001$  and  $0.048$ , correspondingly). Elevation of bone marrow lymphocytes was associated with higher number of mature T-cells in bone

marrow – CD3, CD5, CD7, CD4, CD8. Number of B-cells (CD20+, CD22+) and (CD19+, CD19+CD5-), as well as B-cells expressing HLA-DR, CD23, CD10, CD38 was either equal or even higher in group of patients without lymphocytosis in bone marrow. In the group of normal level of oxyphilic normoblasts in bone marrow higher level of mature bone marrow B-cells (CD19, CD20, CD22) was noted.

**Conclusion.** Our data confirm that verification of bone marrow involvement in follicular lymphoma should be immunological. T-cell microinvolvement in primary tumor prevents of follicular lymphoma dissemination to bone marrow. Subpopulations of bone marrow lymphocytes are related to the immunophenotype of primary tumor (CD10). Bone marrow microenvironment (CD8+ lymphocytes) correlates with the absence of specific bone marrow involvement according to histology of bone marrow trephine biopsy.

**Key words:** follicular lymphoma, bone marrow, subpopulation of lymphocytes

## Введение

Фолликулярная лимфома (ФЛ) относится к категории периферических мелкоклеточных лимфом. Костный мозг (КМ) является одним из наиболее частых участков метастатического поражения при ФЛ (до 70 % случаев по данным Всемирной организации здравоохранения [1]).

ФЛ возникает из клеток светлых центров фолликулов лимфатических узлов – центробластов и centroцитов. Важную роль в патогенезе заболевания играет транслокация 14;18 с перемещением гена *bcl-2* с хромосомы 18 на хромосому 14 под контроль иммуноглобулиновых генов [2], наблюдаемая в более чем 90 % случаев ФЛ.

Иммунофенотипические характеристики ФЛ хорошо изучены. Это периферическая В-клеточная опухоль, характеризующаяся экспрессией общих В-клеточных маркеров (CD19), маркеров более зрелых этапов В-клеточной дифференцировки (CD20, CD37, мембранные иммуноглобулины). В числе дополнительных маркеров – CD10, CD23, CD38, наличие фолликулярных дендритных клеток CD23+, CD21+.

Иммунофенотип ФЛ достаточно характерен, однако ее диагностика не всегда проста, что может быть связано со слабой экспрессией CD19 в ряде случаев [3], делецией иммуноглобулиновых генов в ходе соматических гипермутаций, характерных для этого типа клеток. Для наиболее полной диагностики ФЛ предложены восьмицветные проточно-цитометрические панели антител Еврофлоу [4].

Важную роль в диагностике и прогнозе ФЛ играет так называемое микроокружение опухолевых клеток. Инфильтрация опухоли Т-лимфоцитами является признаком благоприятного прогноза, а инфильтрация макрофагами – неблагоприятного [5].

Несмотря на высокую частоту поражения КМ при ФЛ, патогенетические механизмы этого процесса до конца не изучены. Доказана неблагоприятная роль данного фактора в прогнозе ФЛ [6]. В литературе отсутствуют сведения о взаимосвязи поражения КМ при ФЛ с иммунофенотипом первичной опухоли и опухолевым микроокружением. Практически не разработан вопрос о костномозговом микроокружении опухолевых клеток. **Целью** нашего исследования было сопоставление субпопуляционного состава

лимфоцитов КМ больных ФЛ с иммунофенотипом первичной опухоли и характеристиками неопухолевого микроокружения.

В работе мы оценили субпопуляционный состав лимфоцитов КМ у больных ФЛ, изучили состав лимфоцитов КМ в случаях поражения (на основании гистологического исследования трепанобиоптатов КМ) и без такового. Особое внимание уделили сопоставлению субпопуляционного состава лимфоцитов КМ с иммунофенотипом первичной опухоли. Также проанализированы взаимосвязи с некоторыми показателями гемопоэза у больных – наличием или отсутствием лимфоцитоза в КМ, изменением эритроидной дифференцировки с увеличением процентного содержания оксифильных форм.

## Материалы и методы

Работа выполнена в НИИ клинической онкологии ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Все больные проходили обследование и лечение в отделении химиотерапии.

