

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького Національна академія наук України

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького Національна академія наук України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Поліщук Альона Станіславівна

УДК: 616 – 076.5 – 066. 44:616 – 056.7

ДИСЕРТАЦІЯ

**ІМУНОЦИТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕЯКИХ ФОРМ В-
КЛІТИННИХ НЕХОДЖКІНСЬКИХ ЛІМФОМ В СТАДІЇ
ЛЕЙКЕМІЗАЦІЇ**

091 - Біологія
09 – Біологія
14.01.07 - Онкологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____Поліщук А.С.

Науковий керівник роботи Глузман Данило Фішелевич, доктор медичних наук, професор

Київ – 2021

АНОТАЦІЯ

Поліщук А.С. Імуноцитохімічні характеристики деяких форм В-клітинних неходжкінських лімфом в стадії лейкемізації – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктор філософії у галузі знань 09 - Біологія за спеціальністю 091 – Біологія (Онкологія). – Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького Національна академія наук України. Київ, 2021.

Відповідно до даних Національного канцер-реєстру України неходжкінські лімфоми характеризуються зростанням рівня захворюваності та смертності. В Україні загальна кількість випадків захворювання на неходжкінські злоякісні лімфоми в 2020 році становила 2382 (серед них 1186 чоловіків і 1196 жінок). Показник смертності становив – 2,8 на 100 тисяч населення [2].

За даними МОЗ України, на теперішній час в Україні понад 32 тисячі людей хворіють на злоякісні лімфоми і відмічено тенденцію до зниження середнього віку захворівших. Не дивлячись на те, що близько 80% випадків лімфом є виліковними, важливою умовою успішного лікування є правильна та своєчасна діагностика.

Сучасна класифікація неходжкінських злоякісних лімфом (НХЛ) базується на аналізі клінічних даних, результатів морфологічного, імуногістохімічного, цитогенетичного і молекулярно-генетичних досліджень. Біля 85% НХЛ мають В-клітинне походження (В-НХЛ), інші лімфоїдні пухлини виникають з Т-клітин чи природних кілерних клітин (ПК-клітин).

Дана дисертаційна робота присвячена дослідженню цитоморфологічних, цитохімічних та імунофенотипових характеристик лімфоїдних клітин крові та кісткового мозку для виявлення розповсюдження патологічного процесу в організмі, проведенню диференційної діагностики та встановленню діагнозу у випадках неможливості проведення біопсії

лімфатичного вузла чи отримання матеріалу із екстранодальних осередків ураження.

Основна увага досліджень в даній дисертаційній роботі була зосереджена на порівняльному аналізі цитоморфологічних, цитохімічних та імунофенотипових характеристик субстратних клітин при деяких формах В-клітинних лімфопроліферативних захворювань, та розробці алгоритмів диференційної діагностики: В-клітинного хронічного лімфолейкозу (В-ХЛЛ), лімфоми з малих лімфоцитів (ЛМЛ), моноклонального В-клітинного лімфоцитозу (МВЛ); лімфоми червоної пульпи селезінки (ЛЧПС), волосковоклітинного лейкозу - варіанту (ВКЛ-В), волосковоклітинного лейкозу (ВКЛ), лімфоми маргінальної зони селезінки (ЛМЗС); лімфоми з клітин мантийної зони (ЛКМ), бластоїдного варіанту лімфоми клітин мантиї (БВ-ЛКМ), дифузної В-великоклітинної лімфоми (ДВВКЛ).

За результатами наших досліджень основними критеріями діагностики та встановлення діагнозу В-ХЛЛ, є наявність патологічних клітин, які за даними морфологічного дослідження є малими лімфоцитами, у яких виявляється реакція на кислу фосфатазу (КФ) від слабкої дрібногранулярної до помірної дифузногранулярної, яка інгібується при додаванні інгібіторів – іонів тартрату. Злоякісно трансформовані клітини при ХЛЛ мають наступний імунофенотип: $CD19^+$, $CD20^+$, $CD22^+$, $CD23^+$ $CD5^+$. У випадках відсутності одного з антигенів $CD23$, або $CD5$, необхідно проводити диференційну діагностику з ЛКМ (Циклін $D1^+$) та фолікулярною лімфомою (ФЛ) ($CD10^+$).

В-ХЛЛ та ЛМЛ в класифікації ВООЗ (2017 р.) пухлин лімфоїдної та кровотворної тканин розглядається як єдина нозологічна форма ХЛЛ/ЛМЛ. Основою для цього слугувала подібність їх цитоморфологічних ознак, імунофенотипу, молекулярно-генетичних та гістопатологічних особливостей. Проте на основі порівняльного аналізу було встановлено, що дані патології мають характерні відмінності. При встановленні діагнозу ХЛЛ важливими діагностичними критеріями є дифузна інфільтрація кісткового мозку субстратними клітинами ($> 30\%$) та абсолютний лімфоцитоз в крові ($>$

$5 \times 10^9/\text{л}$.). Діагноз ЛМЛ може бути встановлений у випадках коли цитоморфологічні та імунофенотипові характеристики подібні до ХЛЛ, але не спостерігаються інфільтрація кісткового мозку субстратними лімфоїдними клітинами (від 15 до 30%) та абсолютний лімфоцитоз в периферичній крові ($< 5 \times 10^9/\text{л}$).

Вперше на підставі комплексного дослідження було поглиблено охарактеризовано особливості патологічних клітин в периферичній крові (п/к) та кістковому мозку (к/м) у пацієнтів з МВЛ (новою нозологічною формою у порівнянні з попередньою класифікацією ВООЗ 2008 р.). Чи виконує дана патологія роль відправної точки у розвитку інших гематологічних патологій або ж є процесом, який розвивається в організмі безсимптомно достеменно не встановлено. В нашій роботі ми продемонстрували можливий зв'язок даного захворювання з іншими гематологічними патологіями: мієлодиспластичними синдромами (МДС), гострими мієлоїдними лейкозами (ГМЛ) та ХЛЛ, однак для підтвердження даних результатів необхідне подальше дослідження. Даний процес може бути діагностованим при умові відсутності інфільтрації кісткового мозку субстратними клітинами ($< 15\%$) та абсолютному лімфоцитозі в периферичній крові ($< 5 \times 10^9/\text{л}$.), з цитоморфологічними та імунофенотиповими характеристиками патологічних клітин подібних до В-ХЛЛ та ЛМЛ.

Вперше визначені маркерні імуноцитохімічні ознаки субстратних клітин при ЛЧПС та ВКЛ-В. Дані патології виділяються в якості окремих підгруп В-клітинної лімфоми/лейкозу селезінки некласифікованої в класифікації ВООЗ 2017 р. пухлин лімфоїдної та кровотворної тканин. Як при ЛМЗС та ВКЛ особливістю даних захворювань є наявність патологічних клітин з характерними цитоплазматичними виростами. Натомість, вперше на основі комплексного порівняльного дослідження встановлено, що ці пухлини мають ряд відмінних морфоцитохімічних та імунофенотипових характеристик. Диференційна діагностика та встановлення уточненого

діагнозу є критично важливими, враховуючи, що перебіг захворювання і прогноз при цих патологічних процесах є різними. Відрізняється і тактика лікування.

Імунофенотипова характеристика лімфоцитів з ворсинчатою цитоплазмою

	CD19	CD20	CD22	CD11c	CD25	CD103	Циклін D1
ЛМЗС	+	+	+	-/+	-/+	-/+	-
ВКЛ	+	+	+	+	+	+	+
ЛЧПС	+	+	+	+/-	-	-/+	-
ВКЛ-В	+	+	+	+	-/+	+/-	-

В класифікації ВООЗ (2017 р.) пухлин лімфоїдної та кровотворної тканин виділяють окрему нозологічну форму БВ-ЛКМ. Результати, отримані нами при проведенні імунофенотипуванні та при вивченні цитоморфологічних характеристик субстратних клітин периферичної крові та кісткового мозку, повністю узгоджуються з даними доступної літератури.

БВ-ЛКМ поділяють на два цитологічні підтипи: лімфобластний і центробластний. В нашій роботі хворих на лімфобластний підтип БВ-ЛКМ лікарі найчастіше скеровували на дослідження як лімфобластну лімфому або гостру лімфобластну лейкемію (ГЛЛ). При центробластному підтипі процес розцінюється як монобластний варіант гострої мієлоїдної лейкемії (ГМЛ М5). В частині випадків була підозра на наявність дифузної В-великоклітинної лімфоми (ДВВКЛ) в стадії лейкемізації. Складністю встановлення правильного попереднього діагнозу є морфологічна подібність субстратних клітин до бластів.

Доведено, що в субстратних клітинах при БВ-ЛКМ не виявляється мієлопероксидаза (МПО), у більшості випадків кисла неспецифічна естераза (КНЕ) – та, КФ – негативні, проте у деяких випадках спостерігається дрібногранулярна реакцію на КНЕ та КФ, яка повністю інгібувалася при додаванні іонів тартрату. У всіх хворих спектр експресованих на

поверхневих мембранах антигенів відповідав зрілим В-лімфоцитам: CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD23⁺ CD5⁺, Циклін D1⁺.

Отримані нами дані дозволяють стверджувати, що результати цитоморфологічного, цитохімічного та імунофенотипового досліджень, з використанням панелі спеціально підібраних моноклональних антитіл, яка дозволяє поетапно встановити направленість процесу та ступінь зрілості клітин (1 етап - CD19, CD13, CD33, CD3, CD117, CD10, CD7 – Т/В-клітинне, мієлоїдне походження бластів; 2 етап- суCD3, CD79а, CD61, CD41, CD36, GLA – Т/В клітинне, еритроїдне або мегакаріоцитарне походження субстратних клітин; 3 етап- CD20, CD5, Cyclin D1, су μ , μ с, μ л, μ ж – ступінь зрілості субстратних В-клітин) дозволяють ідентифікувати патологічні клітини крові та кісткового мозку при БВ-ЛКМ та проводити диференційну діагностику з іншими формами гемобластозів.

ДВБКЛ складає більше 30% всіх В-клітинних неходжкінських лімфом, 40% з яких є екстранодальними з первинною локалізацією в легенях, нирках, печінці, кістках, шкірі, ЦНС і т.д. Залучення в патологічний процес кісткового мозку спостерігається не більше ніж у 27% випадків.

Результати наших досліджень свідчать про те, що при встановленні діагнозу ДВБКЛ цитоморфологічне, цитохімічне та імунофенотипове дослідження патологічних клітин кісткового мозку та периферичної крові є дуже важливим, для підтвердження процесу лейкемізації чи при проведенні диференційної діагностики. В нашій роботі ми дослідили окремі чотири випадки (пацієнти, які були скеровані на дослідження з підозрою на ДВБКЛ) з певними складнощами при встановленні діагнозу. Саме висвітлення таких випадків у подальшому може значно спростити діагностику для лікарів.

На основі проведеного дослідження ми встановили, що диференційний діагноз ДВБКЛ необхідно проводити із: метастазами злоякісних анонімних пухлин у кістковому мозку, лімфомою Ходжкіна, плазмоклітинною лімфомою, лімфомою Беркітта спорадичного типу, бластоїдним варіантом лімфоми з клітин мантийної зони.

Підсумовуючи отримані дані можна стверджувати, що комплексне дослідження периферичної крові та кісткового мозку хворих вкрай необхідне, оскільки воно є важливим допоміжним засобом, а в окремих випадках основним методом дослідження та встановлення діагнозу.

Ключові слова: імуноцитохімічна характеристика, неходжкінські злоякісні лімфоми, диференційна діагностика, периферична кров, кістковий мозок, субстратні клітини.

SUMMARY

Polishchuk A.S. Immunocytochemical characteristics of some forms of B-cell non-Hodgkin's lymphomas in the stage of leukemization. – Qualifying scientific work preserving manuscript rights

Thesis for the degree of Doctor of Philosophy in the field of 09 Biology in the speciality 091 – Biology (Oncology). – R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2021.

According to the National Cancer Registry of Ukraine, the incidence and mortality of non-Hodgkin's lymphomas are increasing. In Ukraine, according to the latest data in 2020, the total number of non-Hodgkin's malignant lymphoma cases was 2,382 (1,186 in men and 1,196 in women). Mortality rate was 2.8 per 100,000 population [2].

According to the Ministry of Health, more than 32,000 active cases of malignant lymphomas are registered now in Ukraine with the lower average year of patients at diagnosis. About 80% of cases of lymphoma are curable, but an important condition for successful treatment is correct and timely diagnosis.

The current classification of non-Hodgkin's lymphomas (NHL) is based on the analysis of clinical data, the results of morphological, immunohistochemical, cytogenetic and molecular biological studies. About 85% of NHLs are of B-cell origin (B-NHL), other lymphoid tumors arise from T- or natural killer cells (NK-cells).

This dissertation is devoted to the study of cytomorphological, cytochemical and immunophenotypic characteristics of lymphoid cells in peripheral blood and bone marrow for assessing the extent of leukemization and differential diagnosis, especially in cases when biopsy of lymph nodes is not possible or samples from extranodal pathologic foci could not be accessible.

The dissertation focuses on the comparative analysis of the cytomorphological, cytochemical and immunophenotypic characteristics of substrate cells in some forms of B-cell lymphoproliferative diseases that allows for

elaborating the algorithms for differential diagnosis. The following forms of lymphoproliferative diseases were included into the study: chronic lymphocytic leukemia (B-CLL), small lymphocytic lymphoma (LML), monoclonal B-cell lymphocytosis (MBL); splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma (SDRPL), hairy cell leukemia variant (HCL-v), hairy cell leukemia (HCL), lymphoma of the marginal zone of the spleen (SMZL); mantle cell lymphoma (MCL), blastoid variant of mantle cell lymphoma (MCL-BV), and diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL).

According to the results of our research the main criteria for diagnosing and establishing the diagnosis of B-CLL are the presence of pathological cells, representing morphologically small lymphocytes with weakly fine-granular to moderate diffuse-granular reaction to acid phosphatase (AP), inhibited by tartrate ions. Malignantly transformed cells in CLL have the following immunophenotype: $CD19^+$, $CD20^+$, $CD22^+$, $CD23^+$ $CD5^+$. In cases where either CD23 or CD5 antigen is absent, a differential diagnosis with MCL (Cyclin D1⁺) and follicular lymphoma (FL) ($CD10^+$) should be made.

CLL and LML in the WHO classification 2017 of lymphoid and hematopoietic tumors are considered as the single nosological form of CLL/LML based on the similarity of their cytomorphological features, immunophenotype, molecular genetics and histopathological features. However, a comparative analysis revealed certain differences between these pathologies. The results of our studies indicate that diffuse infiltration by bone marrow substrate cells ($> 30\%$) and absolute lymphocytosis in the peripheral blood ($> 5 \times 10^9/l$) are important diagnostic criteria for the diagnosis of CLL. LML can be diagnosed in cases when histomorphological and immunophenotypic characteristics are similar to CLL, but bone marrow infiltration by substrate lymphoid cells (from 15 to 30%) is absent and absolute lymphocytosis in peripheral blood do not exceed $5 \times 10^9/l$.

For the first time, the features of pathological cells in the peripheral blood (p/b) and bone marrow (b/m) of patients with MBL (a new nosological form compared with the previous WHO classification of 2008) have been further

characterized based on a comprehensive study. Whether this pathology is a starting point in the development of other hematological pathologies or represents an asymptotic process has not been fully established. Our work has demonstrated a possible link with other hematological pathologies: myelodysplastic syndromes (MDS), acute myeloid leukemia (AML) and CLL, but further investigation is required to confirm these findings. This process can be diagnosed in the absence of bone marrow infiltration with substrate cells (<15%) and absolute lymphocytosis in peripheral blood ($<5 \times 10^9/l$), with cytomorphological and immunophenotypic characteristics of B-CLL and LML-like pathologic cells.

For the first time, the marker immunocytochemical signatures of substrate cells have been identified in SDRPL and HCL-v. These pathologies are delineated as distinct subgroups of B-cell lymphoma/leukemia of the spleen unclassified in the modern classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues (WHO 2017). As in SMZL and HCL, a feature of these diseases is the presence of pathological cells with characteristic cytoplasmic projections. Instead, for the first time on the basis of a comprehensive comparative study it was established that these tumors have a number of distinctive morphocytochemical and immunophenotypic characteristics. Differential diagnosis and accurate diagnosis is critical, given that the course of the disease and the prognosis of these pathological processes are different. The tactics of treatment also differ.

Immunophenotypic characteristics of lymphocytes with villous cytoplasm

	CD19	CD20	CD22	CD11c	CD25	CD103	CyclinD1
SMZL	+	+	+	-/+	-/+	-/+	-
HCL	+	+	+	+	+	+	+
SDRPL	+	+	+	+/-	-	-/+	-
HCL-v	+	+	+	+	-/+	+/-	-

In the 2017 WHO classification , of tumors of lymphoid and hematopoietic tissues a separate nosological form is delineated - blastoid variant of mantle cell

lymphoma (MCL-BV). Our results obtained by immunophenotyping and study of cytomorphological characteristics of substrate cells of peripheral blood and bone marrow are fully consistent with the available literature.

MCL-BV is divided into two cytological subtypes: lymphoblastic and centroblastic. Patients with the lymphoblastic subtype of MCL-BV were most often referred by doctors for examination as lymphoblastic lymphoma or acute lymphoblastic leukemia (ALL). In the centroblastic subtype, the process is regarded as a monoblastic variant of acute myeloid leukemia (AML). In some cases the presence of diffuse B-cell lymphoma (DLBCL) in the leukemization stage was suspected. The difficulty in establishing a correct preliminary diagnosis is the morphological similarity of the substrate cells to blasts.

It was found that in the substrate cells of MCL-BV myeloperoxidase (MPO) is lacking, in most cases acidic nonspecific esterase (NSE) - and AP – are negative, but in some cases there is a small granular reaction to NSE and AP, which is fully inhibited by tartrate ions. In all patients, the spectrum of antigens expressed on the surface membranes corresponded to that of mature B-lymphocytes: CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD23⁻ CD5⁺, Cyclin D1⁺.

Our findings allow us to conclude that the results of cytomorphological, cytochemical and immunophenotypic examinations, using a panel of specially selected monoclonal antibodies, allows us to determine step-by-step the lineage of origin and cell maturity of the pathological process (Stage 1 - CD19, CD13, CD33, CD3, CD117, CD10, CD7 - T / B- cells, myeloid generation of blasts; Stage 2 - cyCD3, CD79a, CD61, CD41, CD36, GLA - T/B-cell, erythroid or megakaryocytic gestation of substrate cells; stage 3 CD20, CD5, Cyclin D1, κ , λ , μ , ν - maturity level of substrate B- cells) for the identification of pathological cells in blood and bone marrow in MCL-BV and differential diagnosis with other forms of hematoblastoses.

DLBCL makes more than 30% of all B-cell non-Hodgkin's lymphomas, 40% of them are extranodal with primary localization in lungs, kidneys, liver, bones,

skin, CNS, etc. Involvement of the bone marrow in the pathological process is observed in no more than 27% of cases.

The results of our research indicate that cytomorphological, cytochemical and immunophenotypic examinations of pathological cells in the bone marrow and peripheral blood is very important to determine the diagnosis of DLBCL and to confirm the process of leukemization. We investigated four separate cases (patients who were screened for suspected DLBCL) with certain complications when the diagnosis was established. Representation of these cases can significantly improve diagnosis for physicians in the future.

The differential diagnosis of DLBCL should be made with: metastases of malignant anonymous tumors in the bone marrow; Hodgkin's lymphoma; plasma cell lymphoma; Burkitt's lymphoma of sporadic type; blastoid variant *of* mantle cell lymphoma.

Summarizing the obtained data, it can be argued that a comprehensive study of peripheral blood and bone marrow of patients with NHL is essential because it is an important tool, and in some cases the main method of research and diagnosis.

Key words: immunocytochemical characteristics, non-Hodgkin's malignant lymphomas, differential diagnosis, peripheral blood and bone marrow, substrate cells.

Список публікацій здобувача

1. A.S. Polishchuk, M.P. Zavelevich, D.F. Gluzman / Villous lymphocytes in blood and bone marrow in some forms of B-cell lymphoid malignancies // Eureka Life Sciences – 2020. – № 5. – P. 29–33.
2. Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, С.В. Коваль, Т.С. Иванивская, Н.К. Родионова, М.П. Завелевич, Н.И. Украинская, А.С. Полищук, М.С. Швыдка / Хронический лимфолейкоз и острые миелоидные лейкозы в структуре онкогематологических заболеваний у населения Украины в постчернобыльский период // Онкология. – 2017. – Т.19, № 1. – С. 33–40.
3. Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, Т.С. Иванивская, А.С. Полищук / Иммуноцитохимические маркеры выявления микрометастазов опухолей // Онкология – 2018. – Т.20, № 4. – С. 287–294.
4. T.S. Ivanivska, L.M. Sklyarenko, M.P. Zavelevich, A.A. Philchenkov, S.V. Koval, A.S. Polishchuk, D.F. Gluzman / Immunophenotypic features of leukemic stem cells and bulk of blasts in acute myeloid leukemia // Exp Oncol. – 2019. – V.41, № 3. – P. 207–209.
5. Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, С.В. Коваль, Т.С. Ивановская, М.П. Завелевич, А.А. Фильченков, А.С. Полищук, Н.К. Родионова / Современная классификация и диагностика миелодиспластических синдромов. Научно-методическое пособие // Киев: ТОВ “НВП “Інтерсервіс”, – 2018.
6. Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, С.В. Коваль, Т.С. Иванивская, М.П. Завелевич, Н.И. Украинская, А.С. Полищук, М.С. Швыдка., Л.Н. Гуслицер / Современные международные класификации опухолей лимфоидной и кроветворной тканей // Киев: ДИА, – 2016.
7. Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, С.В. Коваль, Т.С. Иванивская, М.П. Завелевич, Н.И. Украинская, А.С. Полищук, М.С. Швыдка / Диагностика опухолей кроветворной и лимфоидной тканей (по материалам классификации ВОЗ 2016г.) // Киев: ДИА, – 2017.

8. Патент № 124850 України на користу модель, МПК: G01N 33/50 (2006.01). Спосіб ідентифікації неопластичних клітин у спинномозковій рідині / Глузман Д.Ф., Скляренко Л.М., Іванівська Т.С., Завелевич М.П., Коваль С.В., Поліщук А.С., Швидка М.С.; заявник і власник Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького Національної академії наук України. – u 2017 10912, заявл. 08.11.2017р.; опубл. 25.04.2018р. Бюл. № 8.
9. Патент № 139194 України на користу модель, МПК: G01N 33/48 (2006.01). Спосіб ідентифікаційної діагностики бластоїдного варіанту лімфоми клітин мантиї / Глузман Д.Ф., Скляренко Л.М., Іванівська Т.С., Завелевич М.П., Коваль С.В., Поліщук А.С.; заявник і власник Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького Національної академії наук України. - u 2019 06340, заявл. 06.06.2019р.; опубл. 26.12.2019р. Бюл. № 24.
10. Л.М. Скляренко, А.С. Поліщук, Т.С. Іванівська, В.Н. Зінченко, О.О. Підгорна, Д.Ф. Глузман / Імунофенотипова характеристика бластоїдного варіанту лімфоми з клітин мантиї // Онкологія. – 2019. – Т.21, № 2. – С. 113–116.
11. Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, С.В. Коваль, Т.С. Иванивская, М.П. Завелевич, Н.И. Украинская, А.С. Полищук, М.С. Швыдка, Л.Н. Гуслицер / Современные международные классификации опухолей лимфоидной и кроветворной тканей // Лаб. Диагностика. – 2016. – № 4. – С. 44–49.
12. А.С. Полищук, Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, М.С. Швыдка, Т.С. Иванивская, Н.И. Украинская / Цитоморфологическая и иммуноцитохимическая характеристика В-клеточных неходжкинских лимфом в свете новой классификации ВОЗ (2016 г.) // Тези доповідей I з'їзду Української Асоціації Цитопатологів «Актуальні питання сучасної цитологічної діагностики в Україні», 3-4 квітня 2017. м. Київ. –2017. - с.91.
13. А.С. Поліщук, Л.М. Скляренко / Імуноцитохімічна характеристика клітин при хронічному лімфолейкозі/лімфомі із малих лімфоцитів і

моноклональному В-лімфоцитозі // Тези доповідей XIV міжнародної наукової конференції студентів і молодих вчених «Шевченківська весна: Досягнення біологічної науки» 28-31 березня 2018, м. Київ. – 2018. – С. 51–52.

14. А.С. Поліщук / Цитоморфологічна та імуноцитохімічна характеристика клітин крові та кісткового мозку при В-клітинній лімфомі маргінальної зони селезінки // Тези доповідей X International students and young scientists seminar dedicated to the World Cancer Day. 31 January- 1 February 2019, Kyiv. – 2019. – Р. 91–92.

15. А.С. Поліщук, Л.М. Скляренко, Т.С. Іванівська / Morphology and immunophenotype of lymphoid cells with hairy-like projections of cytoplasm in B-cell lymphoproliferative diseases // Тези доповідей науково-практичної конференції молодих вчених «Фундаментальна медицина: інтегральні підходи до терапії хворих з онкопатологією» 4–5 лютого 2019, м. Київ. – 2019. – С. 79.

16. А.С. Поліщук, Л.М. Скляренко, Т.С. Іванівська / Морфологічна та імунофенотипова характеристика лімфоїдних клітин бластоїдного варіанту лімфоми з клітин мантиї // Тези науково-практичної конференції «Інноваційні технології скринінгу, діагностики та персоніфікованої терапії» 3–4 жовтня 2019, м. Київ. – 2019. – С. 263

17. А.С. Поліщук / Імунофенотипові маркери клітин кісткового мозку та периферичної крові хворих на В-клітинні неходжкінські лімфоми в фазі лейкоїзації // Науково-практичний семінар для лікарів-гематологів, онкологів і спеціалістів лабораторної медицини «Інноваційні технології лабораторної діагностики в онкогематології» 7–8 жовтня 2019, м. Київ. – 2019.

18. А.С. Поліщук / Імунофенотипові маркери клітин периферичної крові та кісткового мозку хворих на В-клітинні неходжкінські лімфоми в фазі лейкоїзації // Науково-практична конференція, з міжнародною участю «Ефективність, якість та доступність сучасної лабораторної медицини в Україні» 23–25 вересня 2020, м. Київ – 2020.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	19
ВСТУП	21
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	29
1.1. Етапи дослідження та вивчення неходжкінських лімфом	29
1.2. Патогенетичні особливості та цитогенетичні аномалії при різних формах неходжкінських лімфом	38
1.3. Стадії диференціювання В-клітин, їх зв'язок з різними нозологічними формами неходжкінських лімфом	44
1.4. Диференційні антигени В-клітин	48
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	57
2.1. Загальна характеристика обстежених хворих	57
2.2. Методи дослідження	58
2.2.1. Цитоморфологічний метод дослідження	58
2.2.2. Цитохімічні методи дослідження	59
2.2.3. Імуноцитохімічний метод	60
2.3. Статистичний метод	66
РОЗДІЛ 3 Імуноцитохімічна характеристика лімфоїдних клітин при хронічному лімфолейкозі/лімфомі з малих лімфоцитів та моноклональному В-клітинному лімфоцитозі	67
3.1. Загальна характеристика груп обстежених хворих	67
3.2. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при В-клітинному хронічному лімфолейкозі	68
3.3. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при лімфомі з малих лімфоцитів	72
3.4. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при моноклональному В-клітинному лімфоцитозі	75
РОЗДІЛ 4 Імуноцитохімічна характеристика лімфоїдних клітин з	

відростками в цитоплазмі при різних нозологічних формах лімфопроліферативних захворювань	84
4.1. Загальна характеристика груп обстежених хворих	84
4.2. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при лімфомі маргінальної зони селезінки	85
4.3. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при волосковоклітинному лейкозі	88
4.4. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при лімфомі червоної пульпи селезінки	92
4.5. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при волосатоклітинному лейкозі- варіанті	96
РОЗДІЛ 5 Імуноцитохімічна характеристика лімфоїдних клітин при лімфомі з клітин мантиї та бластоїдному варіанті лімфоми з клітин мантиї	101
5.1. Загальна характеристика груп обстежених хворих	101
5.2. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при лімфомі з клітин мантиї	102
5.3. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при бластоїдному варіанті лімфоми з клітин мантиї	106
РОЗДІЛ 6 Імуноцитохімічна характеристика лімфоїдних клітин периферичної крові та кісткового мозку хворих на дифузну В- великоклітинну лімфому	114
6.1. Загальна характеристика груп обстежених хворих	114
6.2. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при дифузній великоклітинній лімфомі	115

РОЗДІЛ 7 УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	124
ВИСНОВКИ	139
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	141
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	144
Додаток А	159
Додаток Б	176

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БВ-ЛКМ – бластоїдний варіант лімфоми клітин мантиї
ВКЛ – волосковоклітинний лейкоз
ВКЛ-В – волосковоклітинний лейкоз - варіант
В-НХЛ – В-клітинні неходжкінські злоякісні лімфоми
ВООЗ – Всесвітня Організація Охорони Здоров'я
В-ХЛЛ – В-клітинний хронічний лімфолейкоз
ГЛЛ – гострі лімфобластні лейкози
ГМЛ – гострі мієлоїдні лейкози
ДВВКЛ – дифузна В-великоклітинна лімфома
ВЕБ – вірус Епштейна-Барр
КНЕ – кисла неспецифічна естераза
КФ – кисла фосфатаза
ЛКМ – лімфома з клітин мантиї
ЛМЗС – лімфома маргінальної зони селезінки
ЛМЛ – лімфома з малих лімфоцитів
ЛПЛ – лімфоплазмочитарна лімфома
ЛЧПС – лімфома червоної пульпи селезінки
МВЛ – моноклональний В-клітинний лімфоцитоз
МДС – мієлодиспластичні синдроми
МДС РАНБ-2 – мієлодиспластичний синдром з надлишком бластів 2 типу
МкАт – моноклональне антитіло
МПО – мієлопероксидаза
НХЛ – неходжкінські злоякісні лімфоми
ПКК (ПК) – природна кілерна клітина
РА – рефрактерна анемія
ФЛ – фолікулярна лімфома
ЦНС – центральна нервова система
AID – activation-induced cytidine desaminase

BCL – transcription factor

BCR – B-cell receptor

Blimp1 – B lymphocyte-induced maturation protein-1

CD – cluster of differentiation

IL – interleukin

MALT – mucosal associated lymphoid tissue

MAPK – mitogen-activated protein kinase

MUM1 – transcription factor

p53 – protein transcription factor, regulator of the cell cycle

PAX5 – paired box protein Pax-5 is a protein which in humans is encoded by the *PAX5* gene

PTPN – protein tyrosine phosphatase non-receptor

SH2D1A, SH2D1B – adapter proteins

TCR–T-cell receptor

TdT – terminal deoxynucleotidyl transferase

TNF – tumor necrosis factor

ВСТУП

Актуальність теми. В сучасних умовах рівень захворюваності на злоякісні пухлини помітно зростає, особливо серед населення країн, що розвиваються, а показники смертності від онкологічних патологій займають друге місце після серцево-судинних захворювань. За даними Міністерства охорони здоров'я України, на злоякісні лімфоми в Україні в теперішній час хворіє понад 32 тисячі людей і хвороба «молодшає». Біля 80% випадків лімфом є виліковними, але важливою умовою успішного лікування є правильна та своєчасна діагностика [1].

Відповідно до даних Національного канцер-реєстру України, неходжкінські лімфоми (НХЛ) характеризуються зростанням рівня захворюваності та смертності. В Україні загальна кількість випадків захворювання на НХЛ в 2019 р. дорівнювала 2382 (серед них 1186 чоловіків, і 1196 жінок). Показник смертності становив – 2,8 на 100 тисяч населення [2].

Проблема лікування хворих на НХЛ – одна з найактуальніших у сучасній онкогематології. Прогноз і тривалість життя хворих залежать від первинної локалізації, морфологічного варіанту пухлини, поширеності процесу, віку та загального стану пацієнтів. 5-річна загальна виживаність хворих на НХЛ в середньому складає 50-60% (від 80% – при НХЛ низького ступеня злоякісності до 30% – при НХЛ високого ступеня злоякісності) [3].

Високі показники смертності хворих здебільшого пов'язані зі складністю ранньої і диференційної діагностики та проведенням адекватної протокольної терапії.

