

Неклассифицируемая В-клеточная лимфома, занимающая промежуточное положение между диффузной В-крупноклеточной лимфомой и лимфомой Беркитта в детском возрасте

Т.Т. Валиев¹, О.В. Морозова¹, А.М. Ковригина², Т.Н. Обухова², А.В. Попа¹, Г.Л. Менткевич¹

РЕФЕРАТ

B-cell lymphoma, unclassifiable, with intermediate features between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma in children

T.T. Valiev¹, O.V. Morozova¹, A.M. Kovrigina², T.N. Obukhova², A.V. Popa¹, G.L. Mentkevich¹

SUMMARY

Differential diagnosis between Burkitt lymphoma (BL) and diffuse large B-cell lymphoma (DLBL) can be very difficult because of similar morphologic and immunologic features. The analysis of wide diagnostic antibody panel revealed cases, which have the same characteristics for BL and DLBL. All these data provided the appearance of B-cell lymphoma, unclassifiable, with intermediate features between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma (BLU) in WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues (2008). This article for the first time in Russian literature presents a case of BLU in children with detail characteristics of clinical, morphologic, immunologic and cytogenetic features of BLU. Proper diagnosis and adequate treatment program lead to complete remission (about 2 years).

Keywords: B-cell lymphoma, unclassifiable, diffuse large B-cell lymphoma, Burkitt lymphoma, diagnosis, treatment, children.

¹ Paediatric Oncology and Haematology Research Institute of N.N. Blokhin Cancer Research Center RAMS, Moscow

² Russian Hematology Scientific Center, Ministry of Health, Moscow

Контакты: timurvaliev@mail.ru

Принято в печать: 30 сентября 2011 г.

Дифференциальная диагностика лимфомы Беркитта (ЛБ) и диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ) может оказаться сложной в связи со сходными морфо-иммунологическими данными. Анализ расширенной панели антител, исследования цитогенетических особенностей опухоли позволили в группе ЛБ и ДВККЛ выделить случаи, которые имеют особенности, характерные как для ЛБ, так и для ДВККЛ. Все это привело к появлению в классификации опухолей кроветворной и лимфоидной тканей ВОЗ (2008) неклассифицируемой В-клеточной лимфомы (БЛН), занимающей промежуточное положение между ДВККЛ и ЛБ. В статье впервые в отечественной литературе приводится описание случая БЛН у ребенка и детально разбираются клинические, морфо-иммунологические и цитогенетические данные БЛН. Правильная диагностика и выбор оптимальной программы терапии позволили получить полную ремиссию у ребенка с БЛН, которая продолжается уже около 2 лет.

Ключевые слова:

неклассифицируемая В-клеточная лимфома, диффузная В-крупноклеточная лимфома, лимфома Беркитта, диагностика, лечение, дети.

Лимфомы из периферических В-клеток в детском возрасте представлены, как правило, вариантами высокой степени злокачественности: лимфомой Беркитта (ЛБ) и диффузной В-крупноклеточной лимфомой (ДВККЛ) [1]. Для обоих вариантов характерны агрессивное клиническое течение с полиорганным поражением, зрелоклеточный В-клеточный иммунофенотип опухоли (CD19, CD20, CD22), высокая пролиферативная активность. Гистологически ДВККЛ представлена центробластным, иммунобластным и анапластическим вариантами, тогда как при ЛБ у детей определяется «классический» морфологический вариант. Иммуногистохимически ДВККЛ может быть представлена вариантом из клеток зародышевого центра фолликула (germinal center B-cell-like — GCB) и негерминально-клеточным вариантом

(non-GCB) [2]. Опухолевые клетки ЛБ экспрессируют CD10, BCL6, IgM. При ЛБ почти во всех случаях определяется хромосомные aberrации с вовлечением протоонкогена c-MYC: t(8;14)(q24;q32) или варианты транслокации t(2;8)(p12;q24), t(8;22)(q24;q11) [3, 4]. Примерно в 5–10 % случаев при ЛБ не удается выявить перестроек гена c-MYC. В последние годы все больший научный интерес представляет новый класс некодирующих РНК — miRNA, которые обеспечивают посттранскрипционный контроль экспрессии генов, в т. ч. и протоонкогена c-MYC. В ряде работ было показано, что случаи ЛБ без реаранжировок гена c-MYC имеют специфические изоформы miRNA, чего не отмечается при ДВККЛ [5, 6].