У 78 больных ФЛ проведены анализ субпопуляций костномозговых лимфоцитов и оценка взаимосвязи с поражением КМ по данным гистологического исследования, иммунофенотипом первичной опухоли и характеристиками гемопоэза.

Диагноз ФЛ во всех случаях был верифицирован с помощью иммуногистохимического исследования биопсийного материала первичной опухоли. Морфологическую и иммуногистохимическую диагностику ФЛ, а также гистологическое исследование трепанобиоптатов КМ проводили в отделе патологической анатомии опухолей человека по результатам исследования опухолевой ткани в соответствии с критериями классификации опухолей кроветворной и лимфоидной тканей Всемирной организации здравоохранения (2008) [1].

Исследование показателей гемопоэза, иммунофенотипирование опухоли по криостатным срезам, а также исследование субпопуляций лимфоцитов КМ методом проточной цитометрии проводились в лаборатории иммунологии гемопоэза.

Статистическую обработку результатов исследования выполняли с использованием программы SPSS 16.0 for Windows.

### Результаты и обсуждение

Исследование КМ проведено у 78 больных ФЛ. Общая характеристика иммунофенотипа опухолевых клеток представлена в табл. 1.

**Таблица 1.** Иммунофенотипическая характеристика лимфоцитов костного мозга в случаях поражения при фолликулярной лимфоме

Маркеры	N	Минимум	Максимум	Среднее	Стандартная ошибка среднего
<b>Т-лимфоциты</b>					
CD3	78	2,30	67,70	22,8756	1,86942
CD7	73	2,20	64,70	22,4603	1,87915
CD5+19 –	58	1,30	62,10	18,8448	2,06258
CD4	69	1,00	50,00	11,7290	1,21106
CD8	68	0,70	51,40	12,8824	1,38382
<b>В-лимфоциты</b>					
CD20	73	0,10	99,70	55,0219	3,16459
CD19	75	1,20	96,70	58,4040	3,03544
CD19+CD23 –	43	0,20	95,10	30,6442	3,55357
CD19+CDD23+	62	0,20	99,80	40,2903	4,19729
CD19+CD5 –	43	1,70	99,40	64,5930	4,06902
CD19+CD5+	65	0,10	92,40	5,9785	1,48672
CD22	14	1,00	98,60	65,8643	9,79761
Мембранные Ig-каппа	22	0,00	90,00	30,5409	7,86474
Мембранные Ig-лямбда	19	0,10	95,60	39,3684	9,63585
<b>Дополнительные маркеры</b>					
HLA-DR	65	9,20	97,60	65,1554	2,82077
CD38	73	0,50	96,90	25,3877	2,92508
CD10	61	0,00	92,40	27,2426	3,67968
CD21	30	0,10	96,90	25,7967	4,99242
CD23	60	0,30	99,80	40,2933	4,30600

Как видно из табл. 1, диапазон Т-лимфоцитов достаточно широк. Уровень В-клеток был низким в случаях отсутствия поражения КМ и высоким при наличии специфического поражения КМ при ФЛ (максимум по CD20+ 99,7 %). В отдельных случаях изучены маркеры и их комбинации, используемые для дифференциальной диагностики мелко-клеточных лимфом: CD79, CD43, CD81, CD200, CD31, CD305, CD11c, CD103, CD95, CD185, CD49d, CD62L, CD39, CD27. Ни в одном из этих случаев не был подтвержден диагноз хронического лимфолейкоза

(В-ХЛЛ), мантийноклеточной лимфомы, лимфомы из клеток маргинальной зоны, лимфоплазмочитарной лимфомы, волосатоклеточного лейкоза. Во всех случаях иммунофенотипическая характеристика лимфоидных клеток соответствовала ФЛ.

В табл. 2 сопоставлены уровни различных субпопуляций лимфоцитов у больных с наличием поражения по данным гистологического исследования трепанобиоптатов КМ и при отсутствии такового.