У певної групи хворих на В-клітинні неходжкінські злоякісні лімфоми (В-НХЛ) на час встановлення діагнозу чи при прогресії захворювання виявляються ураження кісткового мозку та наявність патологічних клітин, які циркулюють в периферичній крові.

В основі діагностики В-НХЛ знаходиться гістологічне та імуногістохімічне вивчення зразків, отриманих при біопсії лімфатичних

вузлів або екстранодальних осередків ураження. В сучасній класифікації пухлин кровотворної і лімфоїдної тканин (ВООЗ 2017 р.) поряд з морфоцитохімічними і імунофенотиповими ознаками трансформованих лімфоїдних тканин велика увага приділяється також цитогенетичним та молекулярно-генетичним характеристикам субстратних клітин. Біля 85% НХЛ мають В-клітинне походження (В-НХЛ), інші лімфоїдні пухлини виникають з Т- чи ПК-клітин.

На сьогоднішній день багато відомо про різні патології із зрілих В-клітин, але нові нозологічні форми В-НХЛ залишаються остаточно невивченими. Тому дослідження імуноцитохімічних характеристик субстратних клітин дало б змогу краще зрозуміти особливості даних захворювань та стало б основою для розроблення алгоритмів лабораторної діагностики деяких В-клітинних неходжкінських злоякісних лімфом в стадії лейкомізації, а також диференційної діагностики з іншими формами новоутворень кровотворної і лімфоїдної тканин. Злоякісно трансформовані лімфоїдні клітини, як і їх нормальні аналоги, зберігають здатність до рециркуляції (вихід з первинного вогнища ураження в периферичну кров та кістковий мозок і повернення до лімфоїдної тканини). Саме тому важливо наголосити, що цитоморфологічне, цитохімічне та імунофенотипове дослідження лімфоїдних клітин крові та кісткового мозку сприяють установленню діагнозу у випадках неможливості проведення біопсії лімфатичного вузла або отримання матеріалу із екстранодальних осередків ураження, при виявленні залишкової хвороби та при рецидиві захворювання.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами. Дисертаційна робота виконана у відділі онкогематології Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України за темами науково-дослідних робіт: «Цитоморфологічна та імуноцитохімічна характеристика лейкозів у післячорнобильський період» (2015 – 2017рр.; номер державної реєстрації 0114U004390), «Вивчення ензимоцитохімічних та імуноцитологічних особливостей кровотворних

клітин-попередників при різних формах гемобластозів» (2015 – 2019рр.; номер державної реєстрації 0115U002969), «Дослідження структури гемобластозів у післячорнобильський період в групах населення України, постраждалих внаслідок дії іонізуючої радіації» (2018 – 2020рр.; номер державної реєстрації 0117U004978).

Мета дослідження. З'ясувати цитоморфологічні, цитохімічні та імунофенотипові ознаки злоякісно трансформованих клітин деяких форм В-клітинних неходжкінських злоякісних лімфом в стадії лейкоїзації та розробити алгоритм лабораторної діагностики цих новоутворень.

Задачі дослідження:

1. Провести порівняльний аналіз загальноклінічних показників крові, цитоморфологічних, цитохімічних та імунофенотипових ознак лімфоїдних клітин при В-клітинному хронічному лімфолейкозі/лімфомі із малих лімфоцитів (ВХЛЛ/ЛМЛ) та В-клітинному моноклональному лімфоцитозі (МВЛ).

2. Охарактеризувати цитоморфологічні, цитохімічні і імуноцитохімічні ознаки лімфоїдних клітин при В-клітинній лімфомі/лейкозі селезінки некласифікованій; волосковоклітинному лейкозі варіанті (ВКЛ-В) та лімфомі червоної пульпи селезінки (ЛЧПС). Провести диференційну діагностику даних патологій з іншими формами В-НХЛ, субстратні клітини яких мають цитоплазматичні вирости.

3. Визначити основні цитоморфологічні, цитохімічні і імуноцитохімічні ознаки лімфоїдних клітин при бластоїдному варіанті лімфоми з клітин мантиї (БВ-ЛКМ) та провести диференційну діагностику з іншими формами гемобластозів.

4. Дослідити імуноцитохімічні характеристики субстратних лімфоїдних клітин периферичної крові та кісткового мозку при дифузній В-великоклітинній лімфомі (ДВВКЛ).

5. Розробити алгоритм лабораторної діагностики деяких форм В-НХЛ на основі виявленого комплексу цитоморфологічних, цитохімічних та

імунофенотипових диференційних ознак різних типів патологічних лімфоїдних клітин.

Об'єкт дослідження: лімфоїдні клітини периферичної крові і кісткового мозку (мазки та суспензії мононуклеарів) 293 пацієнтів віком від 26 до 88 років, з підозрою на В-НХЛ, а також гострі лейкози, мієлодиспластичні синдроми (МДС).

Предмет дослідження: морфологічні та цитохімічні ознаки пухлинних клітин, антигени поверхневих мембран лімфоїдних клітин хворих на різні форми новоутворень кровотворної та лімфоїдної тканин.

Методи дослідження. Морфологічне дослідження мазків крові і кісткового мозку, забарвлених за Папенгеймом. Цитохімічні – визначення внутрішньоклітинної локалізації та активності мієлопероксидази (МПО), кислої фосфатази (КФ), кислої неспецифічної естерази (КНЕ), та кислої фосфатази при додаванні інгібітору – іонів тартрату. Імуноцитохімічний лужнофосфатазний авідин-біотиновий метод з використанням широкої панелі моноклональних антитіл до лінійно- та стадієспецифічних диференційних антигенів лейкоцитів ("Dako" Данія, "Diagnostic BioSystem" США). Метод проточної цитофлуориметрії. Флуоресценцію досліджуваних клітин оцінювали, використовуючи проточний цитофлуориметр EPICS XL фірми "Beckman Coulter" (США). Для цитометричного аналізу використали антитіла мічені флуорохромами: FITS, PE, PC-5, ECD. Статистичний метод обробки даних: для побудови таблиць та діаграм застосовували прикладні програми Microsoft Excel, математичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Ст'юдента.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше на підставі комплексного дослідження цитоморфологічних, цитохімічних та імунофенотипових характеристик пухлинних клітин ідентифіковано діагностичні критерії та розроблено алгоритм лабораторної діагностики стадії лейкемізації деяких форм В-клітинних неходжкінських злоякісних лімфом: МВЛ, ЛЧПС, ВКЛ-В, БВ-ЛКМ.

Доповнено дані про фенотипові ознаки лімфоїдних клітин периферичної крові та кісткового мозку при деяких В-клітинних лімфопроліферативних захворюваннях в стадії лейкемізації.

Вперше визначені маркерні імуноцитохімічні ознаки неопластичних клітин при МВЛ, ЛЧПС, ВКЛ-В, БВ-ЛКМ. Встановлено, що характерною цитоморфологічною ознакою патологічних клітин при лімфомі маргінальної зони селезінки (ЛМЗС), волосковоклітинному лейкозі (ВКЛ), ВКЛ-В, та ЛЧПС є наявність специфічних виростів в цитоплазмі пухлинних клітин.

Визначено, що субстратні клітини ВКЛ-В характеризуються поліморфною реакцією на КФ, яка не інгібується при додаванні інгібітору – іонів тартрату. Доведено, що субстратні клітини при БВ-ЛКМ за цитоморфологічними характеристиками подібні до бластів, в яких не виявляли МПО, у більшості випадків КНЕ–, КФ– негативні, проте у деяких випадках спостерігали дрібногранулярну реакцію на КНЕ та КФ, яка повністю інгібувалася при додаванні іонів тартрату. У всіх хворих спектр експресованих антигенів на поверхневих мембранах клітин відповідав зрілим В-лімфоцитам.

Результати досліджень імуноцитохімічних характеристик дозволили поглиблено охарактеризувати цитохімічні та імунофенотипові особливості клітин крові та кісткового мозку у пацієнтів з МВЛ (новій нозологічній формі у порівнянні з попередньою класифікацією ВООЗ 2008р.)

На основі вивчення цитоморфологічних, цитохімічних і імунофенотипових ознак субстратних клітин при різних формах В-клітинні лімфопроліферативних захворювань запропоновані критерії диференційної діагностики В-ХЛЛ, ЛМЛ та МВЛ.

На основі порівняльного аналізу цитоморфологічних, цитохімічних і імунофенотипових ознак різних типів трансформованих лімфоїдних клітин розроблені критерії диференційної діагностики ЛМЗС, ВКЛ, В-клітинної лімфоми/ лейкозу селезінки некласифікованої: ЛЧПС, та ВКЛ-В.

Вперше за допомогою вивчення цитоморфологічних, цитохімічних і імунофенотипових ознак лімфоїдних клітин розроблені критерії диференційної діагностики лімфоми з клітин мантийної зони (ЛКМ) та БВ-ЛКМ в стадії лейкемізації.

На основі порівняльного аналізу цитоморфологічних, цитохімічних і імунофенотипових ознак різних типів трансформованих лімфоїдних клітин розроблені критерії диференційної діагностики дифузної В-великоклітинної лімфоми (ДВВКЛ), злоякісних анонімних пухлин епітеліальної природи, що метастазували в кістковий мозок, лімфоми Ходжкіна, лімфоплазмоцитарної лімфоми, лімфоми Беркїтта спорадичного типу та БВ-ЛКМ.

Практичне значення. Доведено, що з метою діагностики деяких форм В-клітинних неходжкінських злоякісних лімфом в стадії лейкемізації: МВЛ, ЛЧПС, ВКЛ-В, БВ-ЛКМ необхідним є дослідження з використанням цитоморфологічних, цитохімічних та імунофенотипових характеристик пухлинних клітин.

Обґрунтовано доцільність застосування комплексного підходу до дослідження характерних ознак пухлинних клітин з метою більш детальної характеристики деяких форм В-клітинних неходжкінських злоякісних лімфом в стадії лейкемізації.

Отримані дані мають практичне значення і вперше знайшли застосування при уточненій діагностиці різних форм та цитологічних варіантів В-НХЛ, при ранньому виявленні рецидивів захворювання та мінімальної залишкової хвороби. Детальна цитохімічна та імунофенотипова характеристика злоякісно трансформованих патологічних лімфоїдних клітин є підґрунтям для подальших розробок в сфері таргетної терапії.

Результати виконаних досліджень впроваджені в практику і використовуються при проведенні диференційно діагностичних досліджень у пацієнтів онкогематологічних відділень м. Києва та обласних онкодиспансерів і лікарень України.

Результати досліджень, що висвітлені в даній роботі, можуть бути використані як основа для створення лекційних матеріалів для лікарів–онкологів, гематологів, фахівців з лабораторної медицини, студентів вищих навчальних закладів медичного та біологічного спрямування.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є закінченим, самостійно виконаним дослідженням автора, має фундаментальне наукове та практичне значення. Мета і загальний план дослідження сформульовані разом з науковим керівником. Автором самостійно проведено теоретичне узагальнення результатів роботи, сформульовані основні положення і висновки. Дисертантом особисто проаналізовано найновіші наукові публікації за темою дисертації, проведені цитоморфологічні, цитохімічні та імуноцитохімічні дослідження, аналіз та статистичну обробку одержаних результатів. Дослідження імунофенотипових характеристик субстратних клітин на проточному цитометрі Beckman Coulter EPICS XL (США) проведено спільно з ст.н.с. відділу онкогематології к.б.н. Іванівською Т.С. У працях, написаних у співавторстві, реалізовані наукові ідеї здобувача.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи представлені та обговорені на: I з'їзді Української асоціації цитопатологів «Актуальні питання сучасної цитологічної діагностики в Україні» (Київ, 2017 р.), XIV Міжнародній науковій конференції студентів і молодих вчених «Шевченківська весна: Досягнення біологічної науки» (Київ, 2018 р.), X International students and young scientists seminar dedicated to the World Cancer Day (Київ, 2019 р.), науково-практичній конференції молодих вчених «Фундаментальна медицина: інтегральні підходи до терапії хворих з онкопатологією» (Київ, 2019 р.), науково-практичній конференції «Інноваційні технології скринінгу, діагностики та персоніфікованої терапії раку» (Київ, 2019 р.), науково-практичній конференції для лікарів-гематологів, онкологів і спеціалістів лабораторної медицини «Інноваційні технології лабораторної діагностики в онкогематології» (Київ, 2019 р.), науково-

практичній конференції, з міжнародною участю «Ефективність, якість та доступність сучасної лабораторної медицини в Україні» (Київ, 2020 р.).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 18 наукових робіт, зокрема 6 статей, 3 з яких у фахових наукових виданнях рекомендованих МОН України та однієї в науковому виданні держави, що входить до Європейського Союзу, 3 науково–методичні посібники, 2 патенти на корисну модель та 7 тез у збірниках наукових конференцій та з'їздів.

Обсяг та структура дисертації. Дисертацію викладено українською мовою на 181 сторінках комп'ютерного набору. Робота складається зі вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів дослідження, 4-рьох розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків та списку використаної літератури, який включає 136 посилання, з яких 41 кирилицею. Текст супроводжується 36 рисунками і 24 таблицями.

РОЗДІЛ 1.

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Етапи дослідження та вивчення неходжкінських лімфом

Дослідження лімфом бере свій початок з 1806 р. коли J. Alibert представив клінічну картину грибовидного мікозу. Т. Ходжкін в 1832 р. провів дослідження з ідентифікації захворювання, що характеризується збільшенням селезінки та лімфатичних вузлів яке в наш час має назву лімфома Ходжкіна. У 1845 р. та 1863 р. Р. Вірхов дав цілісний клініко-патологічний опис лімфосаркоми та лейкозу. Незалежно один від одного К. Штернберг і Д. Рід в 1898 р. і 1902 р. описали характерні клітинні елементи гігантських розмірів, які в подальшому отримали назву клітин Рід-Штернберга або Штернберга-Рід. У вітчизняній літературі більш міцно утвердився термін: клітини Березовського-Штернберга, за іменем професора Московського університету А.А. Березовського, який відкрив їх ще в 1890 р. [4]. Питання стосовно природи та походження вище зазначених клітин залишається предметом жвавих дискусій та протиріч і до теперішнього часу.

В 1914, 1928, 1930 р.р., J. Ewing, C. Oberling і F. Ronlet провели незалежні дослідження, в результаті яких описали пухлини лімфоїдних органів та кісткової тканини, що характеризувалися наявністю великих клітин. Ці новоутворення через властиві їм характеристики та можливе походження з ретикулярних клітин строми лімфоїдних органів отримали назву ретикулосаркоми. Незважаючи на велику кількість досліджень, функції та особливості природи цих неопластичних клітин багато років залишалися невідомими. Н.А. Краєвський, Р.Д. Штерн провели дослідження та приділили багато часу встановленню відмінностей клітин ретикулосаркоми від патологічних клітин лімфосаркоми. В класифікації пухлин кровотворної та лімфоїдної тканин (ВООЗ 1976 р.) терміни "ретикулосаркома" і "лімфосаркома" були збережені.

У 1925-1927 р. N. Brill і D. Symmers у хворих зі збільшеними лімфатичними вузлами і селезінкою під час гістологічного дослідження

виявили виражене генералізоване збільшення кількості патологічних клітин в лімфоїдних фолікулах з подальшою трансформацією в великоклітинну пухлину [5].

Перша морфологічна класифікація злоякісних лімфом була розроблена Е.А. Gall і Т.В. Mallory в 1941 р. [6]. Вона базувалася на даних гістологічного дослідження матеріалу і аналізі клінічних даних 618 хворих і включала фолікулярну (нодулярну) лімфому як певну нозологічну і клінічну форму, здатну в ряді випадків до гістологічної прогресії з часом[5]. Ця класифікація, що включала також хворобу Ходжкіна (лімфогранулематоз) в якості окремого типу лімфом, широко використовувалася в США. У 1944 р. Н. Jackson і F. Parker були виділені окремі підтипи хвороби Ходжкіна [5].

Класифікації НХЛ була і залишається предметом численних дискусій. Деякі класифікації базувалися на морфологічних особливостях та клінічних характеристиках лімфом. Інші – на вивченні різних етапів диференціювання клітин, наголошуючи на важливості імунологічних та молекулярно-біологічних досліджень [6, 7]. В 1956 р. Н. Раппарпорт та його колеги запропонували першу сучасну класифікацію НХЛ. Вони підкреслювали, що класифікація повинна бути клінічно корисною, науково точною та відтворюваною. НХЛ були розділені на два основні підтипи, враховуючи характер росту новоутворення: фолікулярний чи дифузний [8, 9]. Але ця класифікація була недосконалою, викликала деякі заперечення: термін гістіоцитарна лімфома виявився неправильним, оскільки з'ясувалося, що майже всі лімфоми мають лімфоїдне походження. Після того, як стало можливим ідентифікувати Т- і В-лімфоцити виявилось, що класифікація Н. Раппарпорт неповна щодо клітинного походження різних підтипів НХЛ [10, 11].

Саме наведені вище дані покладені в основу морфо-функціональних підходів, які були застосовані для створення нових класифікацій пухлин лімфоїдної тканини. На противагу цьому важливими для вивчення гістогенезу лімфоїдних пухлин стали концептуальні підходи, які

ґрунтувалися на дослідженні етапів розвитку нормальних клітин з урахуванням експресії тих чи інших поверхневих імунофенотипових маркерів. Тип трансформованих клітин, якщо враховувати кореляційний підхід між результатами морфологічних та імунологічних досліджень, міг бути встановлений за допомогою гістологічного дослідження.

У 1974 р. R.J. Lukes, R.D. Collins створили першу функціональну класифікацію лімфом на основі клітинного походження та змін в процесі трансформації лімфоцитів. Схема включала пухлини з U-клітин (undefined, невизначених), Т-клітин, В-клітин, гістіоцитів, а також некласифіковані лімфоми та лімфогранулематоз. Крім того, саме ці автори визначили, що більшість злоякісних лімфом є новоутвореннями з клітин В-лінії. Вперше також було застосовано новий термін – імунобластна саркома. Однак, ця система класифікації не враховувала тканинну архітектуру новоутворення [12].

Конкуренцію зазначеній вище класифікації складала Кільська класифікація, що була модифікацією концепції, запропонованої K.Lennert. Відмінності схем, які описані вище, полягали не лише у термінологічних невідповідностях. Автори Кільської класифікації дотримувалися інших поглядів на природу клітин зародкових центрів лімфоїдних фолікулів та послідовність етапів їх диференціювання. Характерною рисою Кільської класифікації, що відрізняла її від інших, було виділення серед В- і Т-клітинних лімфом двох груп пухлин – з низьким і високим ступенем злоякісності. Загалом "пухлини з низьким ступенем злоякісності" склалися з клітин, яким була притаманна цитологічна характеристика зрілих клітин, про що свідчить наявність суфіксу "cytic" або "cytoid". Тоді як "пухлини з високим ступенем злоякісності" склалися з клітин, яким була притаманна цитологічна характеристика незрілих клітин, про що свідчить наявність суфіксу "blastic". Кільська класифікація ввела терміни "центроцити" (еквівалентний запропонованому R.J. Lukes, R.D. Collins "клітини з рощепленим ядром") та "центробласти" (еквівалентний

терміну "клітини з нерощепленим ядром") [13]. У 1988 р. Кільська класифікація була значно оновлена [14]. Нова редакція містила кілька основних змін у порівнянні з початковою версією 1974 р. В новому виданні первинний розподіл проводився відповідно до клітинної лінії, чітко розмежовуючи новоутворення з В- і Т-клітин.

Класифікації лімфоїдних новоутворень, про які йшлося вище, мали ряд суттєвих недоліків: побудова їх була занадто складною та не до кінця завершеною, пухлини одного типу могли мати безліч найменувань, що, в свою чергу, створювало труднощі у стандартизації та використанні тих чи інших нозологічних форм.

Міжнародною групою, яка запропонувала назву (Робоче визначення (Working Formulation (1982 р.)) була прийнята спроба подолання труднощів, що були на той час пов'язані з класифікаціями лімфоїдних новоутворень.

Передувала затвердженню та ухваленню більш досконалої класифікації п'ятирічна робота визнаних фахівців-патологів у рамках нового проекту "Патогістологічна класифікації неходжкінських лімфом". Дані дослідження проводилися під егідою та при сприянні Національного інституту раку США. Дослідники намагалися досягти створення спільної мови для позначення нозологічних форм в різних класифікаційних схемах – "Lymphoma Esperanto" [15].

Проведене масштабне дослідження, в яке були залучені шість експертів патологів та шість експертів контролерів, які дослідили 1175 біоптатів пухлин пацієнтів, що перебували на лікуванні в чотирьох наукових центрах. Виявлені новоутворення класифікували із застосуванням та у відповідності до шести найбільш широко прийнятих схем (Н. Rappaport, R.F. Dorfman, Кільської, Британської, Lukes-Collins, BOO3). Після завершення дослідження і складного статистичного аналізу результати були обговорені широким колом клініцистів, патологів та представників інших спеціальностей. Як висновок підтверджено, що всі розглянуті та вивчені класифікації достатньо відтворювані, але переваг немає жодна з них. В результаті було прийнято

вказане вище "Робоче визначення" – класифікація, що враховує особливості характеру росту (нодулярний або дифузний), притаманні тим чи іншим пухлинам цитологічні ознаки трансформованих клітин та рівень злоякісності лімфом.

Хоча "Робоча класифікація" НХЛ може розглядатися як суттєво модифікована класифікація Н. Rappaport з використанням оновлених, розширених категорій із зміненою термінологією, вона мала ряд недоліків. Критичні зауваження до "Робочої класифікації" запропонували К. Lennert і R.J. Lukes. Вчені вказували, що групи, які були біологічно не пов'язані, об'єднувались (дифузні змішані та дифузні великоклітинні). Ще однією вадою цієї класифікації була відсутність можливості її оновлення. Термін "Робоча" передбачав, що класифікація є тимчасовою і може бути при необхідності змінена. Однак, це не відбулося до сьогодні, можливо, тому, що "Робочу класифікацію" було створено дослідницькою групою, яка припинила своє існування [16].

Труднощі в систематизації лімфом виникли з припущення, що для класифікації повинен існувати єдиний керівний принци – "золотий стандарт". Міжнародна дослідницька група з лімфом (ILSG) розробила консенсус-список лімфоїдних новоутворень, опублікований у 1994 р. як "Переглянута європейсько-американська класифікація лімфоїдних новоутворень" (REAL). Основні її положення ґрунтувалися на принципі, що класифікація – це перелік "реальних" захворювань, які визначаються на основі поєднання морфологічних, імунофенотипових, генетичних та клінічних характеристик. Відносна важливість кожної з цих ознак залежить від захворювання і жодного "золотого стандарту" не може бути [17].

При дослідженні деяких пухлин морфологічне дослідження є першочерговим, в інших до уваги приймаються результати імунофенотипування, або дослідження специфічних генетичних аномалій. Починаючи з 1995 р. Європейська асоціація патологів (ЕАНР) розробляє нову класифікацію гематологічних злоякісних новоутворень

Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), використовуючи оновлену класифікацію REAL для лімфом [18]. Класифікація REAL та її наступник класифікація ВООЗ представляли нову парадигму в класифікації лімфоїдних новоутворень. [19]. Це була перша справжня світова класифікація злоякісних новоутворень кровотворної та лімфоїдної тканин, яка стала кульмінацією зусиль керівництва комітету, голів комітету з патології, 75 авторів та 44 клініцистів-консультантів [20]. У 2008 р. вийшло четверте видання класифікації ВООЗ, яке було наслідком співпраці 138 авторів-патологів та двох клінічних консультативних комітетів, до складу яких входили 62 фахівці з досвідом роботи з діагностики лімфоїдних та мієлоїдних новоутворень [21]. На засіданні клінічних консультативних комітетів була розглянута низка питань, включаючи уточнене визначення тих чи інших захворювань, їх номенклатуру та клінічну значимість [22].

Ця модель була збережена, для перегляду четвертого видання із засіданням клінічного консультативного комітету, яке відбулось у 2014 р. з метою вирішення нових проблем, пов'язаних із визначенням нових конкретних новоутворень. Отримане переглянуте четверте видання класифікації ВООЗ було узагальнене в оглядовій статті, опублікованій в *Blood* в 2016 р. [23], з публікацією у вигляді монографії в 2017 р. [111].

У класифікації ВООЗ (перегляд 2017 р.) (табл. 1.1.1, 1.1.2) наведені критерії для диференційної діагностики та виділення окремих нозологічних форм В-клітинних новоутворень лімфоїдної тканини, що становлять більш як 90% всіх НХЛ, з урахуванням молекулярно-генетичних ознак трансформованих клітин [25, 21].

Основою класифікації є імуногістохімічні критерії та молекулярно-біологічні характеристики В-клітинних лімфоїдних новоутворень, що, в свою чергу, сприяють уточненій диференційній діагностиці на ранніх стадіях захворювання. Для вибору стратегії та тактики терапії ключовими є внесені при перегляді класифікації зміни. Вони доповнюють картину і дозволяють

ширше розуміти природу кожної окремої патології і, таким чином, ефективніше підбирати терапію спрямовану на клітини-мішені.

Таблиця 1.1.1

Новоутворення із зрілих В-лімфоцитів в переглянутій класифікації
BOOЗ (2016) [25]

Хронічний лімфолейкоз / лімфома з малих лімфоцитів
Моноклональний В-лімфоцитоз*
В-клітинний пролімфоцитарний лейкоз
Лімфома маргінальної зони селезінки
Волосковоклітинний лейкоз
<i>В-клітинна лімфома / лейкоз селезінки некласифікована</i>
<i>Дифузна лімфома червоної пульпи селезінки з малих В-лімфоцитів</i>
<i>Волосковоклітинний лейкоз-варіант</i>
Лімфоплазмоцитарна лімфома
Макроглобулінемія Вальденстрема
Моноклональна гаммапатія невизначеного значення (МГНЗ), IgM*
Хвороба μ -важких ланцюгів
Хвороба γ -важких ланцюгів
Хвороба α -важких ланцюгів
Моноклональна гаммапатія невизначеного значення (МГНЗ), IgG/A*
Плазмоклітинна міелома
Солітарна плазмоцитома кістки
Позакісткова плазмоцитома
Хвороби, пов'язані з відкладенням в тканинах моноклонального імуноглобуліну*
Екстранодальна лімфома маргінальної зони, асоційована з лімфоїдною тканиною слизової оболонки (MALT-лімфома)
Лімфома маргінальної зони лімфатичного вузла
<i>Лімфома маргінальної зони лімфатичного вузла дитячого віку</i>
Фолікулярна лімфома
Фолікулярне новоутворення <i>in situ</i> *
Фолікулярна лімфома дуоденального типу*
Фолікулярна лімфома дитячого типу (ФЛДТ)*
<i>В-великоклітинна лімфома з перебудовою IRF4</i>
Первинна лімфома шкіри з клітин центрів фолікулів
Лімфома з клітин мантиї
Неоплазія з клітин мантиї <i>in situ</i>
Дифузна В-великоклітинна лімфома (ДВБКЛ), неуточнена
Тип з В-клітин зародкового центру*
Тип з активованих В-клітин*

В-великоклітинна лімфома, багата Т-клітинами / гістіоцитами
Первинна дифузна В-великоклітинна лімфома ЦНС
Первинна дифузна В-великоклітинна лімфома шкіри, тип нижніх кінцівок
ВЕВ ⁺ дифузна В-великоклітинна лімфома (ДВБКЛ), неуточнена*
<i>ВЕВ⁺ виразка слизових / шкіри*</i>
ДВБКЛ, асоційована з хронічним запаленням
Лімфоматоїдний гранулематоз
Первинна В-великоклітинна лімфома середостіння (тимуса)
Внутрішньосудинна В-великоклітинна лімфома
ALK ⁺ В-великоклітинна лімфома
Плазмобластна лімфома
Первинна лімфома ексудатів
ННВ8 ⁺ дифузна В-великоклітинна лімфома (ДВБКЛ), неуточнена*
Лімфома Беркітта
<i>Беркітто-подібна лімфома з аберацією 11q*</i>
В-клітинна лімфома високого ступеня злоякісності, з перебудовою генів MYC і BCL2 і / або BCL6*
В-клітинна лімфома високого ступеня злоякісності, неуточнена*
В-клітинна лімфома некласифікована, з ознаками проміжними між ДВБКЛ і класичною лімфомою Ходжкіна

Примітки: курсивом виділені попередні нозологічні форми

* зміни порівняно з класифікацією ВООЗ 2008 р.

Таблиця 1.1.2

Основні зміни, які враховані в класифікації ВООЗ 2016 р., у порівнянні з попередньою [21]

Новоутворення із зрілих В-лімфоцитів	Цитологічні, імуноцитохімічні та молекулярно-генетичні ознаки.
ХЛЛ/ЛМЛ	Цитопенії, або інші пов'язані з хворобою симптоми зараз є недостатньою умовою для встановлення діагнозу ХЛЛ у хворих з кількістю лімфоцитів в крові $<5 \times 10^9/L$.
	Великі/злиті та/або високопроліфераційні центри розповсюдження є несприятливим прогностичним показником.
	Досліджено мутації потенційної клінічної релевантності, такі як TP53, NOTCH1, SF3B1, ATM та BIRC3.
МВЛ	Потрібно відрізнити МВЛ низького та високого ступеню злоякісності.
ВКЛ	Мутації BRAF V600E у переважній більшості випадків із мутацією MAP2K1 у більшості випадків, де використовується IGHV4-34 та відсутність

	мутації <i>BRAF</i> .
Лімфоплазмочитарно лімфома (ЛПЛ)	Мутації <i>MYD88</i> , <i>L265P</i> в переважній більшості випадків впливають на діагностичні критерії, навіть якщо виявлення не є специфічним для ЛПЛ. IgM <i>MGUS</i> більш тісно пов'язаний з ЛПЛ та іншими В-клітинними лімфомами, ніж з мієломою.
Фолікулярна лімфома (ФЛ)	Мутаційний потенціал вже краще вивчений, клінічні прояви ще належить визначити.
Фолікулярна неоплазія <i>in situ</i>	Нова назва «фолікулярна неоплазія <i>in situ</i> » відображає низький ризик переходу в лімфому.
ФЛ дитячого типу	Локалізована клональна проліферація з гарним прогнозом. Зустрічається у дітей та молодих людей, рідше у людей старшого віку. Консервативний терапевтичний підхід може бути достатнім.
ДВБКЛ з перегрупуванням <i>IRF4</i>	Нова тимчасова нозологія, яка відрізняється від ФЛ дитячого типу та інших ДВБКЛ. Часто залученими в патологічний процес є шийні лімфатичні вузли або кільце Вальдеєра
ФЛ дуоденального типу	Локалізований процес з низьким ризиком поширення.
ФЛ дифузного типу з видаленням 1p36	Представлена у вигляді локалізованої маси, часто пахової. Характеристикою деяких випадків ФЛ дифузного типу є відсутність реаранжування <i>BCL2</i> .
ЛКМ	За різними клініко-патологічними проявами та молекулярно-патогенетичними каскадами відокремлені два підтипи ЛКМ: один в значній мірі з немутованим а/або мінімально мутованими генами <i>IGHV</i> та здебільшого <i>SOX11</i> ⁺ , другий - з мутованими генами <i>IGHV</i> та здебільшого <i>SOX11</i> ⁻ . Мутації потенційного клінічного значення, такі як <i>TP53</i> , <i>NOTCH1/2</i> , виявлені в невеликій кількості випадків. Реаранжування <i>CCND2</i> виявляються приблизно в половині випадків циклін D1- негативних ЛКМ.
Неоплазія клітин мантиї <i>in situ</i>	Нова назва «неоплазія клітин мантиї <i>in situ</i> » відображає низький клінічний ризик.
ДВБКЛ, неуточнена	Відмінність типу GCB від ABC/non-GC, має бути охарактеризована з використанням прийнятного імуногістохімічного алгоритму, що може вплинути на вибір методів терапії. Коекспресія <i>MYC</i> та <i>BCL2</i> вважається новим прогностичним маркером лімфоми з подвійною експресією.