В литературе описаны варианты ДВККЛ с экспрессией CD10, BCL6, IgM а также варианты с перестройкой

¹ НИИ детской онкологии и гематологии РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

² ФГБУ ГНЦ МЗСР РФ, Москва

с-МУС в 5–15 % случаев, что создает дополнительные трудности на пути к правильному диагнозу [4]. Все это привело к тому, что на основании критериев морфо-иммунологического перекреста была выделена группа лимфом, составляющих так называемую серую зону. Позднее из «серой зоны» впервые в классификации опухолей кроветворной и лимфоидной тканей ВОЗ в 2008 г. была выделена в качестве самостоятельной нозологической единицы неклассифицируемая В-клеточная лимфома (БЛН), занимающая промежуточное положение между ЛБ и ДВККЛ [2, 7, 8].

Клиническое течение БЛН отличается быстрой диссеминацией опухоли с вовлечением экстранодальных органов, костного мозга и ЦНС. В отличие от ЛБ, для которой наиболее часто характерно поражение илеоцекальной области, при БЛН такой тенденции не наблюдается. Опухолевые клетки БЛН мельче, чем при ДВККЛ, в гистологических препаратах обращает на себя внимание картина «звездного неба», индекс пролиферативной активности, анализируемый по экспрессии Ki-67/MIB1, более 90 %, иногда наблюдается экспрессия VCL2 (при ЛБ VCL2 не экспрессируется либо его экспрессия слабая). Достаточно часто определяются перестройки гена МУС. Еще одним отличительным признаком БЛН от ЛБ служит локус, куда в результате транслокации перестраивается МУС. Так, если при ЛБ МУС перемещается в локусы генов легких или тяжелых цепей иммуноглобулинов, то при БЛН транслокации с вовлечением гена МУС не связаны с генами иммуноглобулинов. Значительно реже происходят транслокации гена VCL6 и сложные аберрации кариотипа, чего не описано при классической ЛБ [9]. В мировой литературе случаи БЛН представлены в виде описания единичных наблюдений [10, 11], поэтому каждый новый случай этого редкого варианта неходжкинских лимфом представляет несомненный интерес. Приводим описание собственного наблюдения.

Больной С., 14 лет, с февраля 2009 г. отметил увеличение правого шейного лимфоузла и повышение температуры тела до 39 °С. По месту жительства был установлен диагноз лимфаденита правого шейного лимфоузла, по поводу чего проводилась антибактериальная терапия, после чего температура тела нормализовалась, лимфоузел уменьшился. В начале июня произошло увеличение левой нёбной миндалины, в связи с чем снова по месту жительства была назначена антибактериальная терапия, которая не привела к какому-либо клиническому эффекту. Для дообследования и лечения больной был направлен в НИИ ДОГ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.

При поступлении общее состояние больного средней тяжести. При осмотре полости рта обращало на себя внимание резкое увеличение левой миндалины, которая практически полностью перекрывала просвет глотки. На поверхности миндалины отмечались участки кровоизлияний. При пальпации определялись шейные лимфоузлы с двух сторон до 3–4 см в диаметре, плотноэластические, ограниченно подвижные, безболезненные. Со стороны других органов и систем патологии при осмотре выявлено не было.