**Таблица 2.** Количественное сопоставление уровней различных субпопуляций лимфоцитов костного мозга у больных с наличием поражения костного мозга (по данным гистологического исследования) и при отсутствии такового

Маркер, CD	Поражение костного мозга	N	Среднее	Стандартная ошибка среднего	p
CD3	нет	10	30,3100	5,36637	нд
	есть	32	21,6219	3,09294	
CD7	нет	11	29,8818	5,41952	нд
	есть	28	20,7607	3,03363	
CD5+CD19 –	нет	6	27,4333	6,29050	нд
	есть	19	16,7789	3,88377	
CD4	нет	10	11,1700	2,05091	нд
	есть	29	12,3690	2,13165	
CD8	нет	10	21,8800	4,47933	0,005
	есть	28	10,0643	1,74853	
CD20	нет	8	30,4500	13,07627	0,011
	есть	30	58,0100	4,09746	
CD19	нет	11	36,0273	10,75636	0,013
	есть	27	60,4593	4,12279	
CD19+CD23 –	нет	6	29,6167	13,95993	нд
	есть	16	32,7000	5,09521	
HLA-DR	нет	9	48,8000	11,33653	нд
	есть	24	63,0292	4,24436	
CD38	нет	10	27,5300	7,97329	нд
	есть	30	20,6100	4,00341	
CD10	нет	8	13,1875	4,68331	0,047
	есть	25	29,2240	6,13737	
CD21	нет	3	2,0000	0,50332	0,056
	есть	12	15,4250	6,28543	

**Примечание.** нд – различия недостоверны.

Как видно из табл. 2, лишь в случаях ФЛ без поражения КМ достоверно повышено содержание

цитотоксических клеток CD8+ в КМ. При наличии поражения по данным гистологического исследования трепанобиоптатов КМ, как и следовало ожидать, был повышен уровень всех В-клеток (CD19+, CD20+), а также CD10-позитивных лимфоцитов.

Мы сравнили субпопуляционный состав лимфоцитов КМ у больных ФЛ в зависимости от первичного иммунофенотипа опухоли. Статистически достоверные данные получены в зависимости от экспрессии антигена CD10 (табл. 3).

**Таблица 3.** Особенности субпопуляционного состава лимфоцитов костного мозга у больных фолликулярной лимфомой в зависимости от экспрессии CD10 на клетках первичной опухоли

Маркер, CD	CD10	N	Среднее	Стандартная ошибка среднего	p
CD5+ CD19 –	нет	8	32,2125	7,57926	0,021
	есть	12	13,4667	3,39564	
CD20	нет	10	38,0300	7,91658	0,055
	есть	18	59,0444	6,62203	
CD19+ CD5 –	нет	7	32,8714	9,46094	0,033
	есть	9	63,1444	8,60029	
CD10	нет	5	3,2800	0,73308	0,000
	есть	19	35,2158	7,10091	

**Примечание.** Сопоставление проведено по всем субпопуляциям, представленным в табл. 2. В табл. 3 представлены только достоверные различия.

Уровень Т-клеток (в данном случае CD5+CD19-лимфоциты) был достоверно более высоким в CD10-негативных случаях ФЛ. Следует отметить, что общее содержание Т-клеток, выявляемых по маркерам CD3 и CD7, также было более высоким в CD10-негативных случаях, однако по этим маркерам различия не были достоверными: для CD3 средние значения  $28,4 \pm 5,95$  ( $n = 11$ ) и  $20,4 \pm 3,52$  ( $n = 22$ ), для CD7 –  $27,2 \pm 6,0$  ( $n = 11$ ) и  $18,7 \pm 3,5$  ( $n = 19$ ).

Вместе с тем уровень В-клеток в КМ был более высоким в CD10-позитивных случаях ФЛ, что наиболее отчетливо наблюдается на примере CD19+CD5-субпопуляции. Интересно отметить, что злокачественные клетки КМ сохраняли CD10+ иммунофенотип. Это совсем не очевидно, так как хорошо известно, что при выходе за пределы фолликулярной клетки ФЛ могут утрачивать антиген CD10 [7].