	Мутаційний потенціал вже вивчений, але клінічні прояви ще належить визначити.
ВЕБ ⁺ ДВВКЛ, неуточнена	Цей термін доповнює ВЕБ ⁺ ДВВКЛ, що виникають у людей похилого віку, оскільки пухлини даного типу можуть виникати і у молодих пацієнтів.
ВЕБ ⁺ виразка слизової оболонки/шкіри	Нещодавно виокремлене утворення, пов'язане з ятрогенною імуносупресією або віковою імуносенесценцією.
Лімфома Беркітта	Мутації генів <i>TCF3</i> або <i>ID3</i> спостерігаються у 70% випадків.
Беркіттоподібна лімфома з аберацією 11q	Нова попередня нозологія, яка дуже нагадує лімфому Беркітта, але без реаранжування <i>MYC</i> і має деякі інші відмінні риси.
Повноцінна В-клітинна лімфома з транслокаціями <i>MYC</i> та <i>BCL2</i> та / або <i>BCL6</i>	Нова категорія “подвійних/потрійних” лімфом, окрім різних типів ФЛ та лімфобластних лімфом.
В-клітинна лімфома високого ступеня злоякісності, неуточнена	Разом з новою категорією «подвійних/потрійних» лімфом, дана патологія замінює категорію В-клітинних лімфом 2008 року, яку неможливо було класифікувати, з особливостями проміжними між ДВВКЛ та лімфомою Беркітта.
	Включає В-великоклітинні лімфоми, що характеризуються наявністю бластоїдних елементів, та випадки, у яких відсутні транслокації <i>MYC</i> та <i>BCL2</i> або <i>BCL6</i> .

1.2 Патогенетичні особливості та цитогенетичні аномалії при різних формах неходжкінських лімфом

З розвитком молекулярно-біологічних наук на зміну ксеногенним антисироваткам приходять моноклональні антитіла (МкАт). В 1975 р. завдяки створенню гібридомної технології (G. Köhler і C. Milstein) стало можливим отримувати МкАт в необмеженій кількості, що призвело до їх широкого застосування в різних галузях медицини та багатьох лабораторіях світу. У 1979 р. були отримані перші МкАт проти диференційних антигенів лімфоїдних клітин людини. Вони взаємодіяли з антигенами, в подальшому позначеними як CD1a, які експресувалися на поверхневих мембранах

тимоцитів. До системи кластерів диференціювання CD (cluster of differentiation) входять різноманітні антигени поверхневих мембран, ядер, цитоплазми клітин різних тканин та органів [26]. Спочатку використання МкАт обмежувалось дослідженням імунофенотипу кровотворних та лімфоїдних клітин, що розташовувались ізольовано в клітинних суспензіях, і вже значно пізніше в кріостатних зрізах. З часом групою вчених D. Mason, C.R. Taylor, H. Stein та іншими дослідники були розроблені модифікації імуногістохімічного методу. Вдосконалення та адаптування методу дало можливість використовувати ферментну мітку для вивчення зрізів, виготовлених з залитих в парафін тканин. Розроблені підходи для вибору МкАт, які б могли оптимально реагувати з клітинними антигенами. Завдяки тому, що в парафінових зрізах краще зберігаються цитоморфологічні ознаки досліджуваних клітин, запропоновані методи стали доступними широкому колу патологів, які працюють в різних діагностичних центрах [28, 29]. Були досліджені та охарактеризовані лімфоми В- і Т-клітинного походження. В цей же час стрімкими темпами почало розвиватися вивчення молекулярно-генетичних особливостей клітин, пов'язаних з виникненням та розвитком пухлин лімфоїдної тканини.

Цитогенетичні аномалії, які були виявлені та охарактеризовані першими, стосувалися клітин фолікулярної лімфоми: t(14;18) (q32;q21) та лімфоми Беркїтта: t(8;14) (q24;q32) [30]. В подальшому стало можливим клонувати гени, які приймають участь в цих транслокаціях. Встановлення клональної природи та лінійної належності злоякісно трансформованих клітин при НХЛ було реалізоване завдяки вивченню генів імуноглобулінів та Т-клітинного рецептору для антигену [26].

Зміни, які відбуваються на рівні однієї клітини, генетичну матрицю рецепторів антигенів, реаранжування онкогенів стало можливим вивчати завдяки створенню нових методів – флуоресцентної гібридизації *in situ* (FISH), та полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Застосування ПЛР в поєднанні з методом мікродисекції одиничних ізольованих клітин дало

можливість виявити реаранжування гена важких ланцюгів імуноглобулінів (IGH[@]) в клітинах Березовського-Штернберга, що слугувало важливим аргументом в остаточному вирішенні питання про істинну природу цих клітин [5]. В ряді робіт продемонстровано, що транслокації з залученням генів-супресорів та онкогенів відіграють важливу роль в патогенезі захворювань лімфоїдної тканини. Показано, що певні вірусні геноми володіють здатністю вбудовуватись в геном нормальної клітини, що приводить до її трансформації в злоякісну. Також встановлено, що трансформацію Т- В- ПК-клітин в ряді випадків може викликати вірус Епштейн-Барр (ВЕБ). Важлива роль в патогенезі та прогресуванні первинної лімфоми ексудатів, Т-клітинного лейкозу/лімфоми дорослих та лімфоми, асоційованої з захворюванням Кастлмана, належить вірусам HTLV-1 і HHV-8/KSHV [26].

У (табл. 1.2.1) представлені деякі етіологічні фактори і можливі патогенетичні механізми, що лежать в основі виникнення лімфом, які на думку відомих експертів-патологів, необхідно брати до уваги при класифікації цієї групи новоутворень [32].

Таблиця 1.2.1

Патогенетичні механізми і базисні підходи до класифікації лімфом [5]

Лімфоми, асоційовані з інфекційними агентами	
Назальні, ПК / Т-клітинні лімфоми шкіри і пухлини з системними проявами	ВЕБ
Т-клітинний лейкоз / лімфома дорослих	HTLV-1
Лімфома маргінальної зони	H.pylori, B.burkholderi, C.jejuni, вірус гепатита С (HCV)
Первинна лімфома ексудатів, В-великоклітинна лімфома, асоційована з мультицентричним захворюванням Кастлмана	HHV-8/KSHV

Плазмобластна лімфома, лімфома Беркітта, дифузна В-великоклітинна, лімфома Ходжкіна	ВЕБ (частина випадків)
Лімфоми з порушеннями регуляції апоптозу та шляхів виживання	
Фолікулярна лімфома	<i>BCL2/ IGH[@]</i>
MALT-лімфома	<i>AP12/MAL1 і варіанти</i>
Лімфоми з порушенням регуляції клітинного циклу	
Лімфома з клітин мантийної зони	<i>CCND1/ IGH[@]</i>
Лімфома Беркітта	<i>MYC/ IGH[@] і варіанти</i>
Лімфоми з порушеннями регуляції клітинних сигналів і транскрипції	
Анапластична великоклітинна лімфома	<i>NPM/ALK і варіанти</i>
Дифузні В-великоклітинні лімфоми	<i>BCL6, NFκB, Stat6</i>
Лімфоми, асоційовані з вродженою або набутою чутливістю організму	
Т-клітинна лімфома, асоційована з ентеропатією	Генетичні, алергія до білка пшениці
Екстранодальні і системні, ВЕБ ⁺ Т/ПК	Генетичні, реакція організму на ВЕБ
Гепатоспленічна Т-клітинна лімфома	Імуносупресія в комбінації з хронічною антигенною стимуляцією
Лімфоматоїдний папульоз	Часткова дисфункція імунної системи і ВЕБ
Лімфома Беркітта	Поліклональна активація В-клітин з або без імуносупресії (малярія, ВІЛ)
Посттрансплантаційні і інші ятрогенні лімфопроліферативні захворювання	Ятрогенна імуносупресія

Наразі встановлення діагнозу ґрунтується не лише на даних, отриманих за допомогою конкретних методів. Це є цілісний підхід з залученням результатів цілого комплексу досліджень. Встановлення діагнозу лімфоми, перш за все, ґрунтується на даних гістологічного та імуногістохімічного

дослідження біопсійного матеріалу. В якості додаткових критеріїв для верифікації діагнозу та підбору оптимального курсу лікування використовують результати цитогенетичних та молекулярно-генетичних досліджень (табл 1.2.2).

Таблиця 1.2.2

Характерні цитогенетичні аномалії і експресія ряду онкогенів і генів-супресорів пухлин при різних типах неходжкінських лімфом [29, 35]

нозологічна форма	Специфічні транслокації хромосом	Онкогени та гени-супресори
ФЛ	t (14;18) (q32;q21)	<i>BCL2</i>
ЛПЛ	t (9;14) (p13;q32)	<i>PAX5</i>
ЛКМ	t (11;14) (q13;q32)	<i>BCL1</i>
Екстанодальна В-клітинна лімфома маргінальної зони MALT-типу	t (11;18) (q21;q21)	<i>API, ML2</i>
Лімфома Беркітта	t (8;14) (q24;q32) t (8;22) (q24;q11) t (2;8) (p12;q24)	<i>C-MYC</i>
ДВБКЛ	Транслокації з залученням 3q27	<i>BCL6</i>
Лімфобластний лімфома/лейкоз із Т-клітин-попередників	t (1;14) (p32-34;q11)	<i>TAL1</i>
Анапластична великоклітинна лімфома, первинно системного типу	t (2;5) (p23;q35) Варіант транслокації з залученням 2p23, а також t(1;2), t(2;3) inv(2)(p23;q35)	<i>NPM, ALK</i> <i>ALK</i> та інші гени – партнери

Всі типи лімфом, що виділяють в класифікаціях REAL та BOO3, мають ряд характерних клініко-патологічних особливостей та специфічних біологічних властивостей. Серед них відокремлені патологічні процеси, що характеризуються високоагресивним, агресивним та індолентним характером перебігу (табл 1.2.3). Прогноз та протікання захворювання при певних нозологічних формах НХЛ, за рекомендаціями авторів класифікації BO3,

визначається за допомогою показників одного з чотирьох типів кривих 5-річної загальної виживаності пацієнтів, що проходили лікування за стандартними програмами. До групи зі сприятливим прогнозом перебігу захворювання, де 5-річна виживаність складає більше 70% за даними Armitage et al. [36, 37, 38], входять пацієнти з діагнозами: фолікулярна лімфома, анапластична великоклітинна лімфома та лімфома MALT типу. До групи з проміжним прогнозом перебігу захворювання, де 5-річна загальна виживаність складає 50-70%, відносять пацієнтів з діагнозами: лімфома з малих лімфоцитів, пухлини з субстратних клітин маргінальної зони та лімфоплазмочитарна лімфома. До групи з найгіршим прогнозом перебігу захворювання входять пацієнти з діагнозом лімфома з клітин мантийної зони [26].

Таблиця 1.2.3

Частота ураження кісткового мозку і 5-річна виживаність хворих з найбільш поширеними формами НХЛ [35]

Нозологічні форми	Частота, %	Співвідношення чоловіків та жінок	Середній вік хворих, роки	Ураження кісткового мозку, %	5-річна виживаність, %
Лімфобластна лімфома (Т- або В-клітинна)	2	1,8:1,0	28	11	14
В-ХЛЛ/ЛМЛ	6	1,1:1,0	65	5	8
ЛПЛ	1	1,1:1,0	63	13	7
ЛКМ	6	2,8:1,0	63	7	9
ФЛ	22	0,7:1,0	59	15	16
ДВБКЛ	31	1,2:1,0	64	29	13
Медіатекальна лімфома з крупних В-клітин	2	0,5:1,0	37	56	3
Лімфома Беркітта	1	8,1:1,0	31	25	0
Екстранодальна В-клітинна лімфома маргінальної зони MALT-типу	5	0,9:1,0	60	28	2
В-клітинна лімфома	1	0,7:1,0	58	13	34

маргінальної зони лімфатичного вузла					
Первинна Т- клітинна лімфома	6	1,2:1,0	61	8	15
Анапластична великоклітинна лімфома	2	2,2:1,0	34	19	10

1.3. Стадії диференціювання В-лімфоцитів, їх зв'язок з різними нозологічними формами неходжкінських лімфом

Диференціювання В-лімфоцитів людини бере початок в кістковому мозку – центральному органі імунної системи, з стовбурових кровотворних клітин. Про-В, або В-клітини-попередники – це найбільш ранні клітини В-лімфоїдного походження, які можуть бути ідентифіковані при мікроскопічному дослідженні. На їх поверхневих мембранах експресовані антигени CD79a, CD19, PAX5, BSAP (В-клітинний специфічний білок), а також ряд антигенів, що характеризують стадії В-клітинного дозрівання – CD10, CD34, TdT. Саме на цьому етапі бере початок реаранжування генів локусу тяжких ланцюгів імуноглобулінів. В процесі соматичного реаранжування термінальна дезоксинуклеотидилтрансфераза (TdT) відіграє важливу роль: вбудовує N фрагмент поміж V, D та J сегментами. Після завершення рекомбінації ген TdT інактивується, тому всі зрілі В-клітини є TdT-негативними [40].

Феномен спряженої експресії пан-В-клітинних антигенів PAX5 та CD79a фіксується на стадії про-В-клітин. Експресія антигену CD19 з'являється на В-клітинах кісткового мозку раніше і відмічається на всіх стадіях дозрівання, включаючи етапи плазмоцитарного диференціювання. Цей маркер широко застосовується при проведенні дослідження з допомогою проточного цитофлуориметра і набагато менш надійний при імуногістохімічному дослідженні [40]. На пізніх етапах дозрівання В-клітин починає експресуватися антиген CD22, тому в диференційній діагностиці В-клітинного гострого лімфобластного лейкозу/лімфомі його застосування

вкрай обмежене. Експресія CD38 з'являється в медіані цього етапу дозрівання В-клітин, однак, окрім стадії кістковомозкового дозрівання, даний антиген експресується і на етапі диференціації в зародкових фолікулярних центрах та розвитку плазматичних клітин [40].

Специфічний В-клітинний протеїн BSAP є ядерним ДНК зв'язуючим білком і кодується геном *PAX5*, розташованим на хромосомі 9q13. В-клітинний напрям лінійного диференціювання починається з ранньої кістковомозкової В-клітини попередника і виявляється на всіх подальших етапах у вигляді детермінованої експресії продукту цього гену. Експресія даного гену визначається майже при всіх НХЛ, починаючи з В-клітинного лімфобластного лейкозу/лімфрмі та закінчуючи патологічними процесами при яких субстратні клітини втрачають В-клітинні рецептори. При диференційній діагностиці В-клітинного лімфобластного лейкозу/лімфомі *PAX5* є найбільш надійним маркером, так як пан-В-клітинний антиген CD79a може також експресуватися при гострих мієлоїдних лейкозах та Т-лімфобластній лімфомі. Антиген CD20 експресується у вигляді мембранної реакції різної інтенсивності в різному пулі клітин при В-клітинних лімфомах, і при В-лімфобластній лімфомі [40].

Наступний етап диференціювання – пре-В-клітина. На даному етапі дозрівання детектується експресія антигену CD10 та ферменту TdT. Може виявлятися в імуногістохімічному дослідженні при негативній реакції на CD34 слабка мембранна експресія CD20 та поверхнева експресія CD45. Поверхнева експресія IgM з'являється внаслідок подальшого реаранжування генів. Подальша проліферація незрілих В-клітин та їх диференціювання в зрілі наївні В-клітини асоціюється з відсутністю експресії CD38 і CD27 та одночасною експресією IgD і IgM. З током крові наївна В-клітина мігрує в периферичні лімфоїдні органи (селезінку та лімфатичні вузли) і разом з фолікулярними дендритними клітинами формує первинні фолікули. В подальшому ця група наївних В-клітин витісняється до периферії первинного фолікула, створюючи так звану зону мантії. Клітини цієї зони експресують на

своїй поверхні CD23 та CD5. В результаті цих процесів згодом формується вторинний фолікул. При наявності безпосереднього контакту з антигеном друга субпопуляція наївних В-клітин зв'язується з ним в Т-клітинній зоні лімфоїдної тканини, трансформуючись в фолікулярний В-бласт, який диференціюється в короткоживучі IgM^+ плазматичні клітини та антиген індуковані первинні В-клітини. Частина екстрафолікулярних В-клітин є так званими про-герміногенними клітинами, тобто такими, що займають проміжне положення між наївними В-клітинами та герміногенними клітинами зародкових центрів лімфоїдних фолікулів. Вони експресують активаційно індуковану цитидиндезаміназу (AID). Популяція прегерміногенних В-клітин, можливо, є непухлинним аналогом клітин лімфоми з зони мантиї [41].

"Первинні В-клітини" ініціюють в зародкових центрах фолікула реакцію, в результаті якої вони трансформуються в швидко проліферуючі центробласти. Процес трансформації центробластів в центроцити супроводжується соматичними мутаціями IgH . Для реалізації соматичних гіпермутацій та подальшого переключення класів імуноглобулінів необхідним є фермент AID [42]. Експресія AID вважається маркером проходження В-клітиною процесу фолікулярного диференціювання [40].

Антиген CD10 та транскрипційний фактор BCL6 вважаються найбільш важливими маркерами фолікулярного (герміногенного) диференціювання. За допомогою цих маркерів можна відрізнити В-клітини лімфоїдних фолікулів від наївних В-клітин. Важливо зазначити, що антиген CD10 експресується на стадіях про-В та пре-В-лімфоцитів, потім втрачається і знову з'являється на поверхневих мембранах клітин на етапі їх диференціювання у зародкових центрах лімфоїдних фолікулів. В формуванні та функціонуванні зародкових центрів важливу роль відіграє антиапоптичний білок BCL6. Саме він виконує функцію інгібітора процесу диференціювання В-клітин зародкових центрів в плазматичні клітини. Цю функцію BCL6 реалізує завдяки зв'язуванню з активаторами, які попереджують експресію головного маркера

плазмоклітинного диференціювання (Blimp1), що інгібує експресію p53. На пізніх етапах дозрівання в фолікулах, після інактивації BCL6, проліферація В-клітин контролюється MUM.1 та Blimp1. Важливим елементом подальшого дозрівання В-лімфоцитів в плазматичні клітини є інактивація PAX5 та активація XBP [40].

Ключовими в процесах диференціювання В-клітин є також лінійно-рестриктовані транскрипційні фактори, які регулюють функцію генів. До них належать Oct.1, Oct.2 (октамери ATGCAAAT), які зв'язують транскрипційні фактори, і BoB.1 (В-клітинний Oct-зв'язуючий білок 1). Якщо розглянути ланцюг активації, то виявляється, що PAX5 регулює Oct.1 и Oct.2, які активуються шляхом взаємодії з BoB.1 [40].

При подальшому диференціюванні В-клітини набувають здатності перемикаати ізотипи тяжких ланцюгів (IgM/D → IgG → IgA, IgE), і трансформуватись в довгоживучі плазматичні В-клітини пам'яті. Асоційоване з міграцією В-клітин за межі фолікула плазмоклітинне диференціювання починається в світлій зоні зародкового центру. Даний етап можна дослідити за допомогою імуногістохімічного дослідження з використанням МкАт до антигенів CD38, VS38с, CD138 та MUM.1/IRF4. На даному етапі спостерігається зниження експресії пан-В-клітинних антигенів CD20, PAX5, CD19. На В-клітинах пам'яті спостерігається яскрава експресія IgM, CD27. Частина клітин дає позитивну реакцію при визначенні IgG та негативну при спробах дослідити експресію IgD. Концентруються В-клітини пам'яті в маргінальній зоні лімфоїдного фолікула, що носить назву Хомінг ефекта. Він є характерним для клітин лімфоїдної тканини, оболонки кишково-щлункового тракту, асоційованої з епітелієм слизової [40].

Загалом нормальні клітинні аналоги патологічних клітин при В-клітинних неходжкінських злоякісних лімфомах належать до однієї з наведених на (рис. 1.3.1) стадій диференціювання В-клітин (постфолікулярна В-клітина, наївна В-клітина та фолікулярна В-клітна) [5].

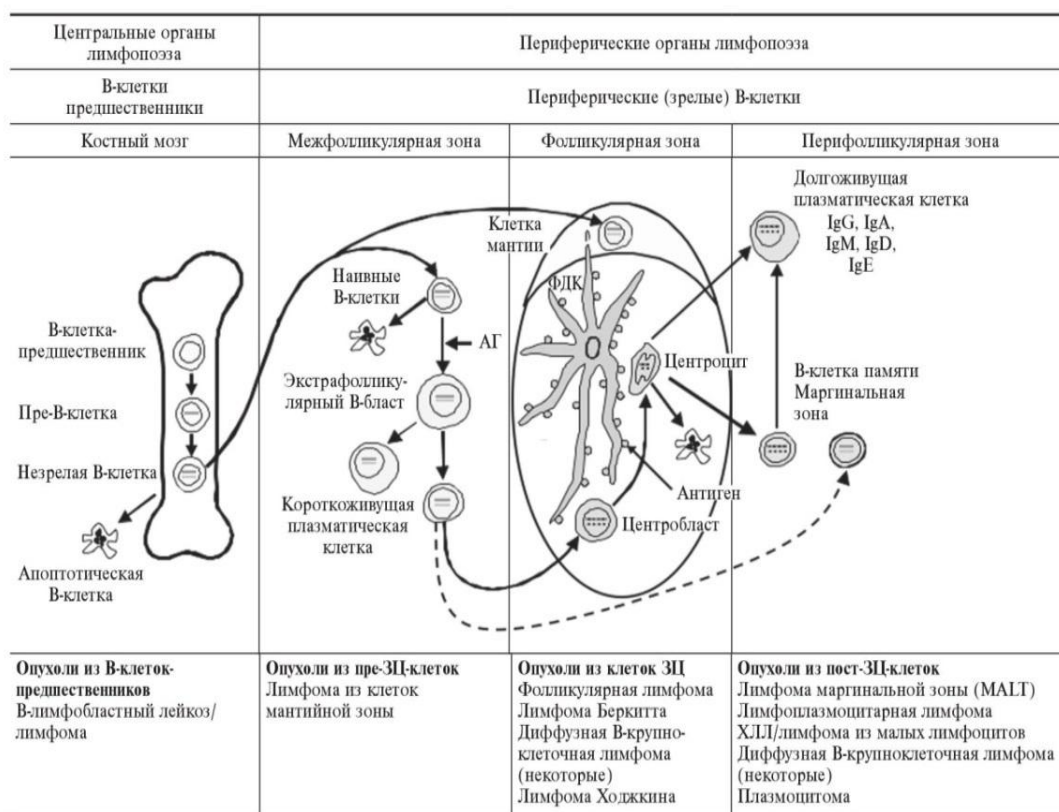


Рис. 1.3.1 Схема диференціювання В-клітин [5]

Припускають, що субстратні клітини В-ХЛЛ/лімфоми з малих лімфоцитів можуть мати як міжфолікулярне, так і перифолікулярне походження. Стосовно походження В-клітинного моноклонального лімфоцитозу питання залишається відкритим і потребує ретельного вивчення. Маркерні антигени В-клітин, що визначають окремі стадії їх диференціювання, знаходять широке застосування в сучасній діагностиці В-НХЛ.

1.4. Диференційні антигени В-клітин

На даний час широкомасштабна робота по вивченню структури, функцій та локалізації антигенів поверхневих мембран лімфоїдних і кровотворних клітин проводиться під егідою Комітетів Міжнародного союзу імунологічних спільнот та ВООЗ за номенклатурою та стандартизацією [44, 46]. Систематизовані дані майже про 400 антигенів клітин людини, що

увійшли до кластерів диференціювання CD, які на протязі 1982–2014 р.р. були зареєстровані на 11 Міжнародних робочих нарадах [27, 47, 61]. Наведена інформація про гени, що кодують молекули CD, їх родини, локалізацію на хромосомах та експресію мікроРНК, дана характеристика ізоформ білкових молекул, уточнені дані про їх молекулярну масу та тканинну специфічність [47, 61].

При проведенні власних імуноцитохімічних досліджень ми базувалися на представлений в доступній літературі інформації стосовно експресії антигенів на різних стадіях диференціювання та активації В-лімфоцитів, їх взаємодії з іншими імунокомпетентними клітинами та позаклітинними структурами мікрооточення кісткового мозку та лімфоїдних органів. Це дало можливість дослідити експресію основних диференційних антигенів субстратних клітин при різних формах неходжкінських В-клітинних лімфом в фазі лейкоїзації.

Загально прийняти номенклатура CD-антигенів є хронологічно складеним списком, в якому порядковий номер молекули характеризує час її реєстрації. Більша частина CD молекул мають білкову природу, і лише невелика частина – вуглеводну. При проведенні ряду досліджень, окрім позитивних та негативних виділяють такі популяції клітин, як CD^{hi} , CD^{mid} , CD^{low} , що, в свою чергу, вказує на варіабельність рівня експресії. Важливим є той факт, що дана номенклатура характеризує CD без урахування функціональної активності відповідних маркерів. Велика кількість антигенів, які входять в склад тих чи інших CD-агентів, є лігандами або рецепторами, що приймають участь в міжклітинній взаємодії або взаємодії з позаклітинним матриксом. Ще однією важливою функцією багатьох описаних молекул є передача регуляторних сигналів в клітину. В даний час активного дослідження набуло вивчення функцій диференційних антигенів, які не задіяні в процесах проліферації, диференціації, активації та міграції клітин [27].

Зупинимося на більш детальній характеристиці деяких маркерів В-клітин, які використовуються з метою вивчення і уточненої діагностики НХЛ В-клітинного походження [27, 46-55, 102, 132-135]:

CD5 – мембранний глікопротеїн I типу, приймає участь в регуляції проліферації Т-клітин. Після активації TCR зв'язується з тирозин-специфічною фосфатазою SHP-1 (PTPN6), яка функціонує в якості негативного регулятора TCR-опосередкованої активації Т-клітин. CD5 координує регуляторні сигнали, зв'язуючись з BCR в популяціях В-1а В лімфоцитів, які, в свою чергу, запускають процеси апоптозу, та блокування процесів проліферації. Також він може взаємодіяти з CD72, який може функціонувати як інгібітор передачі сигналів від BCR-рецептора. Експресується на В1а - субпопуляції В-лімфоцитів, та ряді інших клітин. CD5 - важливий фенотиповий маркер деяких В-клітинних лімфопроліферативних захворювань (ХЛЛ/ЛМЛ, ВКЛ, лімфома з клітин мантиї).

CD10 – мембранний глікопротеїн II типу, Zn^{2+} – залежна нейтральна ендопептидаза, важливими функціями якої є інактивація та протеоліз опіоїдних пептидів, інгібування гормонів пептидної будови (окситоцин, глюкагон, брадикінін, бомбезин) та вазоактивних пептидів (ангіотензин-I, -II, адреномедулін, ендотелін-I). CD10 проявляє активність еластази, що активується під дією ультрафіолетового випромінювання, є важливим маркером при проведенні диференційної діагностики гострих лімфоїдних лейкозів (ГЛЛ). Експресується на В-клітинах зародкових центрів лімфоїдних фолікулів та ряді інших клітин. CD10 – важливий фенотиповий маркер в більшості випадків при лімфомі Беркітта спорадичного типу, при ДВБКЛ (30%), при M0 варіанті гострих мієлоїдних лейкозів (ГМЛ) та при множинній мієломі. Даний антиген є важливим маркером диференційної діагностики для фолікулярної лімфоми.

CD11c – мембранний глікопротеїн I типу α_x -субодиниця інтегрінових рецепторів, утворює гетеродимерний комплекс за рахунок зв'язування з β_2 -субодиницею, який експресується на субпопуляціях В-

клітин, субпопуляції Т-клітин, моноцитах, макрофагах, гранулоцитах. CD11c приймає участь у процесах міжклітинної взаємодії при різноманітних запальних процесах, процесах хемотаксису, може бути залучений в патогенез ВКЛ.

CD19 – мембранний білок, здатний формувати специфічні комплекси з CD21 (CR2) і CD81 на поверхневих мембранах лімфоцитів. При зв'язуванні ліганда з рецептором запускається процес фосфорилування цитоплазматичного домену молекули, що забезпечує прискорення взаємодії з тирозин-специфічними кіназами сімейства SRC. При подальшому проведенні сигналу в клітину починають активуватися PI3K-кінази, що запускає процес вивільнення іонів Ca^{2+} з депо. CD19 не приймає участь в ранніх етапах диференціювання В-клітин в кістковому мозку. Залучається в процеси диференціювання та проліферації клітин у відповідь на специфічні антигени, може бути залучений в патогенез імунodefіциту. CD19 експресується В-лімфоцитами зародкових центрів та маргінальної зони лімфоїдних фолікулів, виявляється також на фолікулярних та дендритних клітинах. Даний антиген не експресується на плазматичних та злоякісно трансформованих В-клітинах.

CD20 – мембранний білок, що характеризується наявністю 4 трансмембранних доменів, N- і С-кінцеві ділянки якого знаходяться в цитоплазмі, приймає участь в перенесенні іонів Ca^{2+} в цитоплазму клітин, що є дуже важливим в процесах проліферації та диференціювання В-клітин в плазматичні клітини. Процес реалізується за рахунок того, що CD20 функціонує в якості субодиниці депоконтрольованих каналів (SOCs). Після специфічної активації B-cell receptor (BCR) починає функціонувати помпа з перенесення іонів Ca^{2+} в середину клітини. Опосередковано він приймає участь в клітинній відповіді на Т-незалежні антигени та може бути залучений до процесів патогенезу імунної недостатності, експресується виключно на В-клітинах (від стадії про-В до пізніх етапів диференціювання в плазматичні клітини). Саме виявлення CD20 використовуються при дослідженні та

ідентифікації В-клітинної природи при лімфоїдних формах хронічних та гострих лейкозів та НХЛ.

CD22 – сіалозв'язуючий лектин, синтезується на стадії про-В-клітин і локалізований в цитоплазмі. На наступних етапах диференціювання (стадії пре-В-клітин) переходить на цитоплазматичну мембрану де зберігається до пізніх етапів, включаючи В-клітини пам'яті. CD22 експресується в цитоплазмі про-В- та пре-В клітин, на поверхневих мембранах зрілих В-клітин. Головною функцією вважається його участь в опосередкованих процесах міжклітинних взаємодій В-клітин, приймає участь у міграції В-клітин з кісткового мозку до вторинних лімфоїдних органів, функціонуючи як ініціатор запуску взаємодії між глікопротеїнами та сіалованими вуглеводними ланцюгами, до яких належить і CD45. CD22 розпізнає переважно структури, що складаються з $\alpha 2,6$ -зв'язаних залишків сіалових кислот. Після активації BCR-рецептору за рахунок взаємодії з тирозин-специфічними кіназами родини SRC передає сигнал в середину клітини. Даний антиген може бути виявлений при ряді рефрактерних до терапії форм онкогематологічних захворювань та ВКЛ.

CD23 – мембранний білок, рецептор для Fc-фрагменту IgE і CR2 (CD21) і є специфічним для В-клітин антигеном та відіграє важливу роль в процесах диференціювання В-лімфоцитів. CD23 експресується на В-клітинах, моноцитах, фолікулярних дендритних клітинах Т-клітинах, нейтрофілах, еозинофілах, клітинах Лангерганса, задіяний в процесах регуляції продукції IgE.

CD25 – мембранний білок, який являє собою α -субодиницю рецептору інтерлейкіну-2. Даний антиген утворює комплекси з субодиницями- β - і γ , що зв'язують високоафінні ліганди, та комплекси з субодиницею- β , що зв'язують низькоафінні ліганди. CD25 експресується на різних стадіях диференціювання В-лімфоцитів, приймає участь в контролі Treg-регуляторних Т-клітин, які пригнічують експресію та активацію аутореактивних Т-клітин. CD25 приймає участь в регуляції імунної

толерантності, та може бути залученим в патогенез інсулінозалежного діабету.

CD30 – рецептор цитокіна TNFSF8, може бути присутнім в клітині у вигляді як розчинної, так і мембранозв'язаної форм. CD30 експресується на активованих В-клітинах, Т-лімфоцитах, моноцитах, НКК, тромбоцитах, лімфоцитах інфікованих ВІЧ-1, ВЕБ. Основною функцією є взаємодія з адапторними білками (TRAF2 і TRAF5), що веде до процесу активації фактору транскрипції NF-κB, приймає участь в процесах проліферації та трансформації лімфобластів.

CD38 – мембранний глікопротеїн II типу, фермент з АДФ-рибозилциклазною та цАДФ-рибозилгідролазною активністю, який активується після формування димерної структури. Субстратами служать НАД⁺, цАДФ-рибоза, НАДФ, експресується на ранніх та пізніх стадіях дозрівання В- і Т-лімфоцитів, на еритроїдних та мієлоїдних клітинах. Важливим є залучення даного рецептора до процесів секреції інсуліну, проліферації лімфоцитів, процесів сигналіngu.