В общем анализе крови от 25.06.09 г. лейкоциты составляли $6,9 \times 10^9/\text{л}$, гранулоциты — $4,0 \times 10^9/\text{л}$, эритроциты — $4,47 \times 10^{12}/\text{л}$, гемоглобин — 123 г/л, тромбоциты — $267 \times 10^9/\text{л}$. Данные биохимического анализа крови от 22.06.09 г.: глюкоза — 5,9 ммоль/л, мочевины — 5,2 ммоль/л, креатинин — 76,5 мкмоль/л, общий билирубин — 5,7 мкмоль/л, общий белок — 72,5 г/л, альбумин — 45,8 г/л, аланинаминотрансфераза — 24 ЕД/л, аспартатаминотрансфераза — 19 ЕД/л, лактатдегидрогеназа — 348 ЕД/л. При исследовании спинномозговой

жидкости 26.06.09 г. патологии не выявлено. В миелограмме данных за опухолевое поражение костного мозга не было.

При рентгенологическом исследовании носоглотки 26.06.09 г. отмечалось сужение ее просвета за счет тени патологического образования с бугристыми полициклическими контурами, которое находилось в проекции глоточной миндалины.

По данным рентгенологической компьютерной томографии (РКТ) 19.06.09 г. очаговых и инфильтративных изменений в легких не выявлено, внутригрудные лимфоузлы не увеличены. Размер тимуса 3,3 см в поперечнике. В левой аксиллярной области определялся единичный лимфатический узел до 1,5 см в диаметре. В области верхнего и нижнего полюсов селезенки, ее ворот визуализировались округлые образования с четкими контурами диаметром до 2 см. На границе головки и тела поджелудочной железы определялось объемное образование однородной структуры, мягкотканное, размером $4,8 \times 4,4$ см в поперечнике.

При ультразвуковом исследовании (УЗИ) 19.06.09 г. определялись увеличенные лимфоузлы шеи размером $3,7 \times 1,5$ см; гипоехогенное узловое образование в области хвоста поджелудочной железы $4,5 \times 3,0 \times 4,7$ см.

По результатам позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) с ^{18}F -FDG, проведенной 23.06.09 г., на серии томограмм всего тела при исследовании метаболизма глюкозы определялись множественные конгломераты очагов гиперметаболизма в проекции носоглотки, расположенные центрально, с размером $4,6 \times 3,1$ см, в проекции ротоглотки — $5,4 \times 3,1$ см, в проекции шейных лимфоузлов слева — $3,5 \times 2,3$ см, в забрюшинном пространстве на уровне X–XI грудных позвонков (тело поджелудочной железы?) $6,4 \times 4,8$ см. Кроме того, в проекции нижнего полюса селезенки визуализировался единичный очаг размером $2,5 \times 1,5$ см. В правой половине брюшной полости обнаружен очаг гиперметаболизма глюкозы размером $3,8 \times 2,0$ см (брыжеечные лимфоузлы?)

24.06.09 г. была проведена биопсия левой миндалины, при цитологическом исследовании которой определялись лимфобласты типа L2 (по FAB-классификации), но часть опухолевых клеток была с интенсивно-базофильной и вакуолизированной цитоплазмой, что не исключало присутствия лимфобластов типа L3.

При гистологическом исследовании в ткани миндалины отмечалось диффузное разрастание лимфомы из клеток среднего размера с небольшими ядрышками, высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, пиронинофильной цитоплазмой, частыми митозами, выраженными признаками апоптоза. На отдельных участках наблюдается полиморфизм опухолевых клеток. Среди опухолевого инфильтрата дискретно расположены макрофаги с фагоцитозом апоптотических телец. Морфологическая картина оказалась не совсем типичной для «классического» варианта ЛБ, поскольку отмечались участки опухолевой ткани с полиморфным клеточным составом, и для дифференциального диагноза между ЛБ и ДВККЛ с высоким уровнем пролиферативной активности было выполнено иммуногистохимическое исследование (ИГХ). По данным ИГХ на клетках опухолевого инфильтрата выявлена мономорфная интенсивная мембранная реакция с CD20. Практически во всех опухолевых клетках определялись антигены CD10 и VCL2. Экспрессия TdT на опухолевых клетках отсутствовала. Экспрессия MuM1 была выражена слабо (примерно в 50 % опухолевых клеток). При проведении иммуногистохимической реакции с антителом к протоонкогену TCL1 в клетках опухоли определялась умеренной интенсивности ядерно-цитоплазматическая реакция. Индекс пролиферативной активности, анализируемый по