Экспрессия CD23, CD21 на опухолевых клетках, а также наличие CD21+ фолликулярных дендритных клеток в опухолевой ткани не были взаимосвязаны с субпопуляционным составом, а также особенностями иммунофенотипа лимфоидных клеток КМ. Наличие CD23+ фолликулярных дендритных клеток

ассоциировалось с большей пропорцией CD19+CD23+ клеток в КМ:  $11,7 \pm 6,1$  % ( $n = 5$ ) и  $36,9 \pm 8,96$  % ( $n = 16$ ),  $p = 0,033$ . Определенная тенденция ( $p < 0,05$ ) отмечена для более высоких уровней В-клеток (CD19+, CD10+, HLA-DR+) в КМ больных CD38-позитивной ФЛ, однако число пациентов с CD38-негативным иммунофенотипом было крайне мало ( $n = 3$ ).

Интересным, с нашей точки зрения, оказалось влияние Т-клеточного микроокружения ФЛ с метастатическим поражением КМ при данном типе опухоли. В случаях выраженной Т-клеточной инфильтрации опухоли уровни В-клеток со специфическим для ФЛ иммунофенотипом (CD10+, CD19+CD23+) были достоверно более низкими,  $p = 0,001$  и  $0,048$  соответственно.

У большинства больных ФЛ иммунофенотипирование лимфоцитов КМ было проведено на фоне их повышенного содержания. Сравнение субпопуляционного состава лимфоцитов у этой группы больных и больных с нормальным или сниженным количеством лимфоцитов в КМ представлено в табл. 4.

Главный вывод, который можно сделать на основании анализа данных табл. 4, заключается в том, что повышенное содержание лимфоцитов достоверно ассоциируется с повышенным содержанием Т-клеток: CD3, CD5, CD7, CD4, CD8. Вместе с тем содержание зрелых В-клеток, измеряемых на основании мембранной экспрессии антигенов CD20 и CD22, является абсолютно идентичным в 2 сравниваемых группах. Количество В-клеток (CD19+, CD19+CD5-) было более высоким у больных, содержание лимфоцитов в КМ у которых не было повышено. Аналогичные данные получены для всех дополнительных маркеров, используемых при дифференциальной диагностике ФЛ (HLA-DR, CD23, CD10, CD38). Следовательно, повышенное содержание лимфоцитов КМ у больных ФЛ не является указанием на специфическое поражение КМ, так как чаще всего ассоциировано с достоверным увеличением уровня Т-клеток. При этом уровень зрелых В-лимфоцитов в группах с нормальным и сниженным содержанием лимфоцитов также повышен в сравнении с нормой. Напротив, уровни клеток, экспрессирующих маркеры, применяемые в дифференциальной диагностике ФЛ, выше у больных с нормальным или сниженным содержанием лимфоцитов. По этим причинам верификация поражения КМ у больных ФЛ должна быть только иммунологической.

Мы сравнили субпопуляционный состав лимфоцитов КМ с особенностями костномозгового кроветворения у больных ФЛ. Наиболее частым отклонением являлось повышение уровня оксифильных нормобластов, наблюдаемое в анализируемой группе в 69 % случаев. Сравнение субпопуляционного состава

**Таблица 4.** Сопоставление субпопуляционного состава лимфоцитов костного мозга у больных фолликулярной лимфомой в зависимости от наличия лимфоцитоза в костном мозге