CD45 – мембранний білок I типу, рецепторна тирозин-специфічна протеїнфосфатаза. Складається з 4 доменів: трансмембранний, позаклітинний та два внутрішньоклітинні. CD45 експресується на плазматичних клітинах, є обов'язковим маркером для ідентифікації лейкоцитів і їх субпопуляцій, приймає участь в передачі сигналів від T cell receptor (TCR), BCR. Даний білок залучений до процесів блокування сигналів від цитокінових рецепторів інгібуючи JAK-кінази. Доведено, що CD45 слугує рецептором білка UL11 цитомегаловірусу людини.

CD79a – мембранний білок. Експресується на В-лімфоцитах. Білковий гетеродимер Igα/Igβ (CD79a/CD79b) входить до складу комплексу BCR і є необхідним в процесі передачі сигналу в клітину, задіяний в процеси диференціювання пре-В- та про-В-клітин. Підвищує активність деяких тирозин-специфічних протеїнкіназ SRC (LYN, FYN і BLK). При

диференціюванні незрілих В-клітин пригнічує передачу сигналу від BCR рецепторів.

CD103 – мембранний глікопротеїн. Експресується на Т-лімфоцитах, та може бути залучений в патогенез ВКЛ та ЛМЗС, приймає участь у формуванні комплексу, що слугує рецептором Е-кадгерину, опосередковано задіяний в процесах адгезії між Т-лімфоцитами.

РЕЗЮМЕ

Класифікація В-клітинних лімфоїдних новоутворень, яка сприяє встановленню уточненого діагнозу на ранніх стадіях захворювання, включає імуноцитохімічні і молекулярно-генетичні критерії виділення багаточисельних різновидів лімфом. Внесені до класифікації зміни слугують ключем для вибору тактики лікування, направленої на клітини-мішені [23].

Представлені в історичному аспекті основні нозологічні форми новоутворень кровотворної, лімфоїдної та споріднених тканин, що увійшли в удосконалену класифікацію ВООЗ (перегляд 2017 року). Їх уточнена діагностика ґрунтується на комплексному обліку клінічних, цитоморфологічних, імунофенотипових, цитогенетичних і молекулярно-генетичних ознак [23].

Головну роль у встановленні уточненого діагнозу відіграє комплексний поетапний підхід із застосуванням методів вивчення цитоморфологічних, цитохімічних та імунофенотипових характеристик субстратних клітин. При дослідженні В-клітинних лімфопроліферативних захворювань в деяких випадках спостерігається морфологічна подібність між різними патологічними процесами представленими клітинами малого/середнього розміру. Саме тому лише дана стратегія та аналіз отриманих результатів може бути використаний при діагностиці онкогематологічних захворювань [31, 33] з використанням ексцизійної біопсії, пункції кісткового мозку і вивченні клітин периферичної крові.

Кожен з цих методів має переваги та недоліки, їх використання керується конкретними клінічними умовами і, в першу чергу, цитоморфологічними даними, які є основою для попереднього діагнозу. Проточна цитометрія стала незамінною при діагностиці та класифікації В-клітинних НХЛ з субстратними клітинами малого та середнього розміру, які визначаються в кістковому мозку та периферичній крові [34, 39].

Ідентифікація трансформованих лімфоїдних клітин в крові та стернальних пунктатах у хворих на В-НХЛ набуває особливого значення на ранніх етапах лейкоїзації процесу. Вибір антитіл визначається результатами морфологічного дослідження, клінічною картиною та кількістю матеріалу, доступного для тестування. Може застосовуватися ступінчастий підхід, який включає, як мінімум CD19, CD20, CD3, CD5, CD10, легкі ланцюги імуноглобулінів κ , - λ та CD23 для початкової оцінки. Додаткові маркери, такі як CD4, CD8, CD7, CD2, CD43 можуть бути включені на різних етапах досліджень. Коефіцієнт $\kappa:\lambda$, що перевищує поріг від 4:1 до 6:1, або коефіцієнт $\kappa:\lambda$, що перевищує 3:1 у проточній цитометрії, як правило, достатній для підтвердження моноклоновості процесу [43, 73]. Для проведення диференційної діагностики у кожному конкретному випадку підбирається власна панель МкАт, в залежності від результатів морфологічного перегляду та даних цитохімічних реакцій.

Незважаючи на розробку складних методів допоміжного тестування, все ще існує ряд спірних питань, а ексцизійна біопсія часто вважається головною в діагностиці лімфом [103]. Частина цього скептицизму пояснюється не лише перекриттям морфологічних особливостей між В-клітинними НХЛ з клітинами малого/середнього розміру, а також з доброякісними реактивними та запальними лімфаденопатіями. Фактично в сучасному світі на перше місце виходить необхідність міждисциплінарної співпраці, багатопараметричного тестування та оцінки адекватності зразка як вимог до оптимальних результатів [104]. Безсумнівно, існують ситуації, коли навіть попередній діагноз можна поставити лише з великими труднощами.

Такі випадки, однак, не властиві лише цитологічним зразкам, і ця морфологічна неоднозначність є частиною причини, чому допоміжне тестування (зокрема дослідження імунофенотипування та результатів цитохімічних реакцій) вважається обов'язковим при діагностиці лімфопроліферативних порушень. Важливо підкреслити, що допоміжні дослідження суттєво керуються первинною цитологічною оцінкою зразка, що також забезпечує основу для правильної інтерпретації результатів допоміжних досліджень.

Результати, які отримані при виконанні дисертаційного дослідження будуть мати як фундаментальну, так і практичну значимість, оскільки стануть підґрунтям для подальших досліджень та будуть впроваджені в медичну практику.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Загальна характеристика обстежених хворих

Дослідження морфологічних, цитохімічних та імунофенотипових характеристик клітин проводили у пацієнтів з підозрою на В-ХЛЛ/ЛМЛ, МВЛ, ЛМЗС, ВКЛ, ЛЧПС, ВКЛ-В, ЛКМ та БВ-ЛКМ, ДВВКЛ, у 20% випадків мали місце екстранодальні вогнища ураження, у 10% випадків проведення ексцезійної біопсії безпосереднього вогнища ураження було неможливим за життєвими показниками (табл. 2.1.1.).

Дану роботу виконано з дотриманням основних принципів Гельсінської декларації 1964 року, з поправками щодо біомедичних досліджень і положень GCHICH, із дотриманням етичних принципів та рекомендацій із залученням людей як суб'єктів, викладених у Белмонтській доповіді. Протоколи дослідження погоджені Локальним етичним комітетом для всіх учасників (протокол №198 - КЕ від 16.06.2014). Члени Комісії з питань біоетики дійшли погодової думки, що надані до експертизи матеріали науково обґрунтовані, у листі інформування пацієнтів чітко викладені всі положення, з якими були ознайомлені пацієнти. Передбачені заходи із забезпечення безпеки для здоров'я людини, дотримання прав пацієнта, людської гідності та морально-етичних норм були витримані у відповідності до Гельсінської декларації прав людини, конвенції Ради Європи про права людини і біомедицини та відповідних Законів України [136].

Таблиця 2.1.1

Групи обстежених хворих

Нозологічна форма	Кількість хворих	Вік (роки)	Співвідношення чоловіки : жінки
В-клітинний хронічний лімфолейкоз	50	60,5±25,5	1,5:1,0

Лімфома з малих лімфоцитів	20	59,0±18,0	1,1:0,9
Моноклональний В-клітинний лімфоцитоз	11	62,5±7,5	4,5:1,0
Лімфома маргінальної зони селезінки	60	72,5±12,5	1,6:1,4
Волосковоклітинний лейкоз	45	48,0±22,0	1,8:1,0
Волосковоклітинний лейкоз- варіант	5	73,0±10,0	1,0:0,0
Лімфома червоної пульпи селезінки	3	65,0±7,0	1,0:0,0
Лімфома мантийної зони	55	66,5±21,5	1,5:1,2
Бластоїдний варіант лімфоми клітин мантиї	9	61,0±16,0	3,5:1,0
Дифузна В-крупноклітинна лімфома	35	61,0±19,0	3,4:1,0
Всього хворих	293		

Для проведення дослідження і встановлення діагнозу матеріалом слугували мазки периферичної крові та пунктатів кісткового мозку, а також мононуклеари, виділені в градієнті щільності фікол-урографіну з гепаринізованої периферичної крові і кісткового мозку, або з проб крові та кісткового мозку з додаванням антикоагулянта (K₃EDTA), в градієнті щільності фікол-урографіну.

В роботі використана сучасна класифікація пухлин кровотворної і лімфоїдної тканин (ВООЗ, 2017р.).

2.2. Методи дослідження

2.2.1. Цитоморфологічний метод. Першим етапом дослідження було вивчення мазків периферичної крові та кісткового мозку, забарвлених за Паппенгеймом [62]. На нефіксовані мазки периферичної крові та кісткового мозку, наносили на 3 хв розчин Май-Грюнвальда; потім до розчину барвника на склі добавляли дистильовану воду в однаковому об'ємі з розчином барвника Май-Грюнвальда, та залишали на 3 хв; змивали дистильованою

водою і на 30-40 хв. (в залежності від температури в кімнаті) наносили розчин Романовського, змішаний з дистильованою водою в пропорції 1:10. Барвник змивали дистильованою та проточною водою і висушували.

2.2.2. Цитохімічні методи. Для виявлення активності та внутрішньоклітинної локалізації ферментів виконували комплекс цитохімічних реакцій.

1. Активність *мієлопероксидази* визначали по методу Леле [63]. Протягом 3 хв. препарати периферичної крові та кісткового мозку фіксували в парах 10% нейтрального формаліну та 20 хв. інкубували при кімнатній температурі в суміші наступного складу: бензидин – 20 мг, 40% етиловий спирт – 10 мл, 3% розчин перекису водню – 0,02 мл. Мазки промивали в дистильованій та проточній воді, висушували, протягом 5 хв. дозабарвлювали розчином Романовського (розведеним в пропорції 1:10 дистильованою водою). Оцінювали активність ферменту за допомогою мікроскопу. В цитоплазмі клітин в місцях локалізації пероксидази спостерігали забарвлення у вигляді гранул жовтувато-коричневого кольору.

2. Активність *кислої фосфатази* визначали за допомогою методу одночасного азопоеднання за Гольдбергом і Барка [64]. Протягом 3 хв. цитологічні препарати периферичної крові та кісткового мозку фіксували в парах 10%-вого нейтрального формаліну та протягом 4,5 год. інкубували при 37⁰С в профільтрованій суміші, яка містила 21 мг нафтол-AS-BI-фосфату (розчинений в 0,2 мл хімічно чистому ацетоні), 75 мл 0,05 М ацетатного буферу (рН 5,5) та гексоазотований парарозанілін. Гексоазотований парарозанілін отримували при змішуванні в пробірці 4 крапель 4% розчину нітриту натрію та 4% розчину парарозаніліну. Пробірку струшували протягом 30 сек. Показниками гексоазотування було потепління розчину, виділення бульбашок газу, поява специфічного запаху та зміна кольору розчину. Після цього препарати промивали проточною водою, висушували, протягом 15 хв. дофарбовували 2% розчином метилового зеленого. Активність ферменту оцінювали за допомогою мікроскопу. В місцях

локалізації кислої фосфатази в цитоплазмі клітин спостерігали відкладання гранул червоного кольору.

При додаванні в інкубаційне середовище інгібітора кислої фосфатази – калій-натрієвої солі виннокамяної (L-тартарової) кислоти в концентрації 0,005 М (352 мг на 25 мл інкубаційної суміші) активність ферменту в клітинах зберігалась лише при деяких нозологічних формах В-клітинних лімфопроліферативних захворювань.

Активність *кислої неспецифічної естерази* визначали за методом Мюллера [65]. Протягом 3 хв. препарати фіксували в парах 10% нейтрального формаліну та протягом 4,5 год. інкубували при кімнатній температурі в профільтрованій суміші наступного складу: 10 мг альфа-нафтилацетату (розчинений в 0,2 мл хімічно чистому ацетоні), 40 мл 0,067 М фосфатного буферу (рН 6,5) та гексоазотований парарозанілін (рН 5,8). Потім промивали дистильованою та проточною водою, висушували, дозабарвлювали протягом 10 хв. 2% розчином метилового зеленого. Активність ферменту в цитоплазмі клітин, що мала характер дифузного чи гранулярного коричнево-червоного забарвлення, оцінювали за допомогою мікроскопу.

Вибір для проведення досліджень зазначених вище цитохімічних методик пояснюється тим, що вони є найбільш доступними з великої кількості різноманітних методик, які дозволяють охарактеризувати лінійну приналежність субстратних клітин, провести диференційну діагностику між різними формами В-клітинних НХЛ.

2.2.3. Імуноцитохімічний метод. Процедура проведення імуноцитологічних досліджень (LSAB-AP метод) включала наступні етапи.

Виділення фракції мононуклеарів з гепаринізованого пунктату кісткового мозку чи венозної крові (отриманих шляхом додавання 10-50 ОД гепарину на 1 мл рідини), або пунктату кісткового мозку та венозної крові, які надходили до нашого відділу в пробірках з антикоагулянтом K_3EDTA . Клітинну суспензію нашаровували на градієнт щільності фікол-верографіну

(6,3 г фікол : 70 мл дистильованої H_2O нагрівали на водяній бані до повного розчинення ($t=60-70^0$), додавали 14 мл верографіну 76% (18 мл – 60%), доводимо загальний об'єм до 92 мл дистильованою H_2O , проводили вимірювання щільності за допомогою ареометра ($d = 1,076-1,078$ доводили верографіном)) та центрифугували протягом 40 хв. при 1600 g. Кільце клітин (кільце преципітації), що утворилося на межі фікол-верографіну та клітинної суспензії, збирали за допомогою шприца з довгою тонкою голкою з рівним зрізом в окрему пробірку, в яку попередньо вносили 2 мл забуференого фосфатним буфером (рН 7,2-7,4) фізіологічного розчину 0,015 М (ЗФР). Клітини відмивали, ресуспендуючи в ЗФР та центрифугуючи 10 хв при швидкості 1800 g. Видаляли надосадкову рідину, повторювали процес відмивання клітин ще двічі, виконуючи центрифугування протягом 5 хв [66].

Розраховували концентрацію відмитих клітин в суспензії: підрахунок клітин проводили в камері Горяєва в п'яти великих квадратах по діагоналі при мікроскопіюванні. Отримана кількість клітин, поділена на 16, відповідала кількості млн клітин в 1 мл. Суспензію клітин розводили забуференим фізіологічним розчином до концентрації 4-6 млн/мл [67].

Готували цитологічні препарати типу «висушеної краплі»: на предметне скло за допомогою піпетки наносили суспензію клітин (4 окремі краплі по 30 мкл), інкубували протягом 20 хв. при кімнатній температурі, різким рухом зливали надосадкову рідину та висушували 10 хв. під вентилятором [68].

Цитологічні препарати типу «висушеної краплі» фіксували 6 хв в парах 10% нейтрального формаліну (100% формалін чи 40% формальдегід розводили 1:9 дистильованою H_2O). Мазки із цільної крові, кісткового мозку фіксували у розчині забуференого формол-ацетона (рН 6,6-6,8) наступного складу: 15 мг $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$, 120 мг KH_2PO_4 , 30 мл H_2O , 45 мл ацетону, 25 мл 40% нейтрального формальдегіду. Мазки діставали із морозильної камери безпосередньо перед фіксацією, розгортали з алюмінієвої фольги і негайно заливали фіксатором на 1 хв, при виявленні цитоплазматичних антигенів

після формол-ацетону мазки заливали тритоном X100 0,3% (1 мл тритоном x100 : 29 мл ЗФР) на 1 хв., після чого розчин зливали, скельця промивали ЗФР і ставили в стакан з тим же буфером [69].

На 60хв наносили первинні мкАТ до різних диференційних антигенів лейкоцитів людини і витримували при кімнатній температурі, у вологій камері. Препарати промивали в ЗФР, надлишок вологи знімали фільтрувальним папером та інкубували з антитілом до імуноглобулінів білої миши, кон'югованим з біотином (Dako A/S, Denmark) протягом 40 хв. Після цього препарати промивали в ЗФР, надлишок вологи знімали фільтрувальним папером та інкубували 1 год. зі стрептавідином кон'югованим з лужною фосфатазою (Dako, Denmark) [70, 71].

Препарати промивали в ЗФР та інкубували 20 хв. при кімнатній температурі в суміші наступного складу: 5 мг нафтол-AS-BI-фосфат (розчинений в 0,2 мл хімічно чистого ацетону), 9,8 мл 0,1М трис-НСl-буфер (121 мг Трис-(оксиметил)-амінометан : 46 мл дистильованої H₂O : 3,9 мл 0,1N HCl рН 8,2), 3 мг 1 М левамізол. Препарати промивали дистильованою водою і дофарбовували 1 хв. 0,1% розчином метилового зеленого. При перегляді препаратів в світлооптичному мікроскопі клітини, що експресували досліджуваний антиген, мали ободок червоного кольору на поверхневій мембрані [72]. Визначали відсоток позитивно реагуючих клітин в полі зору мікроскопа на 100 клітин. Підрахунок проводили тричі для кожного пацієнта та визначали середнє значення.

Процедура проведення імуноцитологічних досліджень (EnVision метод) включала наступні стадії.

Перший етап – виділення фракції моноклеарів з гепаринізованого пунктату кісткового мозку чи венозної крові, а також пунктату кісткового мозку та венозної крові, які надходили до нашого відділу в пробірках з антикоагулянтом K₃EDTA – був подібний до першого етапу при постановці LSAB-AP методу. Розрахунок концентрацій відмитих клітин в суспензії проводили також в камері Горяєва.

Другим етапом було приготування цитологічних препаратів типу «висушеної краплі», як при проведенні LSAB-AP методу, та виконання фіксації готових препаратів.

Для виявлення експресії антигенів використовували модифікований метод EnVision. На 60 хв. наносили первинні мкАТ до відповідних диференційних антигенів лейкоцитів людини (при кімнатній температурі, у вологій камері). Препарати промивали в ЗФР, надлишок вологи знімали фільтрувальним папером та інкубували протягом 60 хв з вторинними антитілами до імуноглобулінів білої миші, пов'язаних з гідрофільною полімерною декстрановою молекулою, що містить велику кількість молекул лужної фосфатази (DAKO Corporation, Carpinteria, USA). Останній етап візуалізації реакції антиген-антитіло був аналогічним з останнім етапом при постановці LSAB-AP методу.

В роботі також було використано метод проточної цитометрії. Даний метод був використаний в тих випадках, коли результати LSAB-AP-методу були сумнівними (близько 10% від всієї вибірки), у разі тотожних результатів, для статистичного опрацювання, в роботу були включені саме дані отримані з допомогою LSAB-AP-методу. Виявлення поверхневих та цитоплазматичних антигенів проводили з допомогою трьох методик:

1. Виявлення поверхневих антигенів. Вносили в пробірку по 3 мкл МкАт та 30 мкл відцентрифугованого зразку. Перемішували на вортексі, потім інкубували в темноті 15 хв. Додавали 200 мкл Optilyse, перемішували на вортексі та інкубували 10 хв. Відкручували на центрифугі 800 об. 5хв., відбирали супернатант піпеткою. Додавали 200 мкл Cyto FLEX Sheath Fluid, перемішували на вортексі.

2. Виявлення цитоплазматичних антигенів. Вносили в пробірку 25мкл кісткового мозку чи периферичної крові та 50мкл Interpret 1, перемішували на вортексі. Інкубували при кімнатній температурі в темному місці 15хв. Додавали 2 мл NaCl 0,9% та відкручували при 800 об. 5 хв. Відбирали супернатант піпеткою та додавали 50 мкл Interpret 2. Інкубували 5 хв. при

кімнатній температурі в темному приміщенні. Перемішували на вортексі та додавали 3 мкл МкАт. Інкубували 15 хв., додавали 2 мл NaCl 0,9% та відкручували при 800 об. 5 хв. Відбирали супернатант піпеткою та додавали 500 мкл NaCl 09%.

3. Виявлення к_л – легких ланцюгів Ig. Вносили в пробірку 200 мкл кісткового мозку чи периферичної крові, додавали 2 мл NaCl 0,9% та відкручували при 800 об. 5 хв. тричі, відбираючи при цьому супернатант піпеткою. Вносили в пробірку по 3 мкл МкАт та 30 мкл відкрученого зразку. Перемішували на вортексі, потім інкубували в темноті 15 хв. Додавали 200 мкл Optilyse, перемішували на вортексі та інкубували 10 хв. Відкручували на центрифугі 800 об. 5хв., відбирали супернатант піпеткою. Додавали 2 мл NaCl та відкручували при 800 об. 5хв., відбирали супернатант піпеткою. Додавали 200 мкл Cyto FLEX Sheath Fluid, перемішували на вортексі.

Флуоресценцію досліджуваних клітин оцінювали, використовуючи проточний цитофлуориметр EPICS XL фірми "Beckman Coulter" (США). Для цитометричного аналізу використали антитіла мічені чотирма флуорохромами: (CD45, CD7, CD23, CD103, CD13, CD10, CD4, CD20, CD61, CD38, CD11b, Anti-MPO, Anti-IgM, Anti-kappa) – FITS, (CD235a, CD22, CD41, CD11c, CD19, CD33, CD25, CD8, CD13, CD79a, CD5, CD117, Anti-lambda) – PE, (CD34, CD3, CD33, CD19) – PC-5, (CD19, CD45) – ECD (Табл. 2.2.3.1.) [27].

Таблиця 2.2.3.1

Використані при виконанні досліджень МкАт до диференційних антигенів лейкоцитів людини

Молекула CD, клон	Виробник	Родина генів	Ген	ID гену	Хромосомна локалізація	Код білку	Мол. маса, кД
CD3, F7.2.38	Dako A/S, Denmark	Надродина імуноглобулінів	CD3	917	11q23.3	P09693	20,469
CD4, MT310	Dako A/S, Denmark	Надродина імуноглобулінів	CD4	920	12p13.31	P01730	51,111

CD5, DK23	Dako A/S, Denmark	Надродина скевенджер рецепторів	CD5	921	11q12.2	P06127	54,578
CD7, DK24	Dako A/S, Denmark	Надродина імуноглобулінів	CD7	924	17q25.3	P09564	25,409
CD8, DK25	Dako A/S, Denmark	Надродина імуноглобулінів	CD8	925	2p11.2	P01732	25,729
CD10,SS 2/36	Dako A/S, Denmark	Родина Пептидаз	MME	4311	3q25.2	P08473	85,514
CD11c,K B90	Dako A/S, Denmark	Родина Інтегринів	ITGAX	3687	16p.11.2	P20702	127,829
CD11b,2 LPM19c	Dako A/S, Denmark	Родина Інтегринів	ITGAM	3684	16p.11.2	P11215	127,179
CD13, WM-47	Dako A/S, Denmark	Родина пептидаз	ANPEP	290	15q26.1	P15144	109,540
CD19, HD37	Dako A/S, Denmark	Надродина імуноглобулінів	CD19	930	16p11.2	P15391	61,128
CD20, B- Ly1	Dako A/S, Denmark	Родина білків з 4трансмембранни ми доменами	MS4A1	931	11q12.2	P11836	33,077
CD22, HKB128	Dako A/S, Denmark	Надродина імуноглобулінів	CD22	933	19q13.12	P20273	95,348
CD25, IL2R.1	Dako A/S, Denmark	Родина Рецепторів цитокінів	IL2RA	3559	10p15.1	P01589	30,819
CD33, R1/69	Dako A/S, Denmark	Надродина імуноглобулінів	CD33	945	19q13.41	P20138	39,825
CD34, ТЪК3	Dako A/S, Denmark	Родина сіаломуцинів	CD34	947	1q32.2	P28906	40,716
CD36, CBL168	Dako A/S, Denmark	Надродина скевенджер рецепторів	CD36	948	7q21.11	P16671	53,053
CD38, AT13/5	Dako A/S, Denmark	Родина ектоензимів	CD38	952	4p15.32	P28907	34,328
CD41, 5B12	Dako A/S, Denmark	Родина інтегринів	ITGA2 B	3674	17q21.31	P08514	113,377
CD61, Y2/51	Dako A/S, Denmark	Родина інтегринів	ITGB3	3690	17q21.32	P05106	87,058
cy/sCD79 a, HM57	Dako A/S, Denmark	Надродина імуноглобулінів	CD79a	973	19q13.2	P11912	25,038
CD117, 104D2	Dako A/S, Denmark	Надродина протеїнкіназ	KIT	3815	4q12	P10721	109,865
CD235a, JC159	Dako A/S, Denmark	Надродина кадгеринів	CDH2	1000	18q12.1	P19022	99,809

CyclinD1, DCS-6	Diagnostic BioSystem USA	Родина циклінів	CCND1	-	11q13	P24385	33,729
--------------------	--------------------------------	-----------------	-------	---	-------	--------	--------

При проведенні досліджень з диференційної діагностики неходжкінських лімфом були використані МкАт до IgM (клон R1/69, Dako A/S, Denmark), до λ -легких ланцюгів (клон N10/2, Dako A/S, Denmark), до κ -легких ланцюгів (клон A8B5, Dako A/S, Denmark), та до мієлопероксидази (MPO7, Dako A/S, Denmark).

2.3. Статистичний метод. Для побудови таблиць та діаграм застосовували прикладні програми Microsoft Excel. Математичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Ст'юдента [74].

РОЗДІЛ 3

ІМУНОЦИТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЛІМФОЇДНИХ КЛІТИН ПРИ ХРОНІЧНОМУ ЛІМФОЛЕЙКОЗІ/ЛІМФОМІ З МАЛИХ ЛІМФОЦИТІВ ТА МОНОКЛОНАЛЬНОМУ В-ЛІМФОЦИТОЗІ

3.1. Загальна характеристика груп обстежених хворих

До досліджуваної нами групи увійшов 81 пацієнт з діагнозом В-клітинні лімфопроліферативні захворювання. У 50 пацієнтів був встановлений діагноз В-ХЛЛ; у 20 – хворих ЛМЛ в стадії лейкемізації; у 11 пацієнтів – МБЛ (Табл. 3.1.1). Було проведено комплексне дослідження лімфоїдних клітин периферичної крові та кісткового мозку в даних хворих. Цитологічний варіант патології визначався з урахуванням морфологічних, цитохімічних та імунофенотипових характеристик субстратних лімфоїдних клітин відповідно критеріям класифікації ВООЗ 2017 року.

Таблиця 3.1.1

Групи обстежених хворих

Цитологічний варіант	Абсолютна кількість хворих	% хворих
ВХЛЛ/ЛМЛ	50	61,7
ЛМЛ	20	24,7
МБЛ	11	13,6

Як видно з даних, наведених в (Табл. 3.1), найчастіше серед даної групи патологічних процесів зустрічався В-ХЛЛ– (61,7%), на другому місці – ЛМЛ – (24,7%), та на третьому – МБЛ – 13,6%.

Для верифікації діагнозу використовували морфологічний метод вивчення субстратних лімфоїдних клітин (оцінювали ядерно-цитоплазматичне співвідношення, ступінь базofilії цитоплазми, наявність вакуолей в цитоплазмі, форму ядра, структуру хроматину, розмір клітини та наявність зернистості в цитоплазмі). Цитохімічні методи були використані з

метою визначення внутрішньоклітинної локалізації та активності деяких ферментів в лімфоцитах. Імунофенотипування проводилось для детекції і визначення рівня експресії тих чи інших диференційних антигенів для встановлення клоновості процесу та встановлення природи злоякісно трансформованих клітин.

3.2. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при В-клітинному хронічному лімфолейкозі

В групі хворих, яким встановлений діагноз В-ХЛЛ було більше чоловіків 30 (60%), ніж жінок 20 (40%). Середній вік чоловіків та жінок суттєво не відрізнявся $60,5 \pm 25,5$ і $62,5 \pm 23,5$ років відповідно.

В пацієнтів даної групи кількість лейкоцитів в периферичній крові коливалась від $9,6$ до $100 \times 10^9/\text{л}$. Абсолютна кількість лімфоцитів у всіх випадках була $> 5 \times 10^9/\text{л}$. Кількість лімфоцитів в кістковому мозку завжди перевищувала 30%. За клінічними ознаками у хворих лімфатичні вузли не були значно збільшені. Виражені ознаки спленомегалії та гепатомегалії спостерігали переважно у пацієнтів з високими показниками кількості лейкоцитів і лімфоцитів. У пацієнтів з кількістю лейкоцитів $> 70 \times 10^9/\text{л}$ та абсолютним лімфоцитозом ($> 5 \times 10^9/\text{л}$) відмічали збільшення окремих груп лімфатичних вузлів, з одночасним збільшенням селезінки та печінки.

За морфологічними ознаками субстратні клітини нагадували малі лімфоцити. Хроматин ядер – щільний та глибокий, цитоплазма слабо або помірно базофільна, інколи містила вакуолі. Нерідко при перегляді мазків периферичної крові звертала на себе увагу наявність клітини лейколізу ("тіні" Боткіна-Гумпрехта). Присутність цих клітин пояснюється особливістю субстратних лімфоїдних клітин при данному захворюванні, вони набагато більш хрупкі, ніж нормальні лімфоцити, тому нерідко при виготовленні мазків руйнуються. В частині випадків визначалися крупніші клітини з

ознаками пролімфоцитів (іноді вони складали до 50% всіх лімфоцитів). За цитохімічними ознаками лімфоїдні клітини також були поліморфними. Активність кислої фосфатази (КФ) від слабкої дрібногранулярної спостерігалась в невеликій частині клітин і була більш яскравою в 60-70% лімфоцитів (Рис. 3.2.1). В 1-2% випадків зберігалась, у вигляді слабого забарвлення, в невеликій частині клітин при додаванні специфічного інгібітора КФ – іонів тартрату. При цитохімічному визначенні активності кислої неспецифічної естерази (КНЕ) слабка дрібногранулярна реакція відзначалась в невеликій частині клітин.

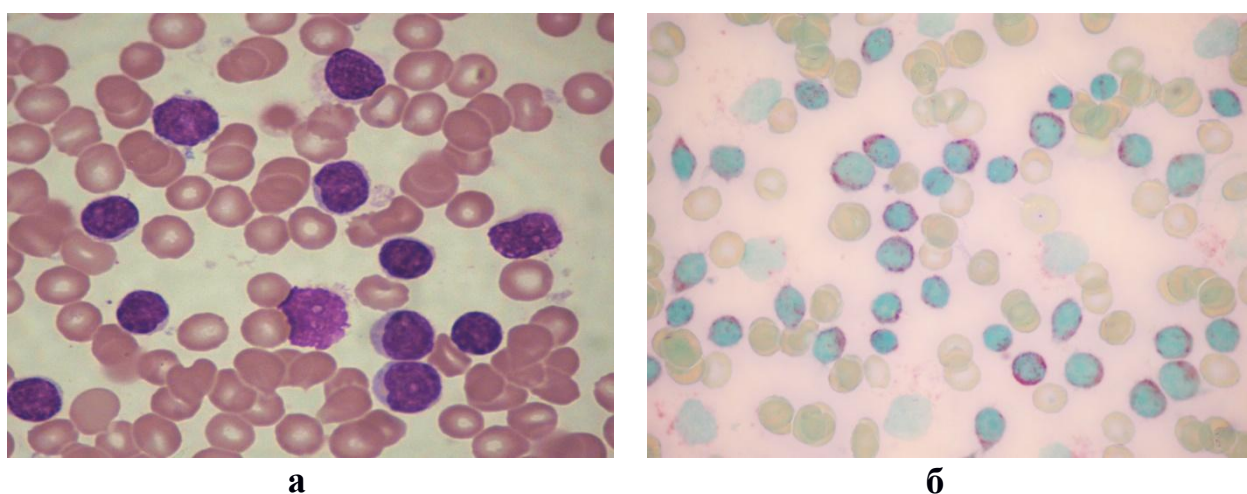


Рис. 3.2.1. Лімфоцити крові хворих на В-ХЛЛ (забарвлення за Паппенгеймом) (а), реакція на КФ (б), $\times 1000$.

За результатами імунофенотипування лімфоцитів периферичної крові та кісткового мозку хворих на В-ХЛЛ розділили на 3 групи (Табл. 3.2.1, Рис. 3.2.2).

У 25 хворих першої групи був встановлений наступний імунофенотип лімфоцитів: $CD20^{+}$, $CD19^{+}$, $CD5^{+}$, $CD23^{+}$. У 15 хворих другої групи він був подібним, за винятком від'ємної реакції при визначенні антигену $CD23$: $CD20^{+}$, $CD19^{+}$, $CD5^{+}$, $CD23^{-}$. У 10 пацієнтів, що входили в третю групу, на поверхневих мембранах була відсутня експресія антигену $CD5$: $CD20^{+}$, $CD19^{+}$, $CD5^{-}$, $CD23^{+}$.