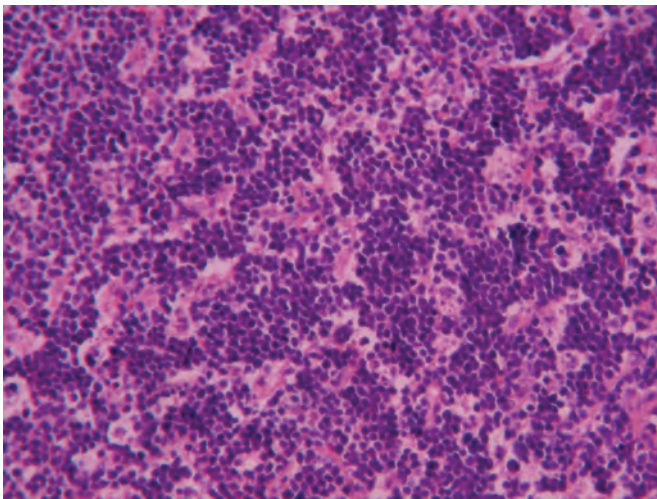


Рис. 1. Морфологическая картина, сходная с лимфомой Беркитта. Минимальные признаки полиморфизма опухолевых клеток. Окраска гематоксилином и эозином

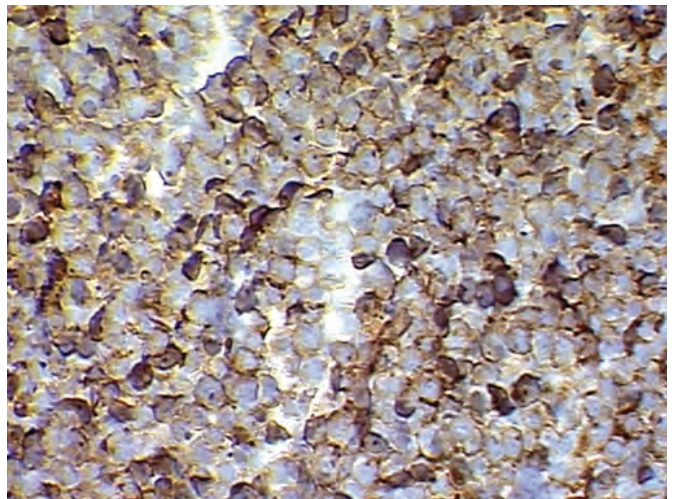


Рис. 2. Экспрессия опухолевыми клетками CD10 (мембранная реакция). Иммунопероксидазный метод

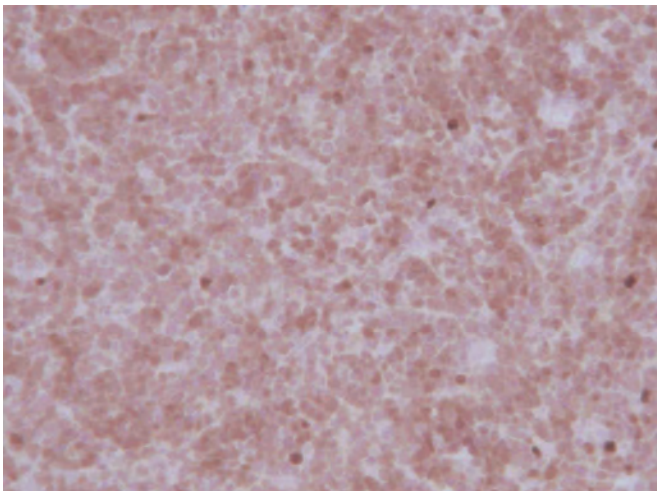


Рис. 3. Экспрессия опухолевыми клетками MUM1 (слабая ядерная реакция в большинстве опухолевых клеток. Интенсивная ядерная реакция в отдельных Т-клетках). Иммунопероксидазный метод

маркеру Ki-67, достигал 90%. На опухолевых клетках не определялись антигены CD38 и CD44, т. е. иммуногистохимический алгоритм свидетельствовал об отсутствии реаранжировки с-MYC (рис. 1–3).