Маркер, CD	Лимфоцитоз	N	Среднее	Стандартная ошибка среднего	p
CD3	есть	44	21,0477	2,02323	0,009
	нет	8	7,9625	1,43265	
CD7	есть	37	20,2297	2,13617	0,002
	нет	9	9,4444	1,88518	
CD5+CD19-	есть	31	19,6065	2,54463	0,019
	нет	7	6,1429	1,59551	
CD4	есть	38	10,9211	1,29787	0,037
	нет	6	3,7833	0,77003	
CD8	есть	38	10,3421	1,13488	0,032
	нет	6	3,9167	,62419	
CD20	есть	41	61,8146	3,93600	0,830
	нет	9	63,8222	7,48274	
CD19+CD23-	есть	24	34,2792	4,56180	0,220
	нет	2	14,1000	0,10000	
CD19+CD23+	есть	39	42,8231	5,43344	0,04
	нет	7	69,5429	9,94080	
CD19+CD5-	есть	21	72,5857	4,71191	0,010
	нет	5	89,5800	3,63296	
CD19+CD5+	есть	40	5,6825	0,92440	0,180–0,014
	нет	8	2,8000	0,63920	
CD19	есть	38	65,6868	2,61593	0,003
	нет	9	83,6667	4,05822	
Каппа цепь sIg	есть	15	32,8667	9,55514	0,350
	нет	3	56,0333	26,46094	
Лямбда цепь sIg	есть	12	31,0167	12,20308	0,97
	нет	3	32,2000	31,70021	
CD22	есть	7	65,8714	16,89738	0,99
	нет	6	0,65,6667	13,51213	
HLA-DR	есть	33	69,9424	2,92221	0,004
	нет	8	82,6750	2,71496	
CD38	есть	42	20,6452	3,53140	0,040
	нет	8	40,9750	12,50781	
CD10	есть	34	24,7324	4,67723	0,067
	нет	9	45,2444	11,83460	
CD21	есть	22	33,6727	5,96952	0,000
	нет	2	6,6000	0,00000	
CD23	есть	29	46,1138	6,39498	0,000
	нет	4	80,2500	2,56694	

**Примечание.** Термином «лимфоцитоз» обозначено содержание лимфоцитов выше верхней границы нормы.



Таблица 5. Сравнение субпопуляционного состава лимфоцитов в группах с повышенным и нормальным содержанием оксифильных нормобластов

Маркер CD	Оксифильные нормобласты	N	Среднее	Стандартная ошибка среднего	p
CD33	норма	27	21,1852	2,81379	нд
	увеличены	21	18,7143	2,48855	
CD7	норма	22	19,2409	2,89134	нд
	увеличены	20	19,2300	2,62765	
CD5+CD19 –	норма	23	17,7435	2,90525	нд
	увеличены	11	20,6364	4,28030	
CD4	норма	21	10,7190	1,86120	нд
	увеличены	19	10,4842	1,70229	
CD8	норма	21	10,0810	1,71442	нд
	увеличены	19	9,8842	1,37158	
CD22	норма	26	67,5462	5,17018	0,054
	увеличены	20	53,8650	4,57792	
CD19+CD23 –	норма	16	32,0062	6,43100	нд
	увеличены	8	32,6625	4,24062	
CD19+CDD23+	норма	24	53,8708	7,10856	нд
	увеличены	18	38,8556	7,15996	
CD19+CD5 –	норма	15	78,7133	5,22328	нд
	увеличены	8	67,3250	8,15727	
CD19+CD5+	норма	26	5,0885	0,92411	нд
	увеличены	18	5,4556	1,66700	
HLA-DR	норма	20	73,2800	4,05049	нд
	увеличены	17	68,3294	3,40149	
CD38	норма	26	21,6500	4,88651	нд
	увеличены	20	26,0800	5,32446	
CD10	норма	24	24,8708	5,71211	нд
	увеличены	15	33,7600	8,01405	
CD21	норма	15	26,8000	6,85084	нд
	увеличены	7	29,5429	9,98818	
CD19	норма	25	72,2200	3,35220	0,03
	увеличены	18	61,1889	3,41027	
CD23	норма	16	50,2125	9,09345	нд
	увеличены	13	53,2077	8,47612	
каппа	норма	9	33,8778	13,03432	нд
	увеличены	8	33,8875	13,36714	
лямбда	норма	9	42,2333	15,70206	нд
	увеличены	5	17,6800	15,76913	
CD22	норма	8	77,0375	11,08836	0,011
	увеличены	2	1,2500	0,25000	

Примечание. нд – различия недостоверны.

лимфоцитов в группах с повышенным и нормальным содержанием оксифильных нормобластов приведено в табл. 5.

Интересно отметить, что только уровень зрелых В-лимфоцитов (CD19, CD20, CD22) был достоверно более высоким у больных с нормальным содержанием оксифильных нормобластов. Это еще раз подтверждает выдвинутое нами ранее на основании гистологического анализа поражения КМ предположение о том, что увеличение количества оксифильных форм не обусловлено выраженностью метастатического поражения КМ, так как наибольшее увеличение количества В-клеток наблюдается при нормальном содержании оксифильных нормобластов в миелограмме.