Таблиця 3.2.1

**Спектр експресії антигенів на поверхневих мембранах лімфоцитів
в різних групах пацієнтів з В-ХЛЛ**

Антигени	Групи хворих		
	1 група (25 хворих)	2 група (15 хворих)	3 група (10 хворих)
CD19	78,5-93,4* 86,2±1,1**	76,4-94,5 86,8±1,6	75,4-91,6 85±1,9
CD20	85,4-94,5 88,8±0,6	78,5-95,6 88,4±1,5	81,4-92,3 87±1,3
CD22	86,4-92,3 88,9±0,4	71,4-89,2 80,7±1,5	78,9-94,3 82,6±1,3
CD23	76,4-89,2 84,5±1,04	2,3-8,6 5,3±-0,6	76,2-95,4 86±2,5
CD5	78,4-91,3 86,5±0,8	75,4-86,4 79,6±1,2	1,2-5,8 3,5±0,5
CD4	7,6-9,2 8,4±0,15	6,5-9,4 7,8±0,3	6,9-9,3 8±0,3
CD8	9,4-11,4 10,3±0,14	8,7-10,6 9,4±0,2	9,3-10,5 9,8±0,2
CD3	14,5-26,3 20,4±0,8	13,8-24,5 19,8±0,9	13,9-24,5 20,7±1,2

Примітка: * min-max % лімфоцитів, що експресували антиген;

** середній % лімфоцитів, що експресували антиген

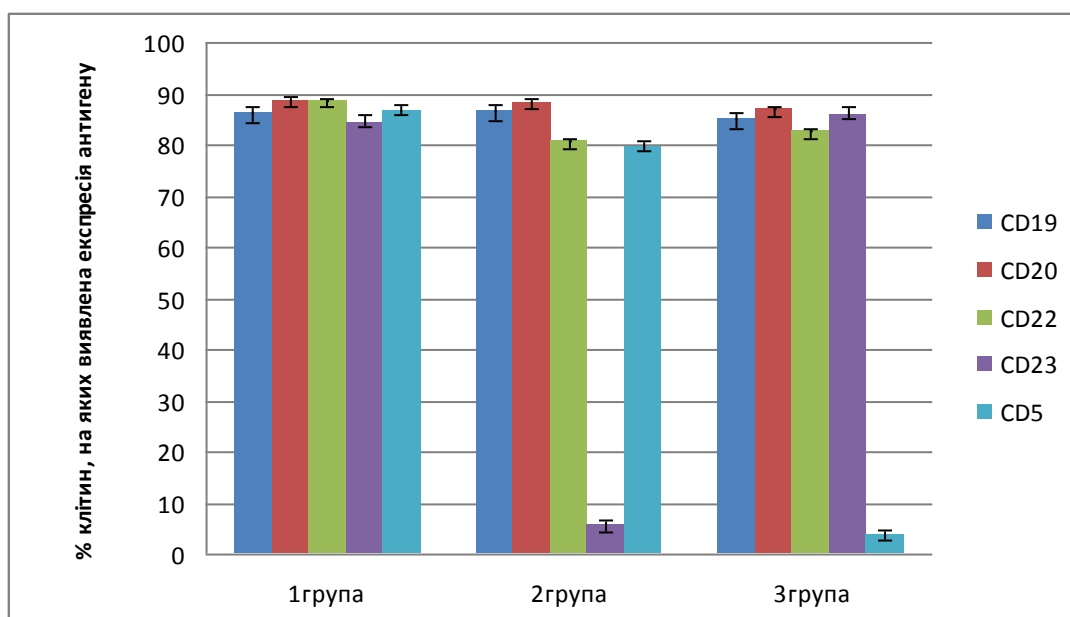


Рис. 3.2.2. Експресія антигенів CD19, CD20, CD22, CD23, CD5 на лімфоцитах в різних групах пацієнтів з діагнозом В-ХЛЛ.

У хворих другої групи в зв'язку з деякими особливостями експресії антигенів поверхневих мембран лімфоцитів ($CD5^+$, $CD23^-$) проводили диференційну діагностику з В-НХЛ із клітин мантийної зони. Маркером слугувала негативна реакція при визначенні цикліну D1 на лімфоцитах у хворих на В-ХЛЛ. У пацієнтів третьої групи з тих же причин проводили диференційну діагностику з клітинами фолікулярної лімфоми ($CD5^-$, $CD23^+$). Надійним маркером для ідентифікації останньої слугувала експресія CD10. У всіх хворих на В-ХЛЛ відносно молодого віку імунофенотип клітин спостерігався класичний для цього захворювання крові та кісткового мозку $CD5^+$, $CD23^+$ (Рис. 3.2.3). В невеликій групі хворих відмічалась наявність експресії мієло-моноцитарних антигенів CD11c або CD11b (у 26,7 та 20% випадків відповідно). В певної групи пацієнтів, ми мали змогу проаналізувати дані направлень та відмітити, що експресія антигену CD11c та CD11b виявляється у тих пацієнтів, що мали значне збільшення кількості лімфоцитів в периферичній крові та залучення в патологічний процес багатьох органів. При наявності експресії даних маркерів було можливим передбачити більш агресивний перебіг захворювання. Не виключено, що це

деяким чином пов'язано з функціонуванням даних молекул в організмі як адгезивних. Дане питання знаходиться на стадії досліджень, адже маркерні антигени CD11c та CD11b залучені не лише до адгезивних реакцій, а відіграють також важливу роль в клітинному сигналінгу, що реалізується в процесах активації та апоптозу клітин. Майже в 50% пацієнтів на мембранах субстратних клітин спостерігали експресію антигену CD25, який вважається маркером ВКЛ. Наявність патологічних клітин подібного типу, на нашу думку, асоціюється в більшості випадків з несприятливим прогнозом. Даний маркер, як відомо, залучений до контролю активності регуляторних Т-клітин, які, в свою чергу, пригнічують експансію аутореактивних Т-клітин та процеси формування імунної толерантності.

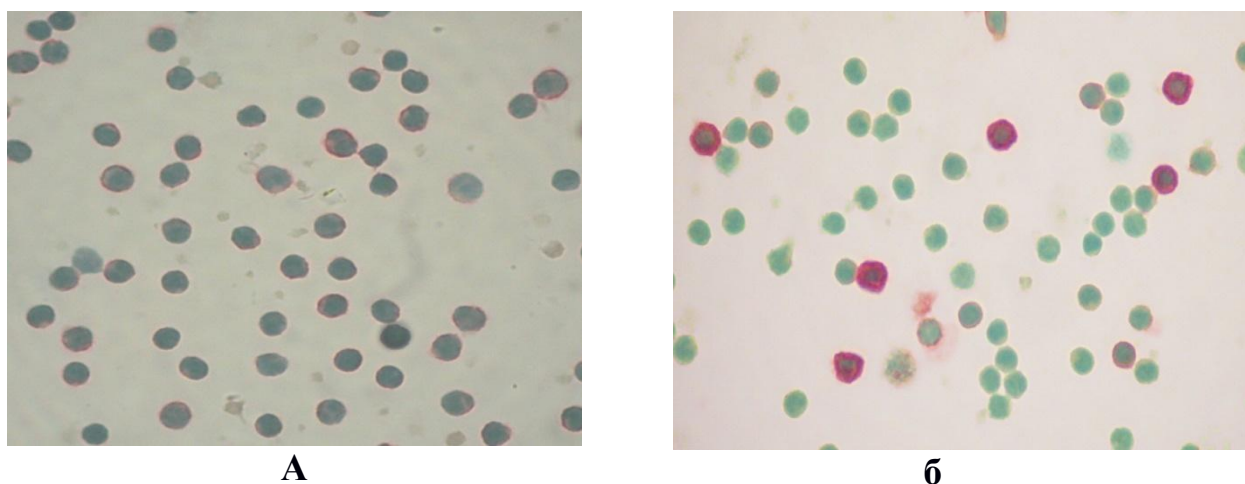


Рис. 3.2.3. Імуноцитохімічне визначення експресії антигенів CD5(а) і CD23(б) в лімфоцитах крові хворих на В-ХЛЛ, $\times 1000$.

3.3. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при лімфомі з малих лімфоцитів

Серед групи хворих, у яких був встановлений діагноз ЛМЛ, було дещо більше чоловіків 11 (55,0%), ніж жінок 9 (45,0%). У пацієнтів даної групи середній вік чоловіків та жінок суттєво не відрізнявся – $59,0 \pm 18,0$ та $60,5 \pm 16,5$ років, відповідно.

Як правило у всіх пацієнтів були збільшені 1-2 і більше лімфатичних вузлів (шийні, пахові, і т.д.) або лімфатичні вузли в черевній порожнині.

Загальна кількість лейкоцитів в периферичній крові складала від $2,8 \times 10^9/\text{л}$ до $15 \times 10^9/\text{л}$, абсолютна кількість лімфоцитів в периферичній крові $< 5 \times 10^9/\text{л}$. При підрахунку мієлограми кількість лімфоцитів коливалась від 15 до 30%. Субстратні клітини за цитоморфологічними ознаками були представлені малими лімфоцитами. Хроматин ядер щільний та глибокий, цитоплазма слабо або помірно базофільна, інколи містила вакуолі. Цитохімічні характеристики клітин нагадували лімфоцити у хворих на В-ХЛЛ. Реакція на кислу фосфатазу була від слабкої до помірної дифузної, в частині клітин (60-70%) дещо яскравішою (Рис. 3.3.1), повністю інгібувалась при додаванні в інкубаційне середовище іонів тартату.

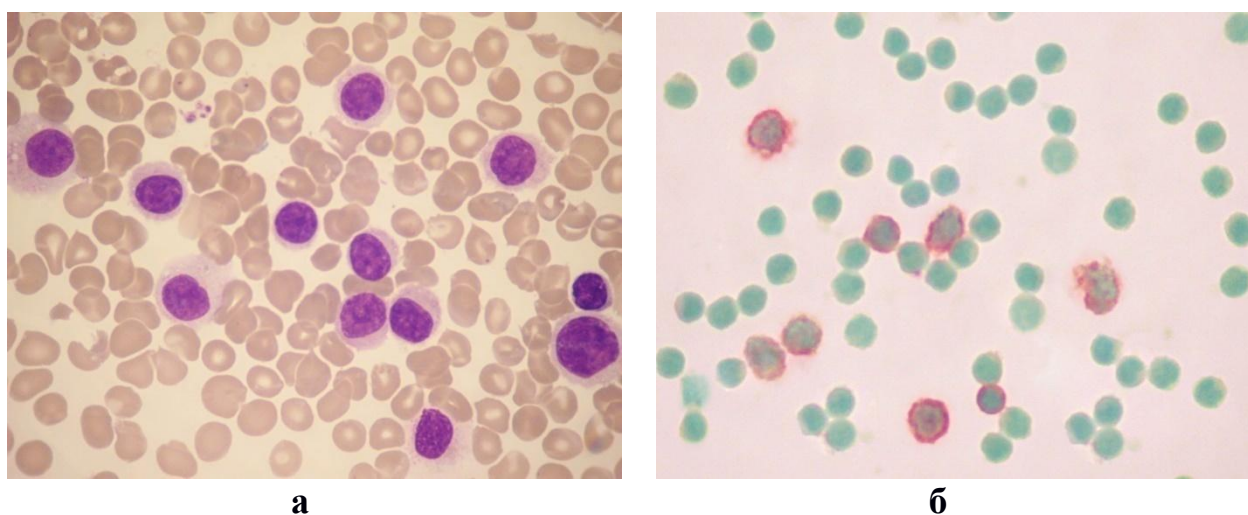


Рис. 3.3.1. Лімфоцити кісткового мозку хворих на ЛМЛ (зabarвлення за Паппенгеймом) (а), реакція на КФ (б), $\times 1000$.

За результатами імунофенотипування лімфоцитів всіх хворих можна було розділити на чотири групи.

В групі №1 (8 хворих) субстратні клітини мали стандартний фенотип, властивий В-ХЛЛ: $CD20^+$, $CD19^+$, $CD5^+$, $CD23^+$ (Рис. 3.3.2.). В групі №2 (5 хворих) фенотип переважної частини лімфоїдних клітин був наступним: $CD20^+$, $CD19^+$, $CD5^+$, $CD23^{-/+}$ (слабка експресія на 40-50% клітин). На лімфоцитах 5 хворих, що входили до групи №3 відзначалась експресія антигенів: $CD20^+$, $CD19^+$, $CD5^+$, $CD23^-$. До четвертої групи увійшли двоє хворих. Фенотип субстратних клітин був таким: $CD20^+$, $CD19^+$, $CD5^-$, $CD23^+$.

Серед наймолодших пацієнтів (середній вік $48,0 \pm 7,0$ років) фенотип лімфоцитів був нестандартним, на поверхневих мембранах клітин відсутня експресія антигену CD5 або CD23 (Табл. 3.3.1, Рис 3.3.3).

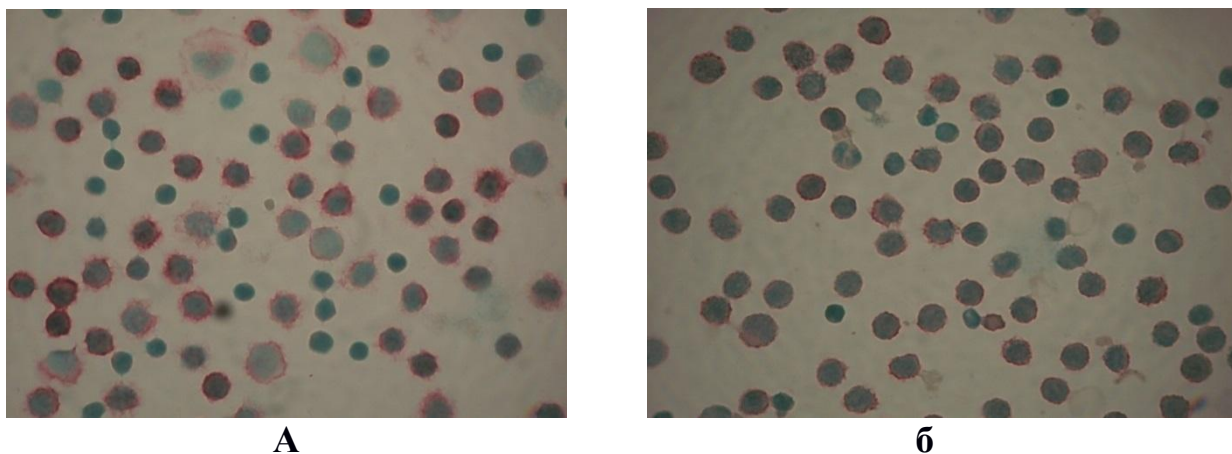


Рис. 3.3.2. Імуноцитохімічне визначення експресії антигенів CD19(а) і CD20(б) в лімфоцитах кісткового мозку хворих на ЛМЛ, $\times 1000$.

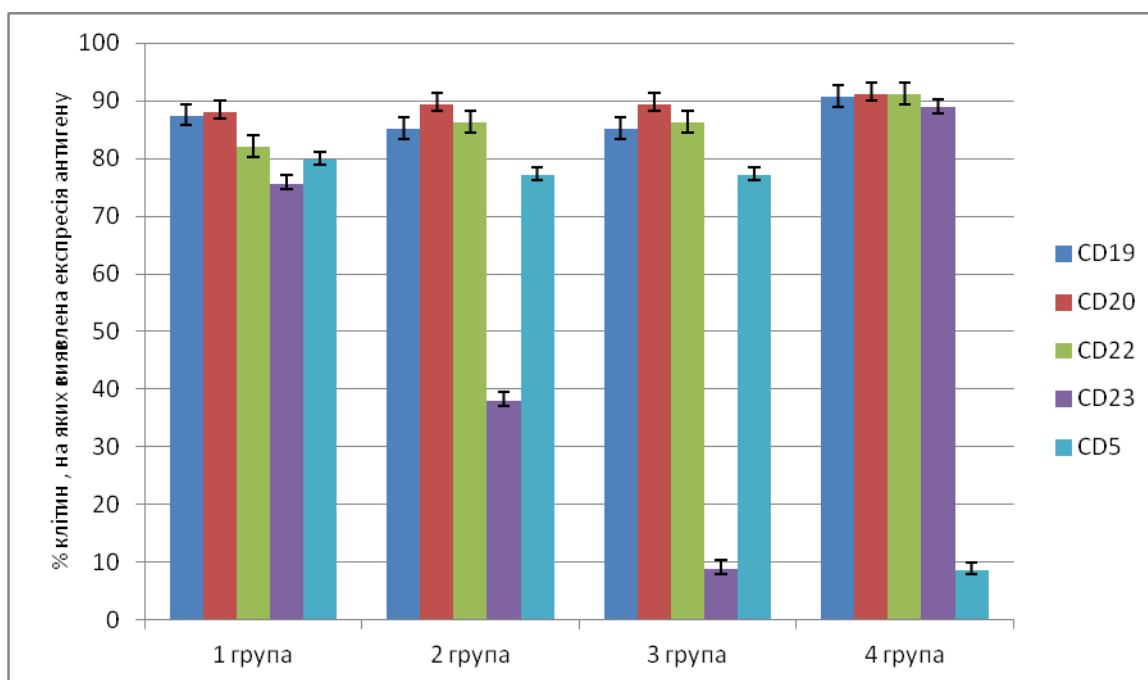


Рис. 3.3.3. Експресія антигенів CD19, CD20, CD22, CD23, CD5 на лімфоцитах в різних групах пацієнтів з діагнозом ЛМЛ.

Таблиця 3.3.1

**Спектр експресії антигенів на поверхневих мембранах лімфоцитів
в різних групах пацієнтів з ЛМЛ**

Антигени	Групи хворих			
	1 група (8 хворих)	2 група (5 хворих)	3 група (5 хворих)	4 група (2 хворих)
CD19	76,4-94,5* 87,4±2,8**	79,8-88,9 85,1±1,7	79,8-88,9 85,1±1,7	88,9-92,4 90,6±1,8
CD20	78,5-95,2 88,0±2,7	88,5-92 89,3±0,9	88,5-92 89,3±0,9	88,9-93,2 91,1±2,1
CD22	71,4-92,8 82,1±2,6	79,8-89,4 86,2±1,8	79,8-89,4 86,2±1,8	89,2-93,1 91,1±1,9
CD23	79,4-92,3 75,6±2,1	36,7-41,3 38±1,6	7,6-9,8 8,9±0,4	87,6-89,9 88,8±1,2
CD5	75,4-86,4 79,8±1,5	75,4-79,3 77,1±0,8	75,4-79,3 77,1±0,8	7,8-9,6 8,7±0,9
CD4	6,5-9,4 8±0,4	6,5-8,7 7,3±0,4	6,5-8,7 7,3±0,4	6,9-8,7 7,8±0,9
CD8	8,7-10,6 9,5±0,27	8,7-10,6 9,26±0,36	8,7-10,6 9,26±0,36	8,9-9,6 9,3±0,4
CD3	13,8-24,5 20,2±1,5	13,8-20,4 17,5±1,5	13,8-20,4 17,5±1,5	16,4-18,3 17,4±0,9

Примітка: * min-max % лімфоцитів, що експресували антиген;

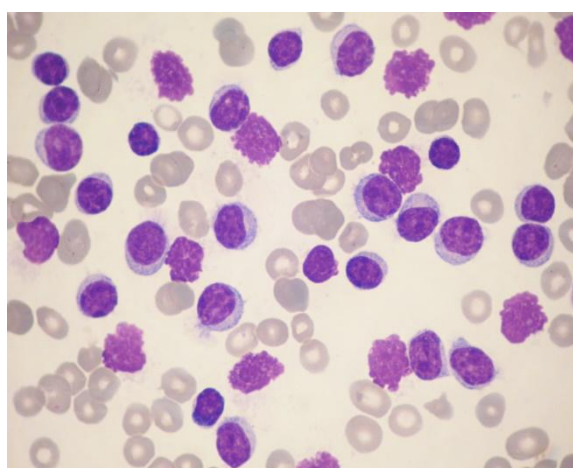
** середній % лімфоцитів, що експресували антиген

3.4. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при моноклональному В-клітинному лімфоцитозі

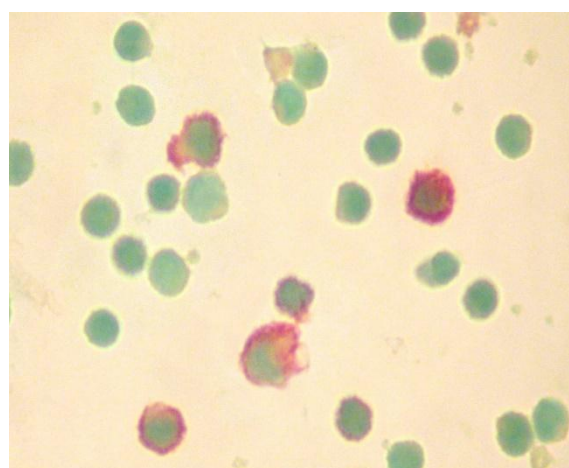
В своїй роботі згідно останньої класифікації ВООЗ захворювань кровотворної і лімфоїдної тканин (2016 р.) ми виділили групу пацієнтів з

МВЛ. За даними доступної літератури, існує декілька видів МВЛ. Більшість з них визначаються у 12% відносно здорових людей і характеризуються подібним до В-ХЛЛ класичним імунотипом клітин. МВЛ з фенотипом клітин: $CD5^-$, $CD23^+$; $CD5^+$, $CD23^-$; $CD5^-$, $CD23^-$ спостерігається у 2,3% дорослого населення. Більш притаманним для МВЛ даного типу є значна інфільтрація лімфоїдними клітинами кісткового мозку.

Серед групи хворих, у яких був встановлений діагноз МВЛ, було дещо більше чоловіків – 9 (81,8%), ніж жінок – 2 (18,2%). У пацієнтів даної групи середній вік чоловіків та жінок суттєво не відрізнявся і складав $62,5 \pm 7,5$ та 56,67 років, відповідно. За клінічними даними, лімфатичні вузли, печінка, селезінка не були збільшені. У всіх 11 пацієнтів в периферичній крові загальна кількість лімфоцитів була $< 5 \times 10^9/\text{л}$. За морфологічними ознаками субстратні клітини нагадували малі лімфоцити. Хроматин ядер щільний та глибокий, цитоплазма слабо або помірно базофільна, інколи містила вакуолі. Цитохімічні ознаки клітин були подібні до тих, які були властиві лімфомі з малих лімфоцитів. Реакція на кислу фосфатазу коливалась від слабкої до помірно дифузної, в частині клітин (60-70%) була більш яскравішою. Реакція повністю інгібувалась при додаванні в інкубаційне середовище іонів тартрату (Рис. 3.4.1).



А



Б

Рис. 3.4.1. Лімфоцити кісткового мозку пацієнтів з МВЛ (забарвлення за Паппенгеймом) (а), реакція на КФ (б), $\times 1000$.

При імуноцитохімічному дослідженні було встановлено, що при МВЛ на 30-80% лімфоїдних клітин спостерігалась експресія антигенів CD20⁺, CD19⁺, CD5⁺, CD23⁺.

За результатами морфологічного дослідження кісткового мозку пацієнтів розділили на окремі групи.

В групі А (7 пацієнтів) при перегляді мазків кісткового мозку відмітили, що склад мієлограми, як правило був нормоклітинним. Кількість малих лімфоцитів була в межах норми і складала 10-15%. Проте серед них абсолютний вміст В-клітин був значно вищий відносно до нормальних показників. На В-клітинах виявлялася експресія антигенів CD5 і CD23 та один тип легких ланцюгів імуноглобулінів – κ – (підгрупа А1, 4 пацієнти), або λ - (підгрупа А2, 3 пацієнта) (Табл. 3.4.1, Рис. 3.4.2).

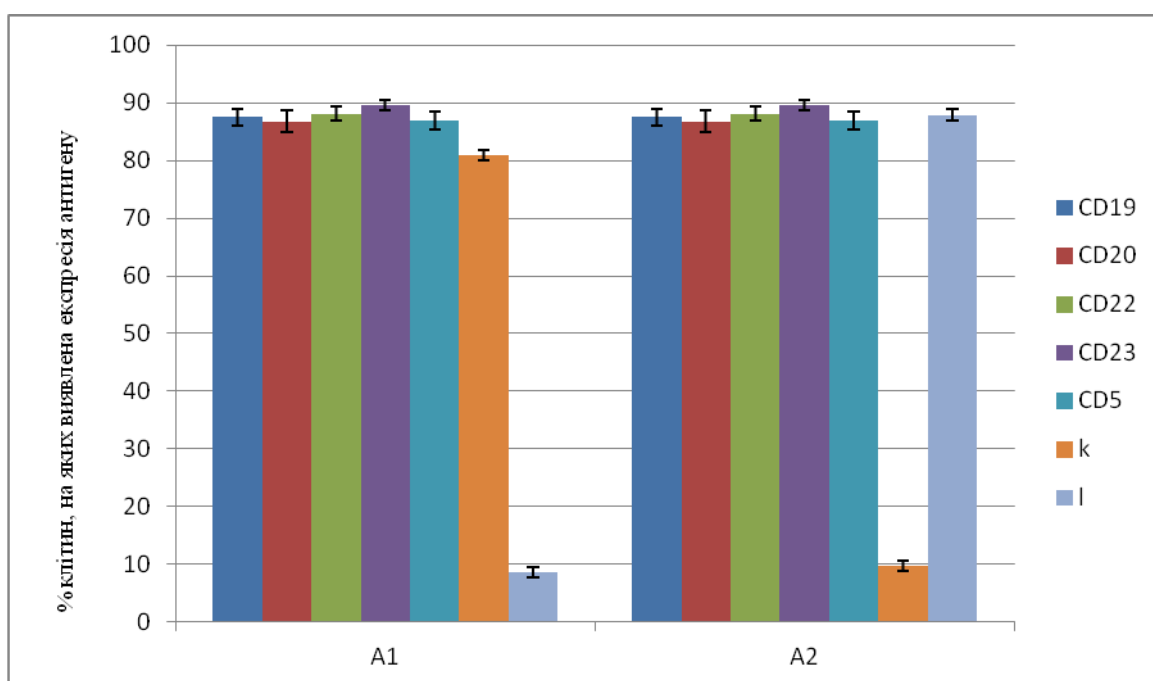


Рис. 3.4.2. Експресія антигенів CD19, CD20, CD22, CD23, CD5, κ і λ - легких ланцюгів імуноглобулінів на лімфоцитах пацієнтів групи А з діагнозом МВЛ.

Таблиця 3.4.1

**Спектр експресії антигенів на поверхневих мембранах лімфоцитів
пацієнтів групи А**

Антигени	Група А	
CD19	79,9-91,2* 87,5±1,5**	
CD20	79,8-91,6 87,6±1,9	
CD22	82,4-92,4 88,1±1,2	
CD23	87,6-92,6 89,6±0,9	
CD5	79,8-92,1 86,9±1,5	
CD4	6,8-8,7 7,6±0,3	
CD8	8,6-9,6 8,9±0,2	
CD3	13,8-16,2 14,9±0,3	
Легкі ланцюги імуноглобулінів	A1	A2
κ –ланцюги Ig	79,-84,3 80,9±1,1	8,9-10,3 9,6±0,7
λ –ланцюги Ig	5,6-10,8 8,7±1,3	88,9-91,5 90,2±0,8

Примітка: * min-max % лімфоцитів, що експресували антиген;

** середній % лімфоцитів, що експресували антиген

Мієлограми 2 хворих, що були віднесені до групи Б, за кількістю і фенотипом лімфоцитів були подібні до хворих основної групи. Проте серед клітин гранулоцитарного, еритроїдного та мегакаріоцитарного рядів були виявлені диспластичні зміни: гіпосегментація ядер гранулоцитів, атипова зернистість цитоплазми; дольчатість хроматину ядер еритроїдних клітин; мікроформи мегакаріоцитів, збільшена кількість гістіоцитарно /макрофагальних клітин. Все це нагадувало в деякій мірі мієлодиспластичний синдром рефрактерну анемію МДС (РА).

Двох наступних пацієнтів ми розглянули, як окремі випадки, оскільки результати комплексного дослідження відрізнялися від наведених вище. В лабораторію були направлені мазки периферичної крові та кісткового мозку пацієнта К. з попереднім діагнозом гострий лейкоз (ГЛ). В мазках крові, окрім лімфоцитів, кількість яких була в межах норми, було виявлено 56% бластоподібних клітин середнього розміру. В кістковому мозку ці клітини складали 60%, лімфоцити - 12%. Реакція на пероксидазу була слабкою в 5-10% бластоподібних клітин, реакція на кислу фосфатазу була негативною, на кислу неспецифічну естеразу – дрібногранулярна. В частині клітин визначалась дрібногранулярна PAS - реакція. Фенотип бластоподібних клітин був наступним: CD13⁺, CD33⁻, CD7⁻, CD117^{+/-} і відповідав ГМЛ. Лейкоз розвинувся на фоні змін, характерних для МДС, що йому передував. При вивченні фенотипу лімфоцитів крові на їх поверхневих мембранах була виявлена експресія антигенів CD19⁺, CD5⁺, CD23⁺. В кістковому мозку серед 12% лімфоцитів 70% складали В-клітини з імунофенотипом: CD20⁺, CD19⁺, CD5⁺, CD23⁺ (Табл. 3.4.2, Рис. 3.4.3).

Таблиця 3.4.2

Спектр експресії антигенів на поверхневих мембранах лімфоцитів та бластних клітинах пацієнта К.

Антигени	Лімфоцити кісткового мозку	Антигени	Бласти кісткового мозку
CD19	86,1*	CD117	48,9*
CD20	84,9	CD33	12,6
CD22	78,9	CD13	78,6
CD23	84,9	CD7	4,5
CD5	86,9	CD3	10,1
CD4	9,1	CD4	6,2
CD8	10,7	CD8	7,5
CD3	18,3	CD23	4,2
κ –ланцюги Ig	80,3	CD19	8,6
λ –ланцюги Ig	12,8	CD34	2,5

Примітка: * % лімфоцитів, бластних клітин, на мембранах яких експресується антиген

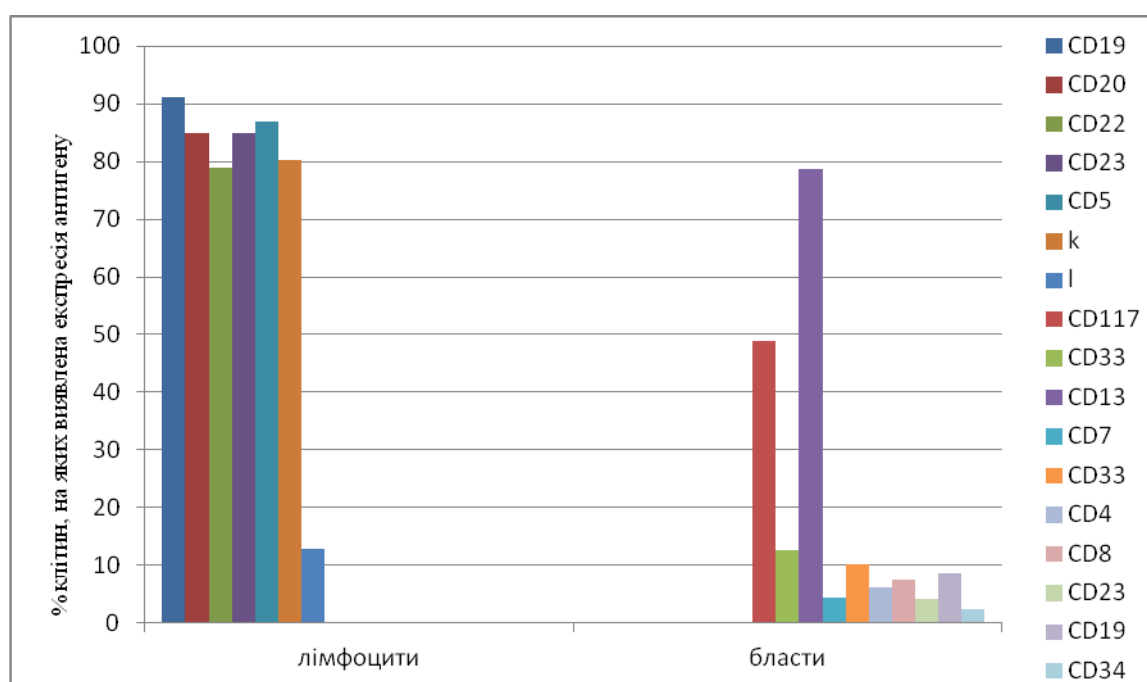


Рис. 3.4.3. Експресія антигенів на поверхневих мембранах лімфоцитів, та бластних клітинах у пацієнта К.