Таким образом, наличие экспрессии BCL2 и слабой реакции MUM1, а также отсутствие экспрессии CD38 не позволили верифицировать диагноз ЛБ. Учитывая, что при ЛБ, как правило, определяются клональные реаранжировки с вовлечением гена с-MYC, была выполнена флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) на парафиновых блоках с ДНК-зондами LSIc-MYC/IgHLSIc-MYC (Vysis), по результатам которой транслокации с вовлечением гена с-MYC/8q24 выявлены не были.

Следовательно, на основании клинико-лабораторных и инструментальных методов исследования был установлен следующий диагноз: неклассифицируемая В-клеточная лимфома, занимающая промежуточное положение между ДВККЛ и ЛБ с поражением носо- и ротоглотки, миндалин, шейных лимфоузлов слева, лимфоузлов брюшной полости, поджелудочной железы, селезенки; III стадия, 2-я прогностическая группа риска.

С 26.06.09 по 30.06.09 г. начато лечение — циторедуктивная предфаза по протоколу В-NHL-BFM95 (дексаметазон и циклофосфамид). Профилактика нейрорлейкоза

проводилась эндолумбальным введением метотрексата, преднизолона и цитарабина. При контрольном обследовании после проведенной циторедуктивной предфазы отмечено значительное сокращение левой миндалины, по данным УЗИ лимфоузлы шеи уменьшились до нормального размера, тогда как размеры опухолевого образования в поджелудочной железе практически не изменились и составили 4,6 × 3,5 × 3,8 см.

С 01.07.09 по 05.07.09 г. проведен блок А протокола В-NHL-BFM95 (дексаметазон, метотрексат, винкристин, ифосфамид, этопозид, цитарабин), а с 27.07.09 по 31.07.09 г. проведен блок В, включающий следующие препараты: дексаметазон, метотрексат, винкристин, циклофосфамид и доксорубин. Замедленной элиминации метотрексата не отмечалось, миелотоксический агранулоцитоз развивался на 5–7-й день перерыва после применения блока и продолжался 4–5 дней. Эпизоды фебрильной нейтропении разрешались на фоне антибактериальной терапии первой линии (цефалоспорины и аминогликозиды).

Для оценки терапевтического эффекта после проведенной терапии 10.08.09 г. была выполнена ПЭТ, по результатам которой данных, показывающих наличие активной специфической ткани, не получено, что позволило констатировать полный эффект лечения. С целью консолидации, согласно протоколу терапии, было проведено еще два блока лечения (А и В), в каждом блоке профилактика нейрорлейкоза выполнялась за счет эндолумбального введения метотрексата, цитарабина и преднизолона. Переносимость терапии была удовлетворительной. Эпизоды фебрильной нейтропении успешно купировались назначением цефтазидима и амикацина. С заместительной целью однократно проводилась трансфузия эритроцитной массы без осложнений и реакций.

Программа терапии была закончена 18.09.09 г., восстановление показателей крови и купирование инфекционного синдрома позволили выписать больного 29.09.09 г.

По данным ПЭТ, проведенной в октябре 2009 г., сохранился полный терапевтический эффект. В январе 2010 г. было выполнено радионуклидное исследование всего тела с ⁶⁷Ga-цитратом, по заключению которого скintiграфических признаков специфического поражения органов и систем не получено.

В августе 2011 г. по данным РКТ и УЗИ первично вовлеченных в опухолевый процесс зон признаков опухолевого образования нет.