### Заключение

Полученные нами данные свидетельствуют о наличии достоверных взаимосвязей субпопуляционного состава лимфоцитов у больных ФЛ с наличием гистологически документированного поражения КМ, особенностями иммунофенотипа первичной опухоли и опухолевого микроокружения, а также особенностями гемопоэза у больных ФЛ.

В случаях ФЛ без поражения КМ достоверно повышено содержание цитотоксических клеток CD8+ в КМ. При наличии поражения по данным гистологического исследования трепанобиоптатов КМ был повышен уровень всех В-клеток (CD19+, CD20+), а также CD10-позитивных лимфоцитов.

Уровень Т-клеток (CD5+CD19- лимфоциты) был достоверно более высоким в CD10-негативных

случаях ФЛ. Вместе с тем количество В-клеток в КМ было выше в CD10-позитивных случаях ФЛ, что наиболее отчетливо наблюдается на примере CD19+CD5- субпопуляции. Злокачественные клетки КМ сохраняли CD10+ иммунофенотип.

Т-клеточное микроокружение ФЛ было взаимосвязано с метастатическим поражением КМ: в случаях выраженной Т-клеточной инфильтрации первичной опухоли уровни В-клеток со специфическим для ФЛ иммунофенотипом (CD10+, CD19+CD23+) достоверно более низкие,  $p = 0,001$  и  $0,048$  соответственно.

Повышенное содержание лимфоцитов в КМ достоверно ассоциируется с повышенным содержанием Т-клеток: CD3, CD5, CD7, CD4, CD8. Вместе с тем содержание зрелых В-клеток (CD20+, CD22+) одинаковое в 2 сравниваемых группах, а содержание В-лимфоцитов (CD19+, CD19+CD5-), а также В-клеток, экспрессирующих HLA-DR, CD23, CD10, CD38, было более высоким при отсутствии лимфоцитоза в КМ. По этим причинам верификация поражения КМ у больных ФЛ должна быть только иммунологической.

Уровни зрелых В-лимфоцитов (CD19, CD20, CD22) были достоверно более высокими у больных с нормальным содержанием оксифильных нормобластов. Следовательно, увеличение количества оксифильных форм не обусловлено выраженностью метастатического поражения КМ, так как наибольшее увеличение количества В-клеток наблюдается при нормальном содержании оксифильных нормобластов в миелограмме.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. et al. (Eds.) WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. WHO Press, 2008. P. 439.
2. Tsujimoto Y., Gorham J., Cossman J. et al. The t (14;18) chromosome translocations involved in B-cell neoplasms result from mistakes in VDJ joining. Science 1985;229(4720):1390–3. PMID: 3929382.
3. Almasri N.M., Duque R.E., Iturraspe J. et al. Reduced expression of CD20 antigen as a characteristic marker for chronic lymphocytic leukemia. Am J Hematol 1992;40:259–63. PMID: 1380203.
4. van Dongen J.J., Lhermitte L., Botcher S. et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leucocytes. Leukemia 2012;26:1908–75. DOI: 10.1038/leu.2012.120. PMID: 22552007. PMCID: PMC3437410.
5. Dave S.S., Wright G., Tan B. et al. Prediction of survival in follicular lymphoma based on molecular features of tumor-infiltrating immune cells. N Engl J Med 2004;351: 2159–69. DOI: 10.1056/NEJMoa041869. PMID: 15548776.
6. Federico M., Bellei M., Marcheselli L. et al. Follicular Lymphoma International Prognostic Index 2: A New Prognostic Index for Follicular Lymphoma Developed by the International Follicular Lymphoma Prognostic Factor Project. J Clin Oncology 2009;27:4555–62. DOI: 10.1200/JCO.2008.21.3991. PMID: 19652063.
7. Dogan A., Du M.Q., Aiello A. et al. Follicular lymphoma contain a clonally linked but phenotypically distinct neoplastic B-cell population in the interfollicular zone. Blood 1998;91:4708–14. PMID: 9616169.