Наводимо приклад розвитку захворювання ще у одного пацієнта з МВЛ. В лабораторію були надіслані мазки периферичної крові та кісткового мозку хворого Х. з підозрою на ГЛ. В лейкограмі відмічався абсолютний лімфоцитоз, половину клітин складали нормобласти, бластні клітини не були виявлені. Імунофенотип лімфоцитів крові був наступним: $CD20^+$, $CD19^+$, $CD5^+$, $CD23^+$. В кістковому мозку клітинність була різко знижена (гіпоплазія), виявлено 10% лімфоцитів, серед яких 70% - В-клітини з імунофенотипом: $CD20^+$, $CD19^+$, $CD5^+$, $CD23^+$ (Рис. 3.4.8.). Також виявлено 17% бластних клітин з фенотипом мієлоїдних: $CD117^+$, $CD33^{+/-}$. Все це, на фоні нечисленних клітин гранулоцитарного, еритроїдного і мегакаріоцитарного ряду з вираженими диспластичними змінами. Був встановлений діагноз — мієлодиспластичний синдром з надлишком бластів 2-типу (МДС РАНБ-2) на фоні МВЛ. Було проведено імуногістохімічне дослідження трепанобіоптату кісткового мозку хворого — встановлений нами діагноз був підтверджений (Табл. 3.4.3, Рис. 3.4.4, Рис. 3.4.5)

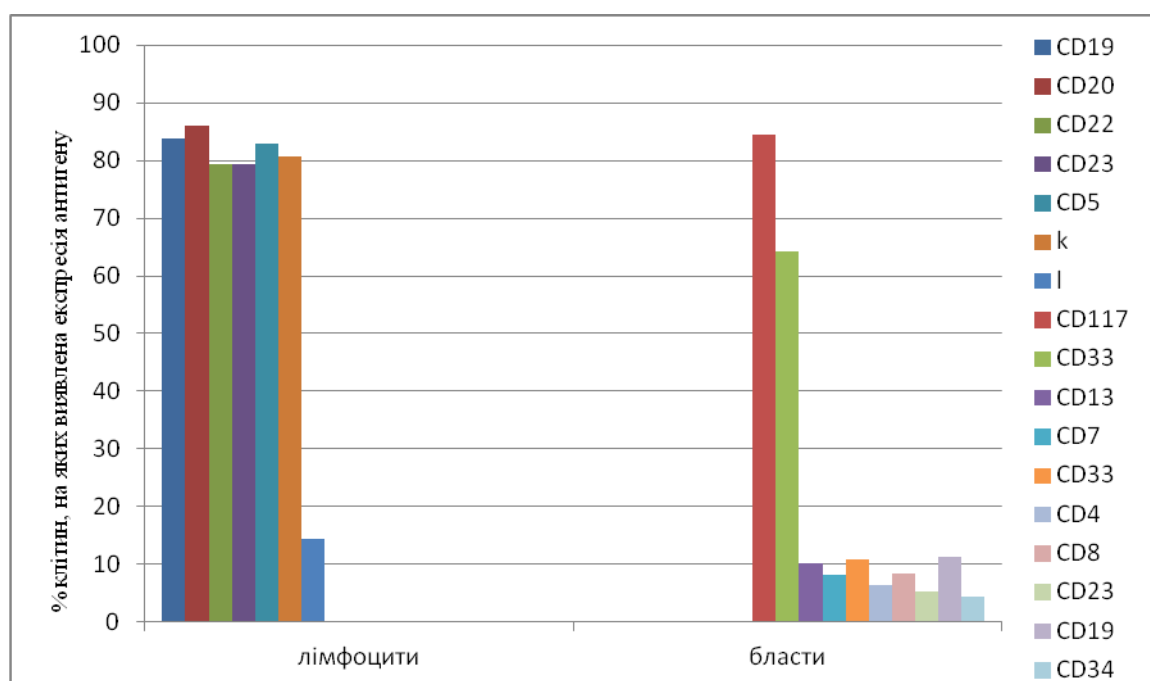


Рис. 3.4.4. Експресія антигенів на поверхневих мембранах лімфоцитів, та бластних клітинах у пацієнта Х.

Таблиця 3.4.3

Спектр експресії антигенів на поверхневих мембранах лімфоцитів та бластних клітинах у пацієнта X

Антигени	Лімфоцити кісткового мозку	Антигени	Бласти кісткового мозку
CD19	83,9*	CD117	84,5*
CD20	86	CD33	64,2
CD22	79,4	CD13	10,2
CD23	79,4	CD7	8,1
CD5	82,8	CD3	10,8
CD4	6,4	CD4	6,5
CD8	10,1	CD8	8,5
CD3	15,5	CD23	5,4
κ –ланцюги Ig	80,6	CD19	11,2
λ –ланцюги Ig	14,5	CD34	4,3

Примітка: * % лімфоцитів, бластних клітин, на мембранах яких експресується антиген

За результатами спостереження (9 років) співробітниками нашого відділу встановлено, що у 2 пацієнтів групи А через 6 і 7 років розвинувся В-ХЛЛ. Обидва пацієнти групи Б померли через 2 і 3 роки.

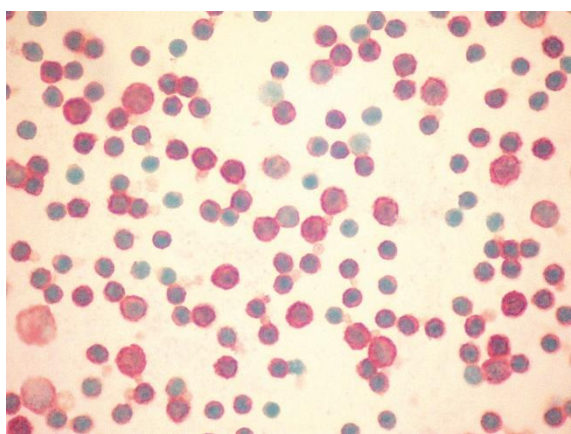
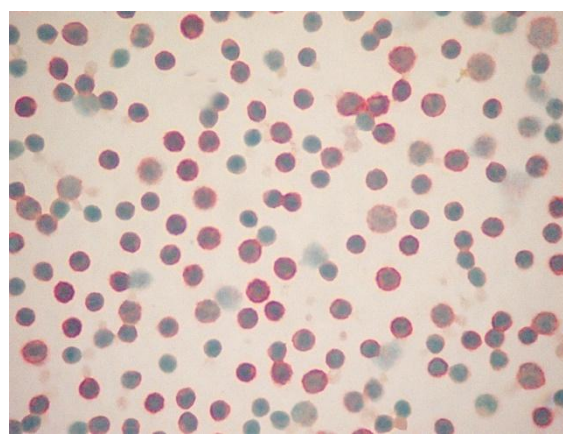
**а****б**

Рис. 3.4.5. Лімфоцити кісткового мозку пацієнтів з МВЛ. Імуноцитохімічне визначення експресії антигенів CD19 (а) і CD20 (б), ×1000.

Підсумки

В класифікації ВООЗ 2017 року пухлин лімфоїдної та кровотворної тканин ХЛЛ об'єднаний з ЛМЛ та розглядається як єдина нозологічна форма ХЛЛ/ЛМЛ. Вагомою основою для цього слугувала подібність їх цитоморфологічних ознак, імунофенотипу, молекулярно-генетичних та гістопатологічних особливостей. Також виділена нова патологія МВЛ, яка виявляється і 12% здорових людей. За даними доступної літератури відомо, що ці захворювання мають ряд подібних імуноцитохімічних ознак, проте різну клінічну картину, тому питання дослідження та встановлення діагностичних критеріїв є важливою проблемою сьогодення. В результаті проведеного дослідження ми встановили, що за результатами цитоморфологічного дослідження субстратні клітини МВЛ, В-ХЛЛ, ЛМЛ нагадували малі лімфоцити, в яких реакція на КФ була від слабкої дрібногранулярної до помірно дифузно гранулярної, при додаванні інгібіторів в 1-2% слабо зберігалася (В-ХЛЛ), з невеликою кількістю крупніших клітин – пролімфоцитів, та мали наступний імунофенотип: CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD23^{+/-}, CD5^{+/-}. Тому важливим критерієм при проведенні диференційної діагностики даних патологій є саме кількість субстратних клітин в кістковому мозку та абсолютний лімфоцитоз в периферичній крові. Чи виконує дана патологія роль відправної точки у розвитку інших гематологічних патологій або ж є процесом, який розвивається в організмі безсимптомно достеменно не встановлено. В нашій роботі ми продемонстрували можливий зв'язок даного захворювання з іншими гематологічними патологіями: мієлодиспластичними синдромами (МДС), гострими мієлоїдними лейкозами (ГМЛ) та ХЛЛ, однак для підтвердження даних результатів необхідне подальше дослідження. Результати досліджень, описані в підрозділах 3.1-3.4, опубліковані у [25, 78, 81, 91, 92, 95, 101, 129, 131].

РОЗДІЛ 4

ЛІМФОЇДНІ КЛІТИНИ З ВІДРОСТКАМИ В ЦИТОПЛАЗМІ ПРИ РІЗНИХ НОЗОЛОГІЧНИХ ФОРМАХ В-КЛІТИННИХ ЛІМФОПРОЛІФЕРАТИВНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ

4.1. Загальна характеристика груп обстежених хворих

До досліджуваної нами групи увійшов 113 пацієнт з діагнозом В-клітинні лімфопроліферативні захворювання, у яких була збільшена селезінка, а в периферичній крові та кістковому мозку визначались лімфоїдні клітини з ворсинчастою цитоплазмою. Нами було проведено комплексне дослідження лімфоїдних клітин периферичної крові та кісткового мозку в даних хворих. У 60 пацієнтів був встановлений діагноз ЛМЗС; у 45 хворих – ВКЛ; у 3 пацієнтів – ЛЧПС, у 5 пацієнтів – ВКЛ-В. Діагноз захворювання встановлювали з урахуванням морфологічних, цитохімічних та імунофенотипових характеристик субстратних лімфоїдних клітин відповідно критеріям класифікації ВООЗ 2017 р.

Розподіл хворих представлено в (Табл. 4.1.1). Як видно з даних, наведених в таблиці, найчастіше серед даної групи патологій зустрічається ЛМЗС (53,1%), на другому – ВКЛ (39,8%), та на третьому – ВКЛ-В (4,4%), та, на четвертому – ЛСЧП (2,6%).

Таблиця 4.1.1

Групи обстежених хворих

Цитологічний варіант	Абсолютна кількість хворих	% хворих
ЛМЗС	60	53,1
ВКЛ	45	39,8
ЛЧПС	3	2,6
ВКЛ-В	5	4,4

При проведенні дослідження з вивчення цитоморфологічних характеристик субстратних лімфоїдних клітин з ворсинчатою цитоплазмою особливу увагу звертали на такі ознаки, як розмір клітин, форма ядра, структура хроматину, ядерно-цитоплазматичне співвідношення, наявність вакуоль, ступінь базофілії цитоплазми та наявність зернистості. Для детекції внутрішньоклітинної локалізації та активності ферментів в лімфоцитах використовували цитохімічні методи. Імунофенотипування проводилось для детекції і визначення рівня експресії тих чи інших диференційних антигенів для встановлення клоновості процесу та встановлення природи злоякісно трансформованих клітин.

4.2. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при лімфомі маргінальної зони селезінки

Серед групи хворих, у яких був встановлений діагноз ЛМЗС, було дещо більше жінок 32 (53,3%), ніж чоловіків 28 (46,7%). У пацієнтів даної групи середній вік чоловіків та жінок суттєво не відрізнявся і складав $72,5 \pm 12,5$ та $70,0 \pm 10,0$ років відповідно.

ЛМЗС, яка також є лімфомою селезінки з циркулюючими лімфоцитами з ворсинчастою цитоплазмою, зустрічається рідко і складає близько 2% всіх лімфомних новоутворень. Раніше діагностувалася як один з цитологічних підваріантів ХЛЛ.

У пацієнтів даної групи були виявлені значно збільшені розміри селезінки, які в частині випадків поєднувалися з наявністю аутоімунної тромбоцитопенії та анемії. Збільшення периферичних лімфатичних вузлів відмічалось вкрай рідко і не було характерною ознакою даного захворювання. Кількість лейкоцитів, в більшій частині випадків, була в межах нормальних показників, в поодиноких випадках складала $20-28 \times 10^9/\text{л}$. В периферичній крові та кістковому мозку в різній кількості визначалися

лімфоїдні клітини невеликого та середнього розміру, дещо крупніші, ніж в нормі та при В-ХЛЛ. Ядра субстратних клітин овальної або округлої форми з дрібногранулярною структурою хроматину. Інколи в ядрах визначались нечітко виражені ядерця. Обідок цитоплазми варіював в розмірах, але частіше був вузьким, набагато вужчим, ніж при ВКЛ. Цитоплазма світла, з помірною базофілією. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення в субстратних лімфоїдних клітинах значно більше в порівнянні з клітинами при ВКЛ та ВКЛ-В. В невеликому відсотку клітин спостерігали ознаки плазматизації – ексцентрично розташоване ядро та виражена базофілія цитоплазми. В частині лімфоцитів спостерігалися невеликі вирости в цитоплазмі. В клітинах лімфоми активність кислої фосфатази коливалась від слабкої до помірної дрібно-гранулярної. В поодиноких клітинах реакція була дещо яскравішою. В більшій частині випадків реакція інгібувалася при додаванні інгібіторів – іонів тартрату. Однак, в близько 20% випадків в частині клітин (10-15%) слабо виражена реакція зберігалася (Рис. 4.2.1).

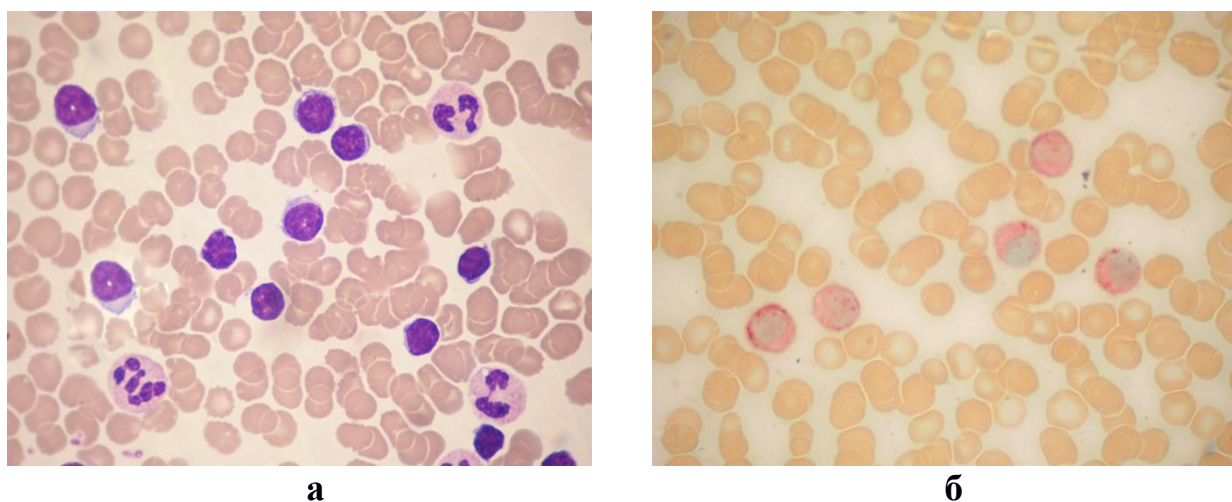


Рис. 4.2.1. Лімфоцити периферичної крові хворих на ЛМЗС (зabarвлення за Паппенгеймом) (а), реакція на КФ (б), $\times 1000$.

За результатами проведеного імунофенотипування на поверхневих мембранах клітин визначалися лише В-клітинні маркери CD19, CD20 та CD22 (Рис. 4.2.2). Слабка експресія CD11c визначалася на мембранах субстратних клітин в 50% випадків. В 10% хворих виявили слабку експресію

CD25 або CD103. Експресію таких маркерів як циклін D1 не виявили (Табл. 4.2.1, Рис. 4.2.3).

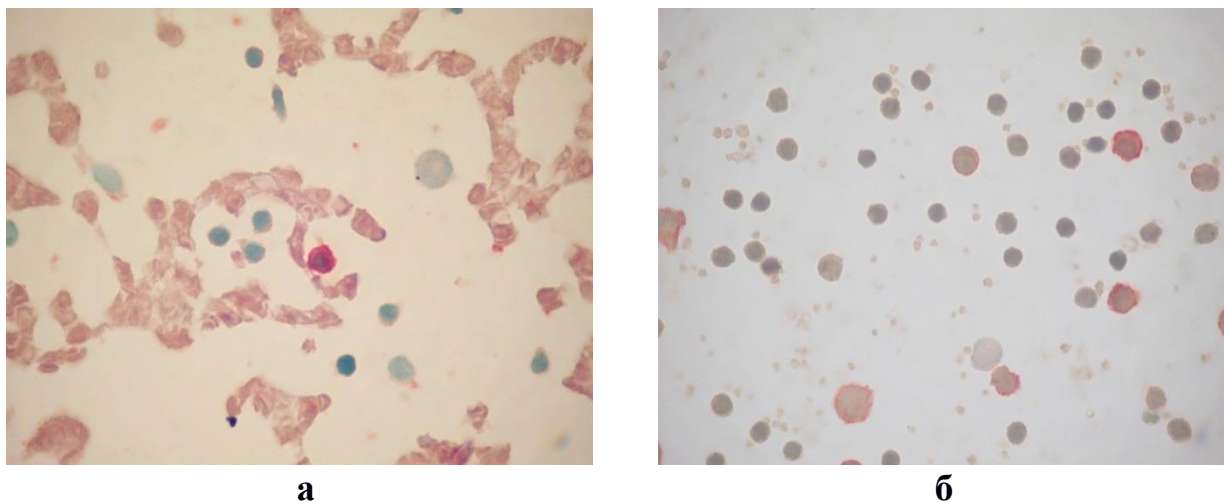


Рис. 4.2.2. Лімфоцити кісткового мозку хворих на ЛМЗС. Імуноцитохімічне визначення експресії антигенів CD11 (а) і CD19 (б), x1000.

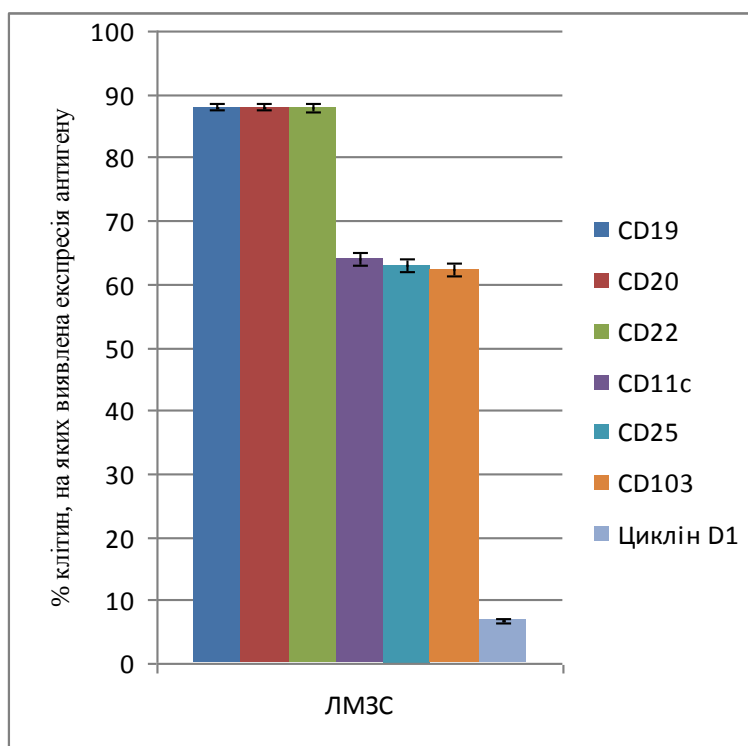


Рис. 4.2.3. Експресія антигенів CD19, CD20, CD22, CD11c, CD25, CD103, і цикліну D1 на лімфоцитах пацієнтів з діагнозом ЛМЗС.

Таблиця 4.2.1

Спектр експресії антигенів на поверхневих мембранах лімфоцитів у пацієнтів з ЛМЗС

Антиген	ЛМЗС
КФ	Від слабкої до помірної дрібногранулярної (в поодиноких кл дещо яскравіша)
КФ при додованні інгібітора - іонів тартрату	У 48 пацієнтів детектувалось інгібування, у 12 пацієнтів зберігалось слабе забарвлення
CD19	79,8-92,6* 87,9±0,5**
CD20	78,6-94,8 88±0,5
CD22	76,4-96,3 87,8±0,6
CD11c (50% хворих)	52,3-74,8 64,1±1
CD25 (10% хворих)	50,1-72,6 63,1±1,1
CD103 (10% хворих)	53,8-70,0 62,2±0,8
Циклін D1	3,6-10,5 6,7±0,3

Примітка: * min-max % лімфоцитів, що експресували антиген;

** середній % лімфоцитів, що експресували антиген

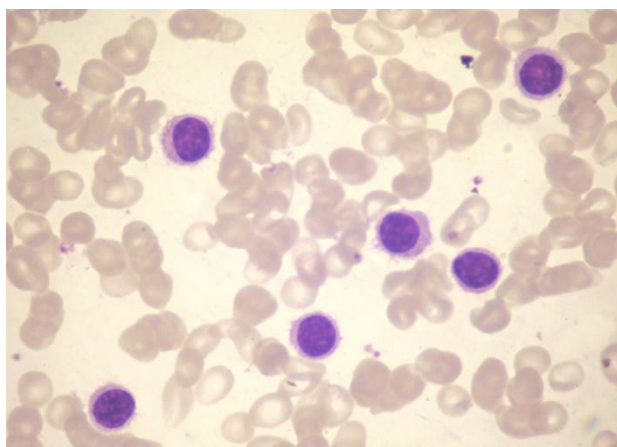
4.3. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при волосковоклітинному лейкозі

Серед групи хворих, у яких був встановлений діагноз ВКЛ було значно більше чоловіків 29 (64,4%), ніж жінок 16 (35,6%). Загалом, згідно з даними

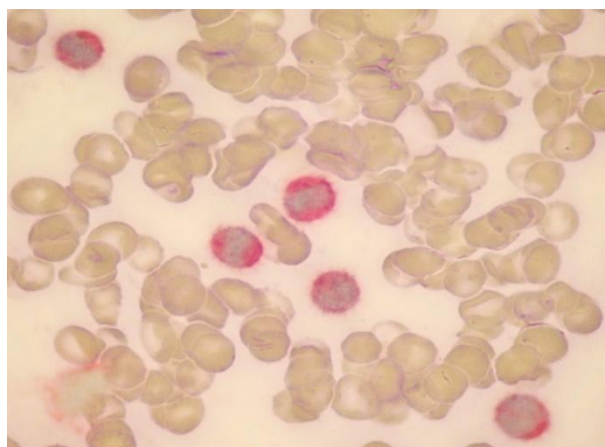
доступної літератури, дана паталогія зустрічається в 4-5 разів частіше серед чоловіків. У пацієнтів даної групи середній вік чоловіків та жінок суттєво не відрізнявся $48,0 \pm 22,0$ та $50,0 \pm 17,0$ років відповідно.

У пацієнтів даної групи фіксували значно збільшені розміри селезінки, в 45% випадків відмічалась гепатомегалія, лімфаденопатія зустрічалась вкрай рідко $<5\%$.

Кількість лейкоцитів в периферичній крові коливалась від глибокої лейкопенії ($0,7-1,5 \times 10^9/\text{л}$) до більш високих показників ($20,0-30,0 \times 10^9/\text{л}$). В лейкограмі в більшості випадків переважали Т-лімфоцити, субстратні клітини складали 5-10% і більше. Склад мієлограм також був неоднозначний. В частині випадків спостерігали картину виражено гіпоплазії з одиничними субстратними клітинами, або ж з переважанням лімфоїдних клітин. Серед них $1/3-2/3$ складали клітини з ворсинчастою цитоплазмою. За цитоморфологічними ознаками клітини ВКЛ відрізняються від клітин ЛМЗС. Субстратні клітини ВКЛ середнього або дещо крупнішого розміру, ніж при В-ХЛЛ, цитоплазма світло-блакитна або з ознаками слабкої базofilії, в частині клітин помірно широка з виростами. Цих виростів на клітинах більше, ніж при ЛМЗС, вони дещо довші та поліморфніші. Ядро округле, або овальне, інколи бобовидне, в частині клітин розташоване ексцентрично. Структура ядерного хроматину рихла. Ядерця нечітко візуалізуються, або відсутні. Характер реакції при виявленні активності КФ поліморфний. Вона визначається майже в усіх клітинах, в більшій частині з них від слабкої дрібно-гранулярної до помірної дифузно-гранулярної. В 10-15% клітин реакція була яскравою. При додаванні інгібітору (іонів тартрату) реакція зберігалася в половині субстратних клітин, при цьому, визначались клітини з яскравою реакцією. Кількість клітин з яскравою позитивною реакцією при цитохімічному дослідженні активності та локалізації тартратрезистентної кислої фосфатази в мазках периферичної крові та кісткового мозку варіювала в залежності від рівня прогресії захворювання (Рис. 4.3.1).



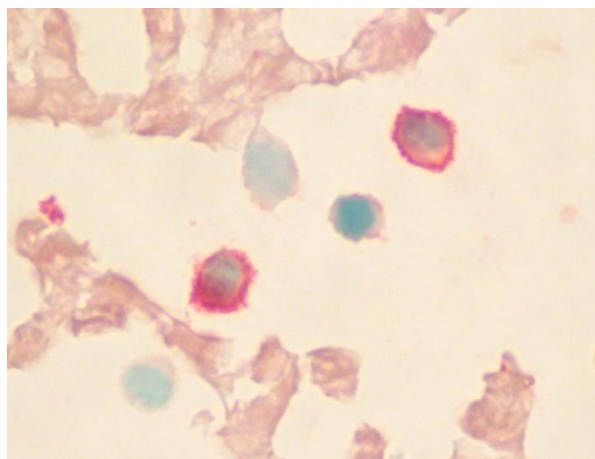
а



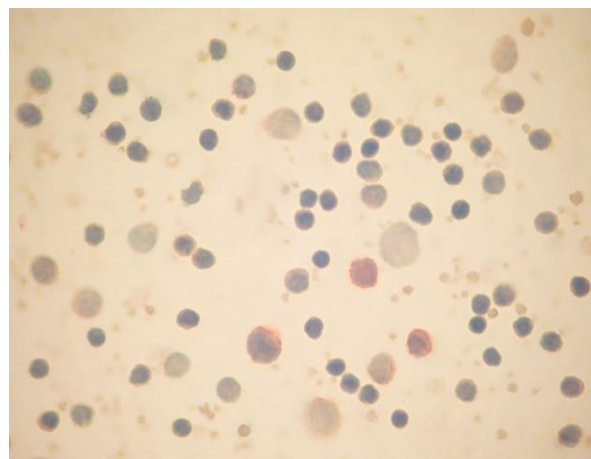
б

Рис. 4.3.1. Лімфоцити кісткового мозку хворих на ВКЛ (забарвлення за Паппенгеймом) (а), реакція на тартратрезистентну КФ (б), $\times 1000$.

За результатами імунофенотипування в 90% випадків на субстратних клітинах виявлялась експресія В-клітинних маркерів: CD19, CD20, CD22 (Рис. 4.3.2). Виражена або більш помірна реакція на поверхневих мембранах субстратних клітин спостерігалась при виявленні IgM. Патологічні клітини давали досить яскраву реакцію при взаємодії з CD11c. Позитивна реакція визначалась при виявленні антигену CD25 (маркера активованих Т- та В-лімфоцитів). На поверхневих мембранах клітин при ВКЛ, на відміну від В-клітинного ХЛЛ та небагаточисельних випадків ФЛ і ЛКМ, виявили експресію антигена CD103. На лейкомічних клітинах не виявлялась експресія CD5 та CD10. В 2/3 випадків виявили експресію цикліна D1 (Табл. 4.3.1, Рис. 4.3.3).



а



б

Рис. 4.3.2. Імуноцитохімічне визначення експресії антигенів CD22 (а) і CD20 (б) в клітинах кісткового мозку хворих на ВКЛ, $\times 1000$.

Таблиця 4.3.1

**Спектр експресії антигенів на поверхневих мембранах лімфоцитів
пацієнтів з ВКЛ**

Антиген	ВКЛ
КФ	Поліморфна реакція від слабкої дрібногранулярної до помірної дифузногранулярної (в 10% клітин яскрава)
КФ при додованні інгібітора - іонів тар трату	Реакція не інгібується
CD19	79,6-91,6* 87,6 $\pm$ 0,5**
CD20	78,4-93,8 87,7 $\pm$ 0,6
CD22	76,2-95,3 87,4 $\pm$ 0,8
CD11c	82,5-93,1 87,2 $\pm$ 0,4
CD25	83,4-94,6 87,4 $\pm$ 0,3
CD103	82,1-95,6 88,0 $\pm$ 0,4
Циклін D1	81,8-91,6 87,1 $\pm$ 0,3

Примітка: * min-max % лімфоцитів, що експресували антиген;

** середній % лімфоцитів, що експресували антиген

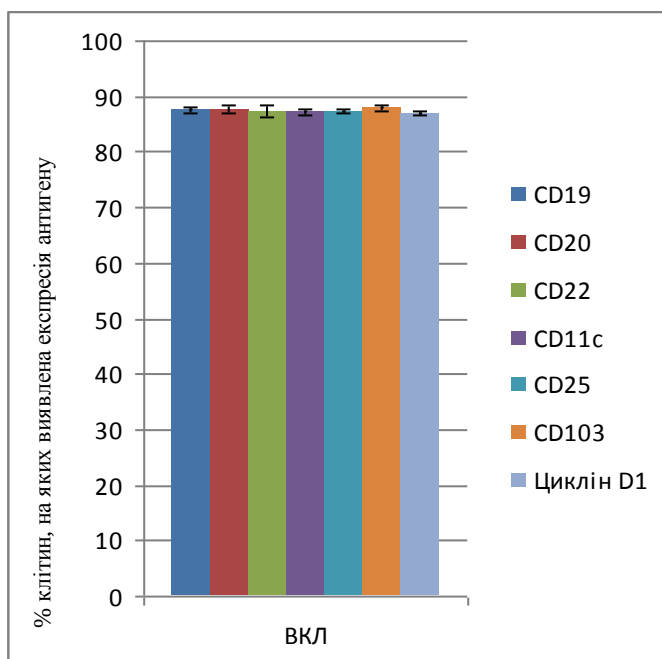


Рис. 4.3.3. Експресія антигенів CD19, CD20, CD22, CD11c, CD25, CD103, цикліну D1 на поверхневих мембранах лімфоїдних клітин пацієнтів з діагнозом ВКЛ.

4.4. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при лімфомі червоної пульпи селезінки

В класифікації ВООЗ 2017 року в розділі В-клітинних пухлин лімфоїдної тканини, виділена нова нозологічна форма - В-клітинна лімфома/лейкоз селезінки некласифікована. В свою чергу, вона поділяється на два різновиди:

- Дифузна лімфома червоної пульпи селезінки з малих лімфоцитів;
- Волосковоклітинний лейкоз - варіант.

До числа головних клініко-гематологічних проявів ЛЧПС, окрім значного збільшення селезінки та вогнищевих інфільтратів шкіри, відносяться тромбоцитопенія та лейкоцитопенія. Рідше може спостерігатись анемія.