Приведенный случай демонстрирует важность проведения всего комплекса имеющихся на сегодня методов диагностики лимфом. Методы морфологической верификации диагноза вместе с ИГХ расширенной панели опухолевых антигенов, а также FISH на гистологических блоках позволили определить особенности данного варианта В-клеточной лимфомы. С одной стороны, имелось поражение носо- и ротоглотки, при цитологическом исследовании были обнаружены лимфобласты типа L3, а гистологически определялось диффузное разрастание лимфомы из клеток среднего размера с небольшими ядрышками, высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, пиронинофильной цитоплазмой и картина «звездного неба», что наряду с экспрессией опухолевыми клетками CD10 и CD20 в большей степени свидетельствовало в пользу ЛБ. Тем не менее присутствовавшие в гистологических препаратах участки полиморфизма опухолевых клеток и экспрессия BCL2 при слабой реакции с МиМ1, а также отсутствие экспрессии CD38 не позволили верифицировать диагноз ЛБ. Кроме того, отсутствие хромосомных aberrаций с вовлечением гена c-MYC по данным FISH противоречило диагнозу ЛБ.

С другой стороны, учитывая клинические особенности, локализации опухоли, цитологический состав и характеристику опухолевого роста в гистологических препаратах, не было возможности отнести данную зрелоклеточную В-клеточную лимфому ни к одному из известных вариантов ДВККЛ. Описанные особенности клинико-морфоиммунологической и цитогенетической картины позволили дифференцировать этот клинический случай как БЛН.

Таким образом, только в результате комплексной диагностики, основанной на морфо-иммунологическом и цитогенетическом исследованиях опухолевого субстрата, можно провести дифференциальный диагноз между ЛБ, ДВККЛ

и БЛН. Современные методы изучения лимфоогенеза на молекулярно-генетическом и иммунологическом уровнях ведут к более глубокому пониманию механизмов биологии опухолевой клетки. Получаемые данные позволяют обнаружить гетерогенность в рамках существующих нозологических единиц и выделить новые варианты заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Валиев Т.Т. Клинико-морфоиммунологические особенности неходжкинских лимфом у детей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2009.
2. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lion: IARC, 2008: 439.
3. Барях Е.А., Кравченко С.К., Кременецкая А.М. и др. Лейкоз/лимфома Беркитта: клинические особенности, диагностические критерии, терапевтическая тактика. Клини. онкогематол. 2010; 3(2): 138–43.
4. Frost M., Newell J., Lones M.A. et al. Comparative immunohistochemical analysis of pediatric Burkitt lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma. Am. J. Clin. Pathol. 2004; 121(3): 384–92.
5. Leucci E., Cocco M., Onnis A. et al. MYC translocation-negative classical Burkitt lymphoma cases: an alternative pathogenetic mechanism involving miRNA deregulation. J. Pathol. 2008; 216(4): 440–50.
6. Onnis A., De Falco G., Antonicelli G. et al. Alteration of MicroRNAs regulated by c-MYC in Burkitt lymphoma. PlosONE 2010; 5 (Issue 9): 1–9.
7. Bellan C., Stefano L., Giulia de F. et al. Burkitt lymphoma versus diffuse large B-cell lymphoma: a practical approach. Hematol. Oncol. 2009; 27(4): 182–5.
8. Salaverria I., Siebert R. The gray zone between Burkitt's lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma from a genetics perspective. J. Clin. Oncol. 2011 Apr 11 [Epub ahead of print].
9. Liang X., Greffe B., Cook B. et al. Gray zone lymphomas in pediatric patients. Pediatr. Dev. Pathol. 2011; 14(1): 57–63.
10. Jain D., Agrawal S., Chopra P. B-cell lymphoma unclassifiable with features intermediate between diffuse large B cell and Burkitt lymphoma-presented with multiple lymphomatous polyposis of gastrointestinal tract. J. Gastrointest. Cancer. 2011 Jan 7 [Epub ahead of print].
11. Gualco G., Weiss L.M., Harrington W.J. Jr. et al. Nodal diffuse large B-cell lymphomas in children and adolescents: immunohistochemical expression patterns and c-MYC translocation in relation to clinical outcome. Am. J. Surg. Pathol. 2009; 33(12): 1815–22.