При вивченні препаратів периферичної крові та кісткового мозку у пацієнтів з даною патологією ЛЧПС виникають значні труднощі в

трактуванні отриманих результатів. Можливо саме тому ЛЧПС діагностується менше ніж в 1% випадків всіх лімфом. При спленектомії та подальшому гістологічному та імуногістохімічному вивченні препаратів видаленої селезінки частота захворювання збільшується до 10%. Ми дослідили три випадки ЛЧПС (чоловіки 58, 64, 72 років). На рівні з селезінкою в патологічний процес були залучені синуси кісткового мозку. При даній патології збільшення лімфатичних вузлів зустрічається вкрай рідко, у наших пацієнтів вони також не були збільшені. Характерними рисами ЛЧПС були лейкопенія та тромбоцитопенія. В мазках периферичної крові та кісткового мозку виявлялись округлі клітини невеликого та середнього розміру, ядерний хроматин темний рихлий. Цитоплазма вузька з незначною базофілією. Відростки в цитоплазмі грубіші (ширші та довші) ніж при ЛМЗС та ВКЛ. Реакція при визначенні активності КФ дрібно-гранулярна – від слабкої до помірної. В поодиноких клітинах реакція дещо яскравіша. В двох випадках реакція інгібувалась іонами тартрату, в одному випадку зберігалось слабе забарвлення (Рис. 4.4.1).

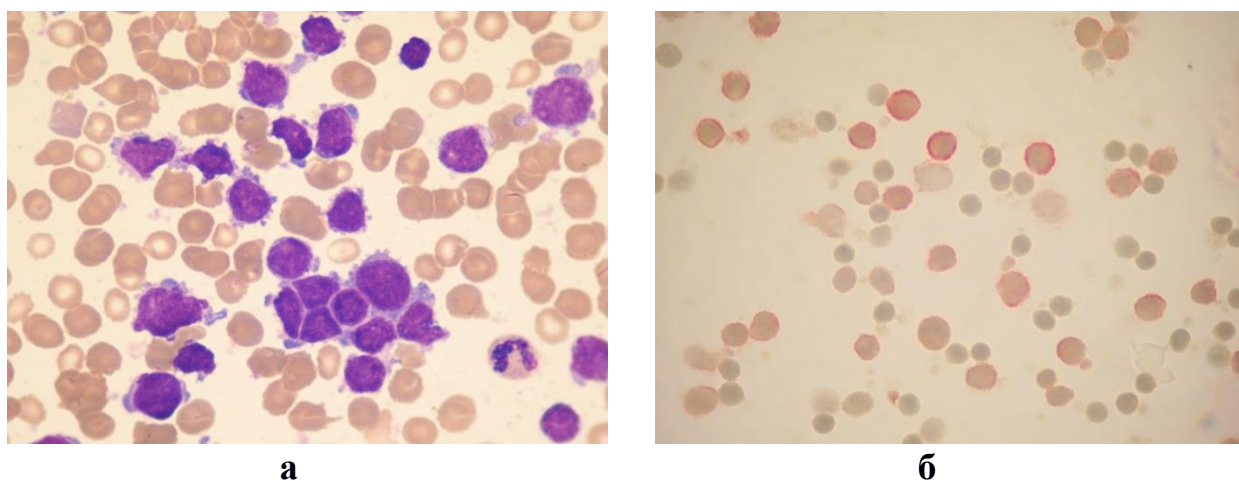


Рис. 4.4.1. Лімфоцити кісткового мозку хворих на ЛЧПС (забарвлення за Паппенгеймом) (а), реакція на тартратрезистентну КФ (б), $\times 1000$.

При проведенні імунофенотипування виявили експресію наступних В-клітинних маркерів: CD19, CD20, CD22 (Рис. 4.4.2). Особливістю була наявність досить яскравої реакції на CD22 (група А, 2 пацієнта). Субстратні

клітини були негативні при визначенні активності CD25, CD103, CD11c, CD5 та цикліну D1 (Табл. 4.4.1, Рис. 4.4.3). Пацієнта Г. ми розглянули як окремий випадок, так, як результати дослідження відрізнялися від наведених вище. На субстратних клітинах виявлена слабка експресія CD103, та помірна експресія CD11c.

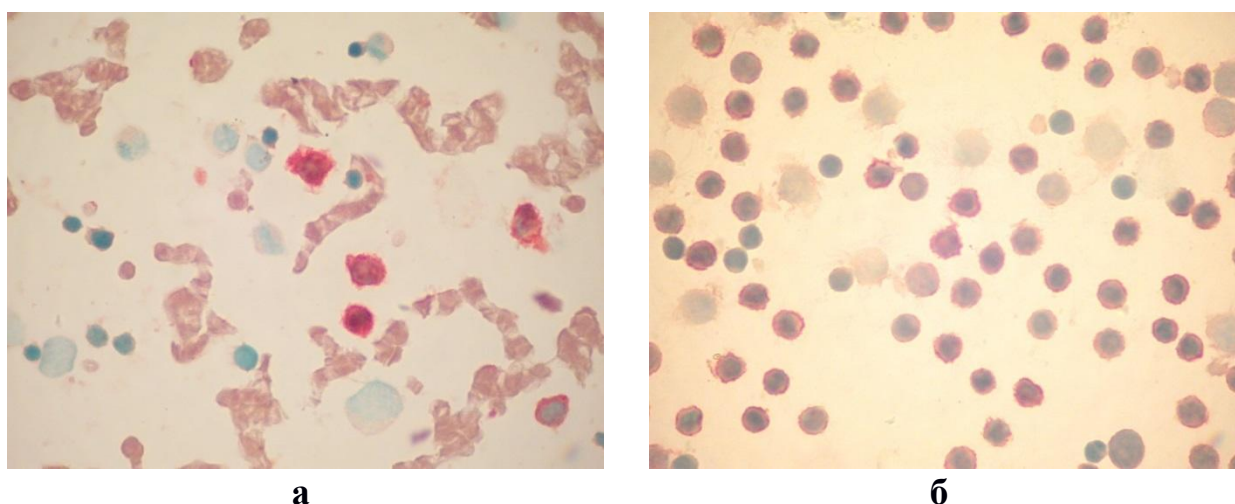


Рис. 4.4.2. Імуноцитохімічне визначення експресії антигенів CD22 (а) і CD20 (б) в клітинах кісткового мозку хворих на ЛЧПС, $\times 1000$.

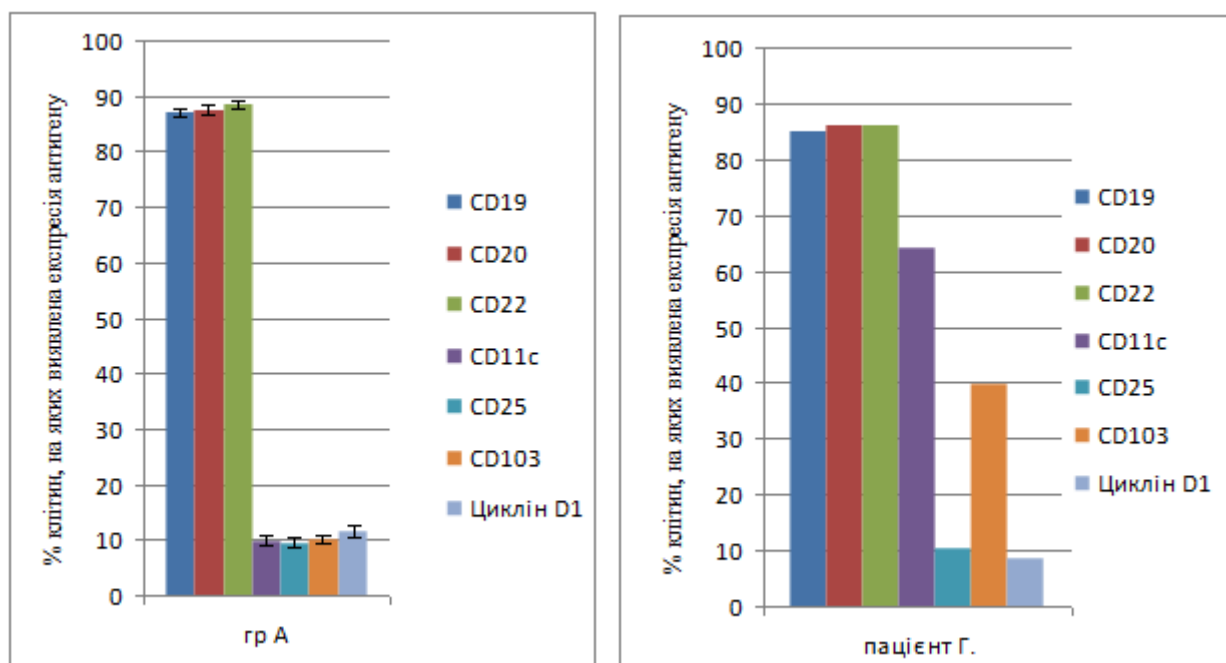


Рис. 4.4.3. Експресія антигенів CD19, CD20, CD22, CD11c, CD25, CD103, цикліну D1 на лімфоцитах пацієнтів з діагнозом ЛЧПС (групи А) та пацієнта Г.

Таблиця 4.4.1

**Спектр експресії антигенів на поверхневих мембранах лімфоцитів
пацієнтів з діагнозом ЛЧПС**

Антиген	ЛЧПС	
	Група А	Пацієнт Г.
КФ	Реакція від слабкої до помірної дрібногранулярної	Реакція від слабкої до помірної дрібногранулярної
КФ при додаванні інгібітора - іонів тар трату	Реакція інгібується	Реакція не інгібується
CD19	86,4-87,6* 87±0,6**	85,1
CD20	86,6-88,9 87,5±1,1	85,9
CD22	87,6-88,2 88,4±0,8	86,2
CD11c	9,1-12,4 9,75±0,9	64,3
CD25	8,6-10,4 9,5±0,9	10,4
CD103	8,9-11,2 10,1±1,1	39,7
Циклін D1	10,8-11,2 11,5±0,7	8,7

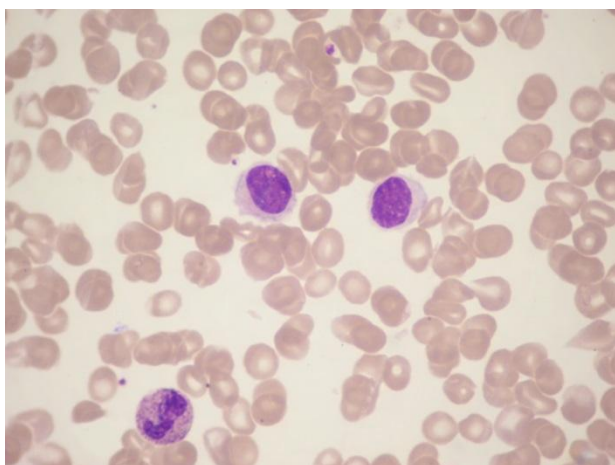
Примітка: * min-max % лімфоцитів, що експресували антиген;

** середній % лімфоцитів, що експресували антиген

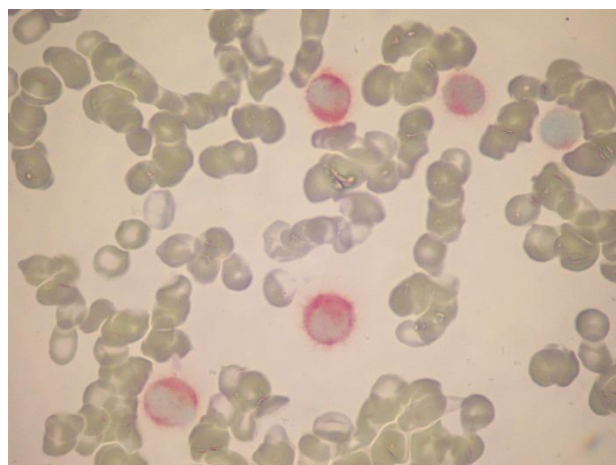
4.5. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при волосатоклітинному лейкозі, варіанті

Групу хворих, у яких був встановлений діагноз ВКЛ-В, склали 5 чоловік. Загалом дана паталогія зустрічається в 4-5 разів частіше серед чоловіків. У пацієнтів даної групи середній вік чоловіків становив $73,0 \pm 10,0$ роки.

Всі пацієнти були направлені на дослідження з підозрою на ВКЛ. В усіх хворих були збільшені розміри селезінки, у двох – незначне збільшення розмірів лімфатичних вузлів. Результати лабораторних досліджень викликали деякі сумніви в правильності попереднього діагнозу. В усіх хворих кількість лейкоцитів в периферичній крові коливались від 10 до $30 \times 10^9/\text{л}$. В трьох пацієнтів відмічали ознаки анемії та тромбоцитопенії. Кількість моноцитів в периферичній крові, на відміну від класичного ВКЛ, була значно підвищена. В мазках периферичної крові та кісткового мозку виявляли значну кількість лімфоїдних клітин з ворсинчастою цитоплазмою. Субстратні клітини округлі і дещо крупніші за клітини ВКЛ. Мали набагато вище ядерно-цитоплазматичне співвідношення, ніж субстратні клітини ВКЛ. Ядра клітин округлі, в них помітне ядроце. Структура хроматину конденсована, більш нагадує структуру хроматину в пролімфоцитах ніж, ВКЛ. Цитоплазма вузька з деякою базофілією. Вирости цитоплазми більше нагадують ЛЧПС ніж ВКЛ. Реакція на КФ дрібно-гранулярна від слабкої до помірної. В трьох хворих реакція при визначенні активності КФ в частині клітин зберігалась у вигляді слабкого профарбовування при додаванні інгібітора (іонів тартрата) в інкубаційне середовище, в двох інших випадках інгібувалась (Рис. 4.5.1)



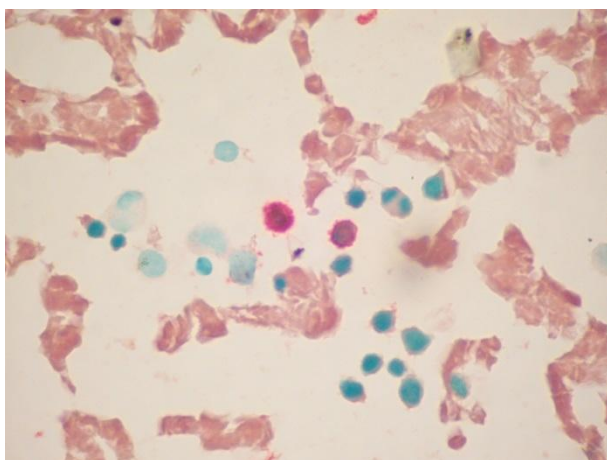
а



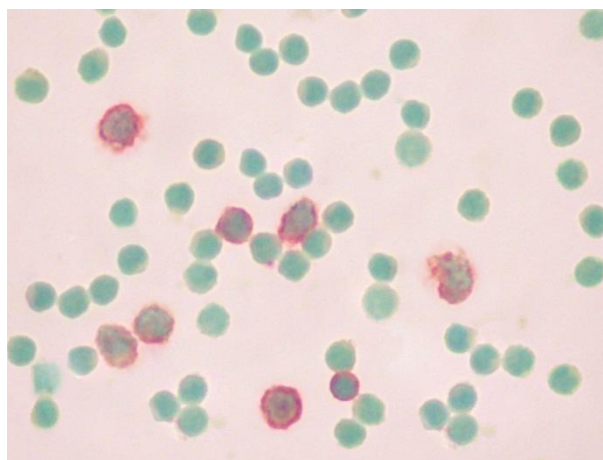
б

Рис. 4.5.1. Лімфоцити кісткового мозку хворих на ВКЛ-В (зabarвлення за Паппенгеймом) (а), реакція на тартратрезистентну кислу фосфатазу (б), $\times 1000$.

При проведенні імунофенотипування на мембранах субстратних клітин виявили експресію В-клітинних маркерів CD19, CD20, CD22 (Рис. 4.5.2). Експресія CD22 була набагато слабшою, ніж при ВКЛ та ЛСЧП, що є важливою ознакою при проведенні диференційної діагностики при цих захворюваннях. Субстратні клітини давали негативну реакцію при виявленні наступних маркерів: CD25, CD103 та цикліну D1. При проведенні імунофенотипування виявлялась позитивна реакція з антигеном CD11c (група А) (Табл. 4.5.1, Рис. 4.5.3). В двох пацієнтів фенотип дещо відрізнявся, була присутня слабка експресія CD25 та CD103 (група Б).



а



б

Рис. 4.5.2. Імуноцитохімічне визначення експресії антигенів CD22 (а) і CD20 (б) в клітинах кісткового мозку хворих на ВКЛ-В, $\times 1000$.

Таблиця 4.5.1

**Спектр експресії антигенів на поверхневих мембранах лімфоцитів
пацієнтів з діагнозом ВКЛ-В**

Антиген	ВКЛ-В	
	Група А	Група Б
КФ	Від слабкої до помірної дрібногранулярної	Від слабкої до помірної дрібногранулярної
КФ при додаванні інгібітора - іонів тар трату	Реакція не інгібується	Реакція інгібується
CD19	88,5-86,9* 87,3±0,6**	86,4-87,6 87±0,6
CD20	86,6-90,2 88,7±1	88,6-97,4 88±0,6
CD22	79,5-82,4 81,1±0,8	77,8-78,5 78,2±0,5
CD11c	89,3-91,4 90,4±0,6	87,4-88,2 87,8±0,6
CD25	8,7-11,7 10,6±0,8	61,8-63,2 62,5±0,7
CD103	7,6-9,4 8,5±0,6	58,4-59,6 59±0,7
Циклін D1	8,2-10,4 9,4±0,6	10,8-11,9 11,3±0,6

Примітка: * міні-макс % лімфоцитів, що експресували антиген;

** середній % лімфоцитів, що експресували антиген

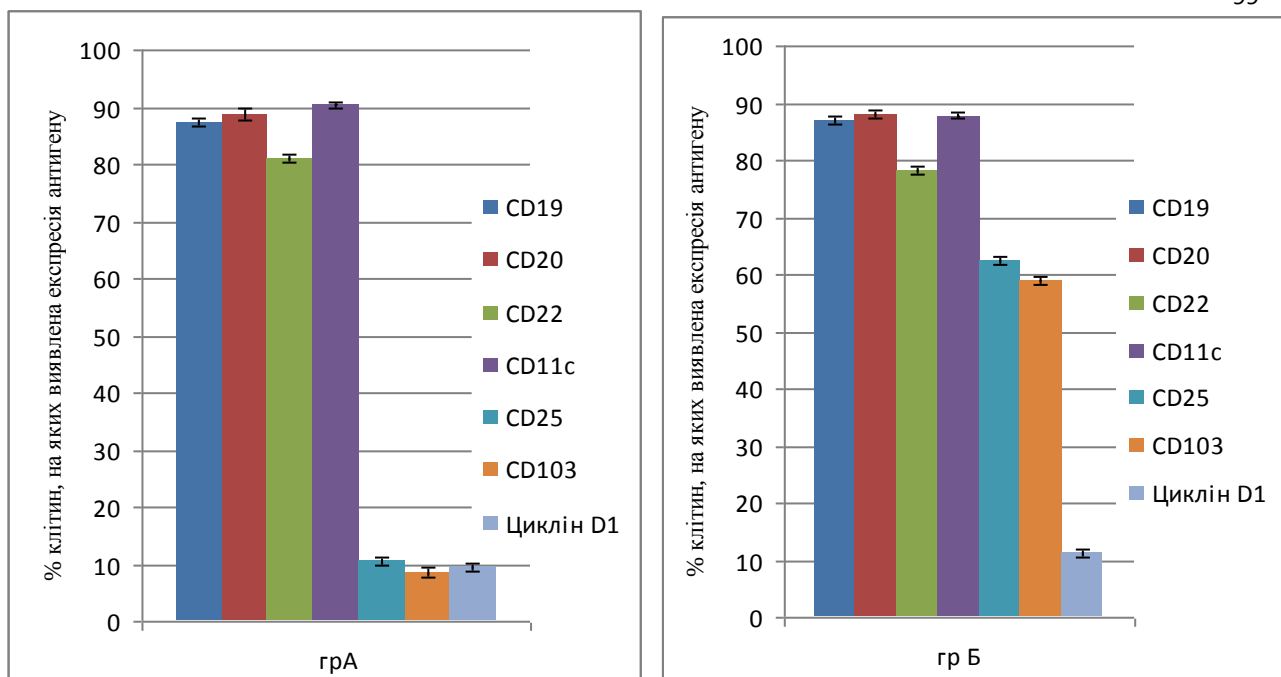


Рис. 4.5.3. Експресія антигенів CD19, CD20, CD22, CD11c, CD25, CD103, цикліну D1 на лімфоїдних клітинах пацієнтів з діагнозом ВКЛ-В (група А та Б).

Підсумки

В класифікації ВООЗ 2017 року новоутворень лімфоїдної та кровотворної тканин в якості окремої нозологічної форми виділяють В-клітинну лімфому/лейкоз селезінки некласифіковану, до якої входять дві підгрупи ЛЧПС та ВКЛ-В. В нашій роботі була сформована група з чотирьох патологій, субстратні клітини яких мають характерні вирости в цитоплазмі: ЛМЗС, ВКЛ, ЛЧПС, та ВКЛ-В. В результаті проведеного дослідження було встановлено, що незважаючи на ряд подібних ознак, субстратні клітини даних захворювань відрізняються між собою та походять із різного за походженням та ступенем диференціювання В-лімфоцитів. За результатами цитоморфологічного дослідження було встановлено, що патологічні клітини даних нозологій відрізняються між собою за розміром, формою ядра, структурою хроматину, кольором та розміром цитоплазми. Реакція на КФ в злоякісно трансформованих клітинах була поліморфна, при додаванні інгібіторів реакція при ВКЛ та ВКЛ-В інгібувалась, при ЛМЗС та ЛЧПС

зберігалась в невеликому відсотку випадків (до 25%). Субстратні клітини давали позитивну реакцію при виявленні антигенів CD19, CD20, CD22, та відрізнялися реакцією при виявленні таких маркерів як CD11c, CD25, CD103 та циклін D1. Результати досліджень, описані в підрозділах 4.1-4.5, опубліковані у [25, 78, 87, 91, 93-95, 101, 129, 131].

РОЗДІЛ 5

ЛІМФОЇДНІ КЛІТИНИ ПРИ ЛІМФОМІ З КЛІТИН МАНТІЙНОЇ ЗОНИ ТА БЛАСТОЇДНОМУ ВАРІАНТУ ЛІМФОМИ З КЛІТИН МАНТІЇ

5.1. Загальна характеристика груп обстежених хворих

До досліджуваної групи увійшов 64 пацієнт з В-клітинними лімфопроліферативними захворюваннями. Нами було проведено комплексне дослідження лімфоїдних клітин периферичної крові та кісткового мозку. У 55 пацієнтів був встановлений діагноз ЛКМ у 9 – БВ-ЛКМ. Цитологічний варіант лімфоми у кожному випадку визначався з урахуванням морфологічних, цитохімічних та імунофенотипових характеристик субстратних лімфоїдних клітин відповідно критеріям класифікації ВООЗ 2017 р.

Розподіл хворих за нозологічними групами представлено в (Табл. 5.1.1). Як видно з даних наведених в таблиці, серед даної групи патологій частіше зустрічається ЛКМ – 85,9%, а БВ-ЛКМ є досить рідкісним захворюванням і складає – 14,1%.

Таблиця 5.1.1

Групи обстежених хворих

Цитологічний варіант	Абсолютна кількість хворих	% хворих
ЛКМ	55	85,9
БВ-ЛКМ	9	14,1

Для верифікації діагнозу використовували морфологічний метод вивчення субстратних лімфоїдних клітин. Звертали увагу на розмір клітин, форму ядра, структуру хроматину, ядерно-цитоплазматичне співвідношення,

наявність вакуоль в цитоплазмі, ступінь базофілії цитоплазми та наявність зернистості. Використовували цитохімічні методи детекції внутрішньоклітинної локалізації та активності деяких ферментів в різних типах лімфоїдних клітин. Імунофенотипування для визначення рівня експресії диференційних антигенів для встановлення лінійності та клоновості процесу проводили за допомогою імуноферментних цитохімічних методів.

5.2. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при лімфомі з клітин мантиї

Серед групи хворих, у яких був встановлений діагноз ЛКМ, було дещо більше чоловіків 30 (46,9%), ніж жінок 25 (39,1%). У пацієнтів даної групи середній вік чоловіків та жінок суттєво не відрізнявся і складав $62,5 \pm 17,5$ та $67,5 \pm 20,5$ років, відповідно.

ЛКМ зустрічається досить рідко і становить близько 3-10% від всіх випадків НХЛ. Характерними клінічними проявами в обстежених хворих були наявність лімфаденопатії, спленомегалії та гепатомегалії. У всіх пацієнтів при дослідженні периферичної крові загальна кількість лейкоцитів коливалась від нормальних показників до $80-100 \times 10^9/\text{л}$.

У мазках крові та кісткового мозку ми виявили від 50 до 90% клітин, які за цитоморфологічними ознаками належали до субстратних. Це були лімфоїдні клітини невеликого та середнього розміру, дещо крупніші, ніж нормальні лімфоцити, з округлим, або неправильної форми ядром. Цитоплазма клітин була досить широкою та блідою. Хроматин ядер більш дисперсний, ніж в малих лімфоцитах в нормі, ядерця погано візуалізовані, в переважній більшості випадків залишались непомітними. Слід зазначити, що для встановлення прогнозу у хворих на ЛКМ важливим є дослідження фракції проліферуючих клітин на основі процентного співвідношення вмісту ядер клітин, що взаємодіють з МкАт до антигену Ki-67.

При цитохімічному дослідженні субстратних клітин, що інфільтрують кістковий мозок, та виявляються в різній кількості в периферичній крові, визначалась невелика активність КФ та КНЕ у вигляді слабого дифузного забарвлення цитоплазми. Активність КФ інгібувалась повністю при додаванні в інкубаційне середовище інгібіторів (іонів тартрату) (Рис. 5.2.1).

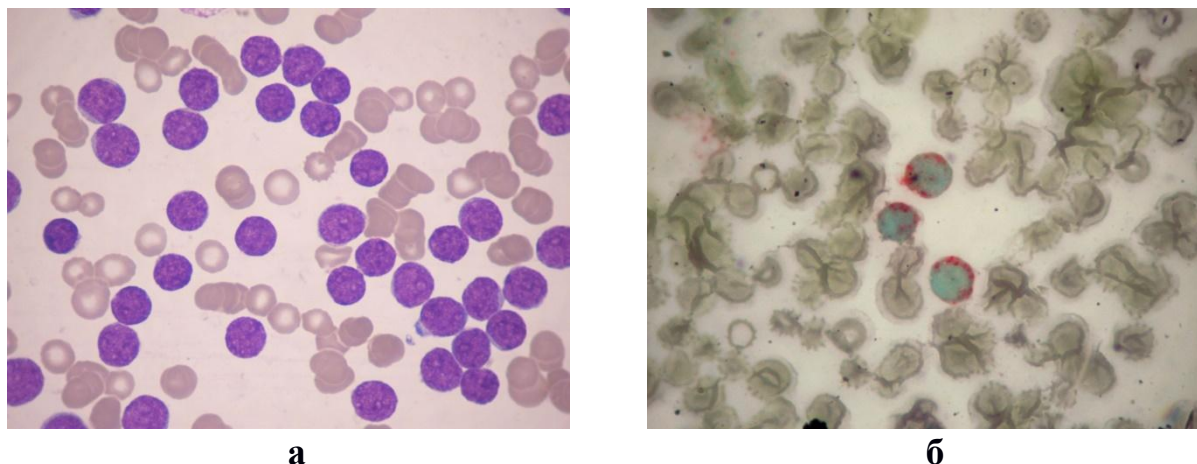
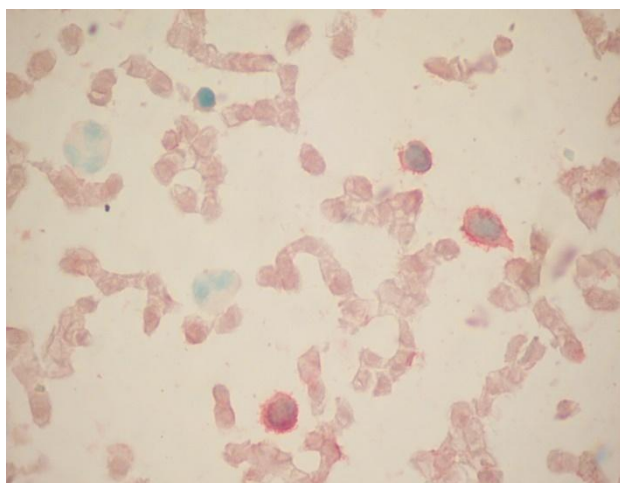
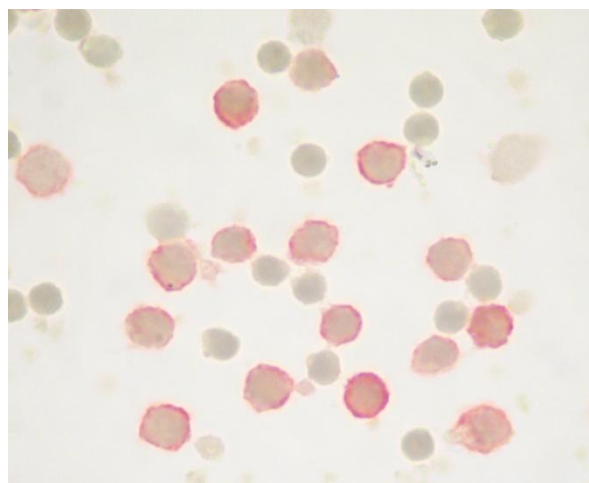


Рис. 5.2.1. Лімфоцити кісткового мозку хворих на МКЛ (забарвлення за Паппенгеймом) (а), реакція на тартратрезистентну КФ (б), $\times 1000$.

Субстратні клітини, які виявлялися при лейкоїзації процесу в кістковому мозку та периферичній крові, давали позитивну реакцію при визначенні В-клітинних антигенів CD19, CD20, CD22 (Рис. 5.2.2). Типовою характерною рисою була наявність експресії антигену CD5, та позитивна реакція при імуноцитохімічному виявленні антигену CD43. У 10% випадків у 15-20% клітин виявлялась слабка експресія антигену CD23. У переважній більшості випадків спостерігали негативну реакцію з МкАт до антигену CD10, лише в 3% випадків експресія даного антигену була дуже слабкою. При проведенні імунофенотипування виявили також негативну реакцію з МкАТ до наступних антигенів: CD11c, CD25, CD103. Важливим маркером для проведення уточненої діагностики може бути циклін D1, який виявляється навіть в тих рідкісних випадках, коли ми не спостерігаємо наявності експресії антигену CD5 (Табл. 5.2.1, Рис. 5.2.3).



а



б

Рис. 5.2.2. Лімфоцити кісткового мозку хворих на ЛКМ. Імуноцитохімічне визначення антигену CD5 (а), і цикліну D1 (б), x1000.

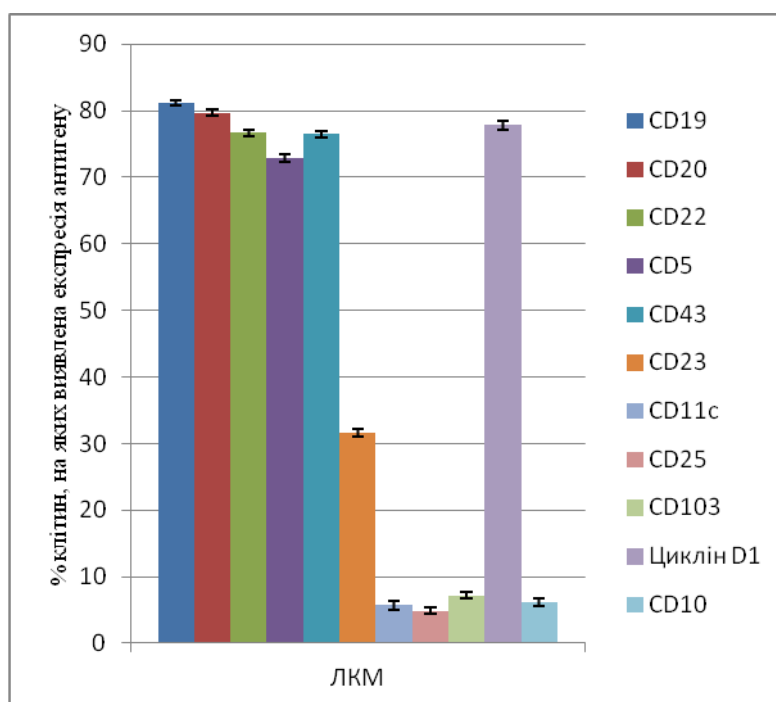


Рис.5.2.3. Експресія антигенів CD19, CD20, CD22, CD5, CD43, CD23, CD11c, CD25, CD103, цикліну D1, CD10 на лімфоцитах пацієнтів з діагнозом ЛКМ.

Таблиця 5.2.1

**Спектр експресії антигенів на поверхневих мембранах лімфоцитів
у пацієнтів з діагнозом ЛКМ**

Антиген	ЛКМ
CD19	78,4-86,4* 81,2±0,4 **
CD20	74,5-84,8 79,7±0,5
CD22	71,4-82,9 76,7±0,5
CD5	68,4-79,8 72,8±0,6
CD43	71,2-81,4 76,5±0,5
CD23 (в 10% випадків на 10-15% клітин)	28,2-36,4 31,6±0,6
CD11c	3,4-8,4 5,7±0,6
CD25	2,1-7,6 4,9±0,5
CD103	4,6-9,4 7,2±0,5
Циклін D1	74,5-82,7 77,8±0,6
CD10	3,8-8,6 6,2±0,6

Примітка: * min-max % лімфоцитів, що експресували антиген;

** середній % лімфоцитів, що експресували антиген

5.3. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при бластоїдному варіанті лімфоми з клітин мантиї

Класифікація ВООЗ 2017 р. визначає бластоїдний варіант (БВ-ЛКМ) як окремий морфологічний варіант ЛКМ. Він становить до 30% всіх випадків ЛКМ, часто виникає *de novo*, рідше може розвиватися внаслідок трансформації класичної ЛКМ. БВ-ЛКМ асоціюється з агресивним перебігом захворювання, передбачає несприятливий прогноз перебігу захворювання. Середній показник загальної виживаності хворих на бластоїдний варіант нижчий порівняно з класичною формою ЛКМ (14,5 проти 53 місяців). БВ-ЛКМ поділяють на два цитологічні підтипи: лімфобластний і центробластний.

Лімфобластний підтип лімфоми представлений клітинами середнього розміру з дрібнозернистою структурою хроматину та вузькою цитоплазмою. В частині випадків в ядрах виявляються невеликі ледь помітні ядерця, у 15% випадків в ядрах добре візуалізуються ядерця.

При центробластному підтипі БВ-ЛКМ клітини значно крупніші, цитоплазма помірна, іноді з ознаками базофілії, ядра круглі або з дещо нерівними краями. Хроматин ядер рихлий, інколи в ядрі слабо візуалізуються ядерця.

Хворих на лімфобластний підтип БВ-ЛКМ лікарі найчастіше скеровували на дослідження як лімфобластну лімфому або ГЛЛ. При центробластному підтипі процес розцінюється як монобластний варіант ГМЛ. В частині випадків була підозра на наявність ДВБКЛ в стадії лейкоемізації.

Серед групи хворих, у яких був встановлений діагноз БВ-ЛКМ, було дещо більше чоловіків 7 (77,8%), ніж жінок 2 (22,2%). У пацієнтів даної групи середній вік чоловіків та жінок суттєво не відрізнявся $56,5 \pm 11,5$ та $62,0 \pm 15,0$ років відповідно.

У всіх пацієнтів при дослідженні периферичної крові спостерігався лейкоцитоз. Загальна кількість лейкоцитів коливалась від $60 \times 10^9/\text{л}$ до $100\text{--}130 \times 10^9/\text{л}$. В мазках крові та кісткового мозку ми виявили від 50 до 90% клітин з ознаками бластів. За цитоморфологічними характеристиками у окремих хворих вони нагадували лімфобласти, в інших випадках – бласти мієлоїдного походження. Слід підкреслити, що патологічні клітини при БВ-ЛКМ, які за цитоморфологічними характеристиками нагадують бласти, не відносяться до кровотворних клітин–попередників, а є зрілими лімфоїдними клітинами, на поверхневих мембранах яких експресуються легкі та важкі ланцюги імуноглобулінів.

При цитохімічному вивченні субстратних клітин, крупнішого чи середнього розміру, визначалась негативна реакція на мієлопероксидазу. Реакція на КФ коливалась від негативної до слабкої дифузної. Також ми виявили слабку дифузногранулярну реакцію на КНЕ (Рис. 5.3.1).

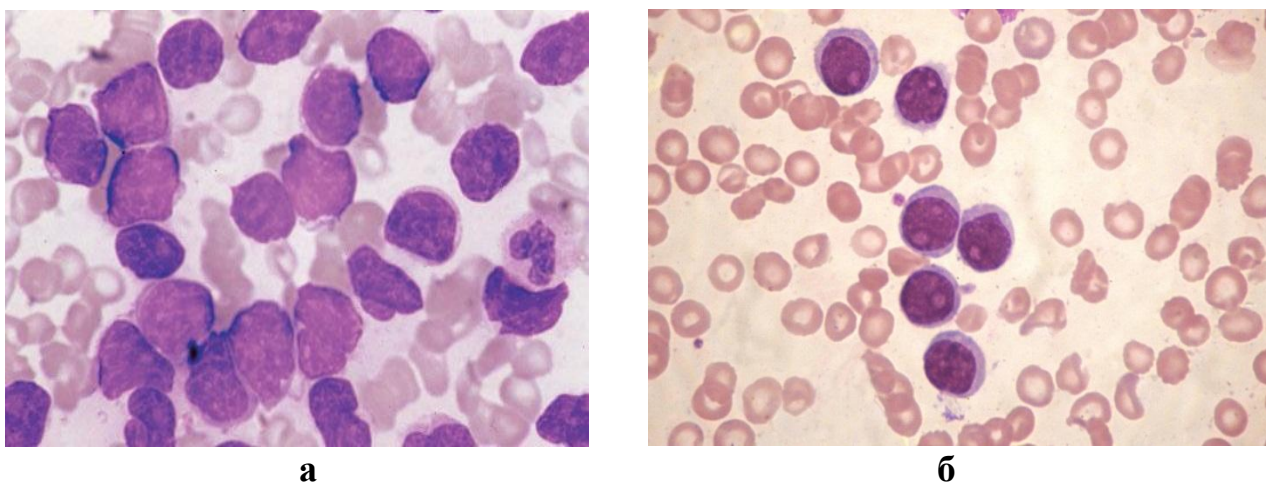


Рис. 5.3.1. Субстратні клітини хворих на лімфобластний варіант БВ-ЛКМ (а) та центробластний варіант БВ-ЛКМ (б) (зabarвлення за Паппенгеймом), $\times 1000$.

При імунофенотипуванні клітин крові та кісткового мозку хворих нами використовувались МкАт до лінійно-специфічних та диференційних антигенів різних типів лімфоїдних клітин та кровотворних клітин мієлоїдного походження, умовно поділені на маркери трьох ліній.

У чотирьох хворих з лімфобластним варіантом (1 група) БВ-ЛКМ фенотип субстратних клітин був звичайний для ЛКМ. Визначалася позитивна реакція з В-клітинними маркерами CD19, CD20, CD22. Яскрава реакція спостерігалася також при виявленні антигену CD5 та циклін D1. Негативною реакція була при виявленні антигену CD23. У 2 з 9 пацієнтів з центробластним варіантом (2 група) БВ-ЛКМ фенотип субстратних клітин дещо відрізнявся від класичного. При проведенні імунофенотипування виявили негативну реакцію з наступними антигенами: CD23 та CD5 на поверхневих мембранах клітин, за умови наявності експресії В-клітинних маркерів та антигену CD10 (Табл. 5.3.1, Рис. 5.3.2).

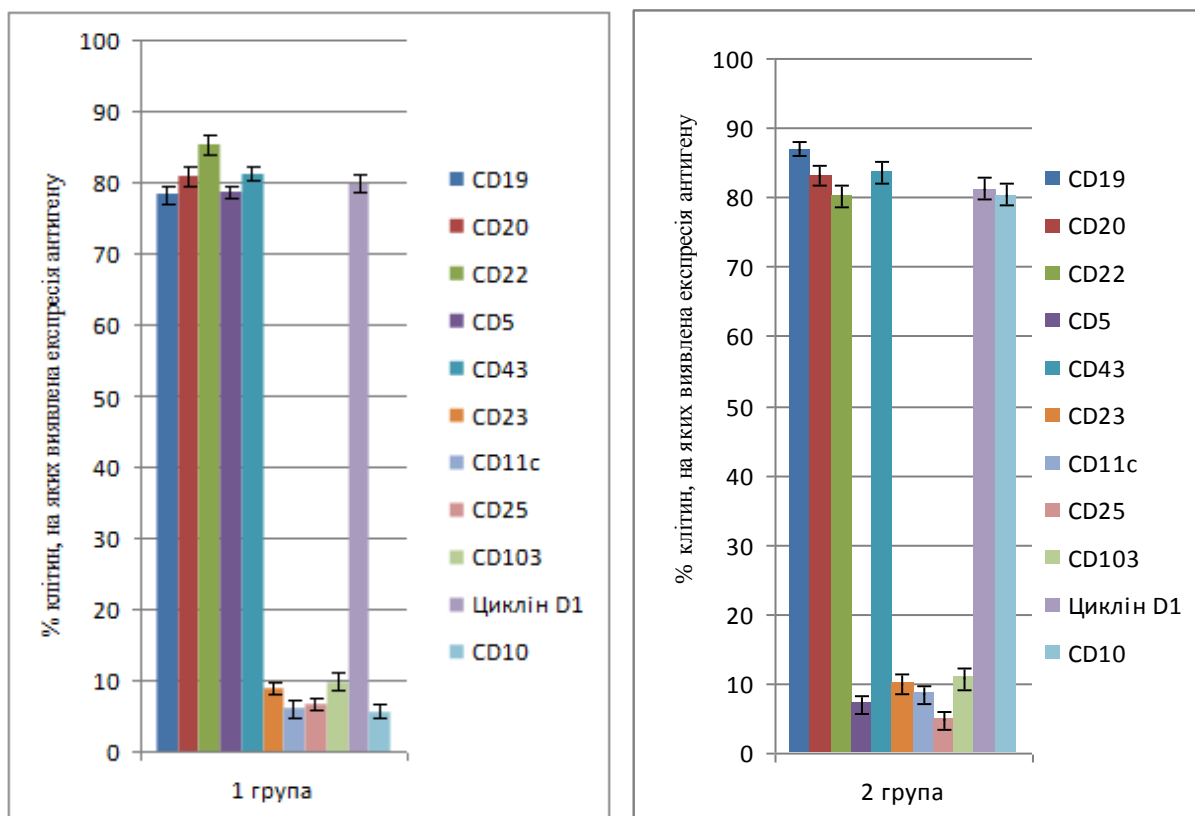


Рис. 5.3.2. Експресія антигенів CD19, CD20, CD22, CD5, CD43, CD23, CD11c, CD25, CD103, цикліну D1, CD10 на субстратних клітинах хворих на БВ-ЛКМ.

Таблиця 5.3.1

Спектр експресії антигенів на поверхневих мембранах субстратних клітин у пацієнтів з діагнозом БВ-ЛКМ

Антиген	БВ-ЛКМ	
	Лімфобластний варіант (1 група)	Центробластний варіант (2 група)
CD19	75,4-83,2* 78,3±1,3**	85,9-87,9 86,9±1
CD20	78,9-84,3 80,9±1,3	81,9-84,6 83,2±1,3
CD22	81,4-88,5 85,3±1,3	78,6-81,9 80,2±1,6
CD5	76,8-81,3 78,6±0,8	5,8-8,2 7±1,2
CD43	78,4-84,3 81,2±1,1	82,1-85,4 83,7±1,6
CD23	6,8-11,4 8,9±0,8	8,6-11,4 10±1,4
CD11c	3,4-10,4 6±1,3	7,2-9,8 8,5±1,3
CD25	3,8-8,6 6,7±0,8	3,5-6,1 4,8±1,3
CD103	6,5-11,1 9,8±1,2	9,1-10,4 10,7±1,6
Циклін D1	75,6-82,9 79,9±1,2	79,8-82,9 81,3±1,5
CD10	2,4-8,9 5,6±1,1	76,8-82,1 80,4±1,6

Примітка: * min-max % субстратних клітин, що експресували антиген;

** середній % субстратних клітин, що експресували антиген

У трьох пацієнтів результати імунофенотипування субстратних клітин кісткового мозку та периферичної крові дещо відрізнялися від наведених вище. З метою диференційної діагностики БВ-ЛКМ та ряду інших форм новоутворень лімфоїдної і кровотворної тканин нами було проведене ґрунтовне імуноцитохімічне дослідження атипових клітин, характеристика яких наведена далі. В даних випадках виконання ексцизійної біопсії безпосередньо патологічного вогнища ураження було неможливим.

Перший випадок. Пацієнт Г., 60 років. Попередній діагноз – гостра лейкемія. У хворого в периферичній крові загальна кількість лейкоцитів становила $80 \times 10^9/\text{л}$, в лейкограмі було виявлено 85% бластів середнього та більш крупного розміру. У кістковому мозку кількість бластних клітин становила 75%. Реакція при виявленні активності КФ – негативна, реакція на КНЕ – слабка дрібногранулярна.

При проведенні імунофенотипування з використанням МкАт першої лінії ми не змогли визначити природу бластів. Нами була встановлена негативна реакція при виявленні антигенів: CD19, CD13, CD33, CD3, CD117, CD10 та CD7. Негативна реакція з CD7 та дифузна реакція при визначенні активності КФ свідчили проти Т-клітинної природи бластів. Аналізуючи отримані результати, ми встановили, що негативна реакція з МкАт до мієлопероксидази, антигенів: CD13, CD33, CD117 свідчать, в свою чергу, проти мієлоїдної природи патологічно змінених клітин, незважаючи на те, що в окремих випадках негативна реакція на мієлопероксидазу (МПО) може визначатися при таких варіантах гострого мієлоїдного лейкозу як гострий мієлоїдний лейкоз з мінімальними ознаками диференціювання (ГМЛ M0) та гострий монобластний лейкоз (ГМЛ M5).

Лише при проведенні імунофенотипування патологічних клітин за допомогою другої панелі МкАт, яка дозволяє встановити Т- В- клітинну, еритроїдну чи мегакаріобластну природу субстратних клітин, ми змогли встановити походження атипових клітин. До цієї панелі входили МкАт до антигенів: CD3, CD79a, CD61, CD41, CD36, GLA. Ми виявили позитивну

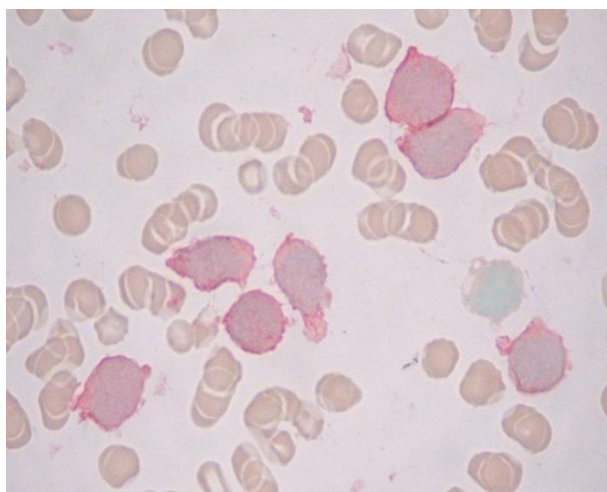
реакцію лише за одним антигеном, локалізованим в цитоплазмі (суCD79a), що, в свою чергу, дало нам розуміння того, що бласти мають В-клітинну лімфоїдну природу.

Третя лінія діагностичних МкАт дозволила нам встановити ступінь зрілості клітин. До її складу входили моноклональні антитіла до наступних антигенів: CD20, CD5 та цикліну D1, а також МкАт для виявлення легких ланцюгів імуноглобулінів локалізованих в цитоплазмі клітин (су μ), або на поверхневих мембранах клітин (s μ , s λ , s κ). В даного хворого в цитоплазмі субстратних клітин детектували експресію важких ланцюгів IgM, на поверхневих мембранах патологічних клітин – експресію наступних антигенів s μ , CD20, CD5, s λ , та циклін D1. В результаті подібного багатоетапного дослідження у цього пацієнта ми встановили кінцевий діагноз БВ-ЛКМ. Особливою характеристикою даного випадку, як і наведених нижче, можна вважати наявність або відсутність CD19 (маркер В-клітин) на невеликій кількості клітин 10-15%. Як відомо, коекспресія даного антигену може виявлятися на невеликій кількості бластних клітин при гострих лейкозах мієлоїдного походження.

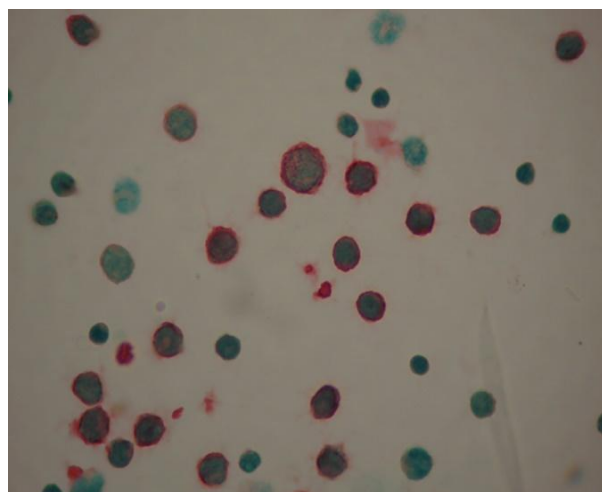
Другий випадок. Пацієнт А., 55 років. Попередній діагноз – гострий лейкоз. В периферичній крові загальна кількість лейкоцитів - $100 \times 10^9/\text{л}$. При перегляді мазків кісткового мозку звернула на себе увагу дифузна інфільтрація бластними клітинами крупного розміру. Клітини з подібними цитоморфологічними ознаками виявлені також в мазках крові. При проведенні цитохімічних досліджень зафіксована негативна реакція на мієлопероксидазу, КФ та КНЕ. Провівши імунофенотипування із застосуванням першої панелі МкАт, ми встановили негативну реакцію за всіма апробованими антитілами першої лінії. При застосуванні МаКт другої лінії ми встановили слабку експресію суCD79a. Це дало нам розуміння, що патологічний процес має В-клітинну природу. Дослідження імунофенотипу з застосуванням третьої панелі МкАт дозволило встановити позитивну реакцію при виявленні су μ , s μ , CD20, CD10, s λ , цикліну D1 та негативну

реакцію з CD5. Отже в результаті проведеної роботи у пацієнта А. встановлено діагноз БВ-ЛКМ (CD5⁻).

Третій випадок. Пацієнт П., 69 років. Попередній діагноз - гострий монобластний лейкоз (ГМЛ М5). В периферичній кров лейкоцитоз - $130 \times 10^9/\text{л}$. В препаратах крові та кісткового мозку визначалося від 80 до 90% бластів крупного розміру. При проведенні цитохімічних реакцій ми виявили слабку дрібногранулярну реакцію при виявленні активності КФ. Реакція на КНЕ була від слабкої до помірної в частині бластів. Імунофенотипування субстратних клітин із застосуванням першої панелі МкАт також не дало чіткого розуміння походження патологічних клітин і природу процесу. На другому етапі ми виявили експресію лише одного антигену - cyCD79a. На третьому етапі встановлена позитивна реакція при дослідженні експресії наступних антигенів: CD20, суμ, sμ, sλ, цикліну D1. В результаті імунофенотип, який ми отримали (cyCD79a⁺, CD20⁺, суμ⁺, sμ⁺, sλ⁺, CD5⁻, CD10⁻, циклін D1⁺), та характер морфологічної і цитохімічної картини дали нам підстави ідентифікувати в даного пацієнта БВ-ЛКМ (рис. 5.3.3).



а



б

Рис. 5.3.3. Імуноцитохімічне визначення експресії антигену CD20 (а) і цикліну D1 (б) в клітинах кісткового мозку хворого на БВ-ЛКМ, $\times 1000$.

Підсумок

В класифікації ВООЗ 2017 року пухлин лімфоїдної та кровотворної тканин виділяють окрему нозологічну форму - БВ-ЛКМ. Патологічні клітини при БВ-ЛКМ за цитоморфологічними характеристиками подібні до бластів, в яких не виявляли МПО, у більшості випадків КНЕ, КФ, проте у деяких випадках спостерігали дрібногранулярну реакцію на КНЕ та КФ, яка повністю інгібувалася при додаванні іонів тартрату. За результатами імунофенотипування субстратних клітин при БВ-ЛКМ сформовано 2 групи та виділено окремі три випадки, які не ввійшли до цих груп. Злоякісно трансформовані клітини хворих на БВ-ЛКМ першої групи мали імунофенотип – CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD5⁺, циклін D⁺, CD23⁻, CD10⁻), другої – CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD5⁻, циклін D⁺, CD23⁻, CD10⁺), а окремо виділені випадки – CD19⁻, cyCD79a⁺, CD20⁺, CD5⁺, CD10⁻, sλ⁺, sμ⁺, суμ⁻; – CD19⁻, cyCD79a⁺, CD20⁺, CD5⁻, CD10⁺, sλ⁺, sμ⁺, суμ⁺; – CD19⁻, cyCD79a⁺, CD20⁺, CD5⁻, CD10⁻, sλ⁺, sμ⁺, суμ⁺. Отримані нами дані дозволяють стверджувати, що результати цитоморфологічного, цитохімічного та імунофенотипового дослідження, з використанням панелі спеціально підібраних моноклональних антитіл, дозволяють ідентифікувати патологічні клітини крові та кісткового мозку при бластоїдному варіанту лімфоми з клітин мантиї в стадії лейкоїзації, та проводити диференційну діагностику з іншими формами новоутворень кровотворної і лімфоїдної тканин. Результати досліджень, описані в підрозділах 5.1-5.3, опубліковані у [24, 25, 78, 86, 88, 89, 91, 95, 97, 101, 129, 131].

РОЗДІЛ 6

ІМУНОЦИТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЛІМФОЇДНИХ КЛІТИН ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ТА КІСТКОВОГО МОЗКУ ХВОРИХ НА ДИФУЗНУ В-ВЕЛИКОКЛІТИННУ ЛІМФОМУ

6.1. Загальна характеристика груп обстежених хворих

До досліджуваної нами групи увійшли пацієнти з підозрою на ДВБКЛ. Нами було проведено комплексне дослідження лімфоїдних клітин периферичної крові та кісткового мозку в даних хворих. У 35 пацієнтів був встановлений діагноз ДВБКЛ (Табл. 6.1.1). В мазках кісткового мозку виявлені субстратні клітини великого розміру. У 9 з них подібні клітини були і в периферичній крові. Цитологічний варіант патологічного процесу визначався з урахуванням морфологічних, цитохімічних та імунофенотипових характеристик субстратних лімфоїдних клітин відповідно критеріям класифікації ВООЗ 2017 р.

Таблиця 6.1.1

Група обстежених хворих

Цитологічний варіант	Абсолютна кількість хворих
ДВБКЛ	35

Серед даної групи пацієнтів ураження кісткового мозку зустрічається вкрай рідко.

Для верифікації діагнозу використовували морфологічний метод вивчення субстратних лімфоїдних клітин (форма ядра, структура хроматину, розмір клітини, ядерно-цитоплазматичне співвідношення, наявність вакуоль, ступінь базофілії цитоплазми та наявність зернистості). Використовували цитохімічні методи визначення активності та внутрішньоклітинної локалізації ферментів в лімфоцитах. Для встановлення клоновості процесу,

визначення рівня експресії диференційних антигенів проводили імунофенотипування.

6.2. Цитоморфологічна, цитохімічна та імунофенотипова характеристика субстратних клітин при дифузній В-великоклітинній лімфомі

Серед групи хворих, у яких був встановлений діагноз ДВБКЛ, було більше чоловіків 27 (77,1%), ніж жінок 8 (22,9%). У пацієнтів даної групи середній вік чоловіків та жінок суттєво не відрізнявся – $60,5 \pm 18,5$ та $62,5 \pm 17,5$ років відповідно.

За статистичними даними ДВБКЛ складає більше 30% всіх В-клітинних неходжкінських лімфом. З них 40% відносяться до екстранодальних з первинною локалізацією в легенях, нирках, печінці, кістках, шкірі, ЦНС і т.д. Залучення в патологічний процес кісткового мозку спостерігається не більше ніж у 27% випадків. Злоякісно трансформовані клітини виявляються в периферичній крові у 20% хворих.

Кількість лейкоцитів в крові коливалась від $2,6 \times 10^9/\text{л}$ до $15 \times 10^9/\text{л}$. Лімфоцити складали 18-50%. У кістковому мозку кількість лімфоцитів коливалась від 10 до 40%. Кількість субстратних клітин в кістковому мозку не залежала від кількості лейкоцитів, лімфоцитів, морфологічних особливостей клітин, віку хворих. В периферичній крові здебільшого виявляли 3-5% злоякісно трансформованих клітин, в кістковому мозку – 8-30%.

Злоякісні трансформовані клітини у хворих на ДВБКЛ за морфологічними ознаками були вкрай поліморфні. Більшість з них це клітини великого розміру. Проте з ними в крові та кістковому мозку виявлялися менші за розміром (середні) субстратні клітини. Цитоплазма клітин блакитного кольору, в деяких випадках базофільна. У ряді випадків в цитоплазмі виявлялись вакуолі. Крупні ядра клітин овальні, або округлі, іноді

більш поліморфні з нерівними краями. Ядра розміщені як в центрі клітин, так і ексцентрично. Структура хроматину ядер теж неоднозначна. В частині випадків вона була досить ніжною і нагадувала бласти, в інших – достатньо грубою. Наявність ядерців в ядрах клітин не залежала від вищевказаних морфологічних ознак (Рис. 6.2.1).

У цитоплазмі клітин виявлялася слабка дифузна пляма при виявленні активності КФ і КНЕ.

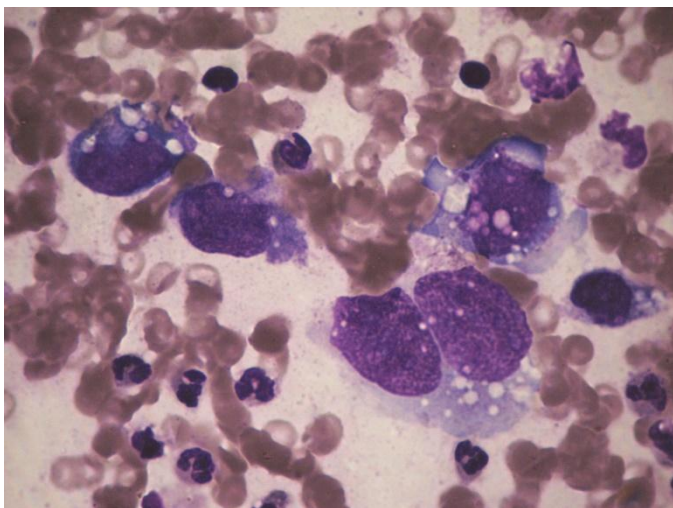


Рис. 6.2.1. Морфологія клітин кісткового мозку при ДВБКЛ, $\times 1000$.

За результатами імунофенотипування трансформованих клітин в кістковому мозку всіх хворих на ДВБКЛ розділили на групи (Табл. 6.2.1, Рис. 6.2.2, Рис. 6.2.3):

- 1 група (12 хворих) - $CD20^{+}$, $CD22^{+}$, $CD19^{+}$, $CD5^{-}$, $CD10^{-}$, $CD30^{-}$, $CD38^{-}$;
- 2 група (9 хворих) - $CD20^{+}$, $CD22^{+}$, $CD19^{+}$, $CD5^{+}$, $CD10^{-}$, $CD30^{-}$, Циклін D1 $^{-}$;
- 3 група (5 хворих) - $CD20^{+}$, $CD22^{+}$, $CD19^{+}$, $CD5^{+}$, $CD10^{+}$, $CD30^{-}$, Циклін D1 $^{-}$;
- 4 група (5 хворих) - $CD20^{-}$, $CD22^{+}$, $CD19^{+}$, $CD5^{-}$, $CD10^{-}$, $CD30^{-}$, $CD38^{+}$.

Таблиця 6.2.1

Спектр експресії антигенів на поверхневих мембранах субстратних клітин у пацієнтів з діагнозом ДВБКЛ

Антигени	1 група (12 хворих)	2 група (9 хворих)	3 група (7 хворих)	4 група (7 хворих)
CD20	9,6-78,4* 85,6±1,3 **	90,1-79,6 84,1±1,3	90,6-79,6 85,1±1,7	9,8-3,5 6,2±1,0
CD22	92,8-79,6 85,5±1,5	91,6-9-79,2 84,6±1,5	91,6-79,8 85,9±1,7	91,6-79,6 85,9±1,7
CD19	91,6-78,2 85,7±1,4	90,5-78,4 84,5±1,5	90,5-78,5-4 84,3±1,6	90,0-78,4 84,3±1,6
CD5	8,4-1,9 4,4±0,6	91,8-82,5 87,7±1,2	90,2-82,5 86,5±1,2	9,8-2,6 6,5±1,2
CD10	6,5-1,8 4,2±0,6	5,2-1,9 3,9±0,6	92,7-82,6 88,6±1,5	9,6-3,8 6,7±1,0
CD30	9,8-1,8 5,1±0,6	5,4-1,6 4,5±0,7	9,8-3,8 6,7±1,0	9,8-2,3 5,5±1,3
CD38	9,0-1,5 5,4±0,7	-	-	92,5-87,9 90,0±0,8
Циклін D1	-	6,2-1,8 4,2±0,6	9,3-3,8 5,5±0,6	-

Примітка: * max-min % субстратних клітин, що експресували антиген;

** середній % субстратних клітин, що експресували антиген

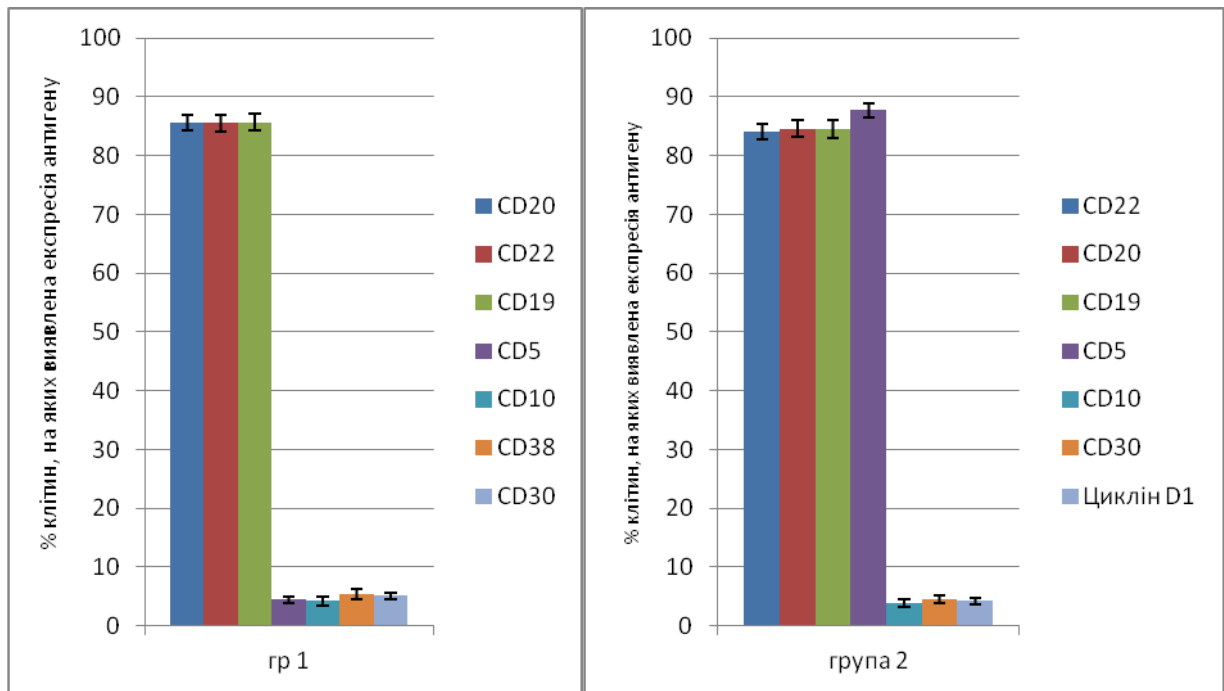


Рис. 6.2.2. Експресія антигенів CD19, CD20, CD22, CD5, CD10, CD30, CD38, цикліна D1 на субстратних клітинах 1 та 2 групи пацієнтів з діагнозом ДВБКЛ

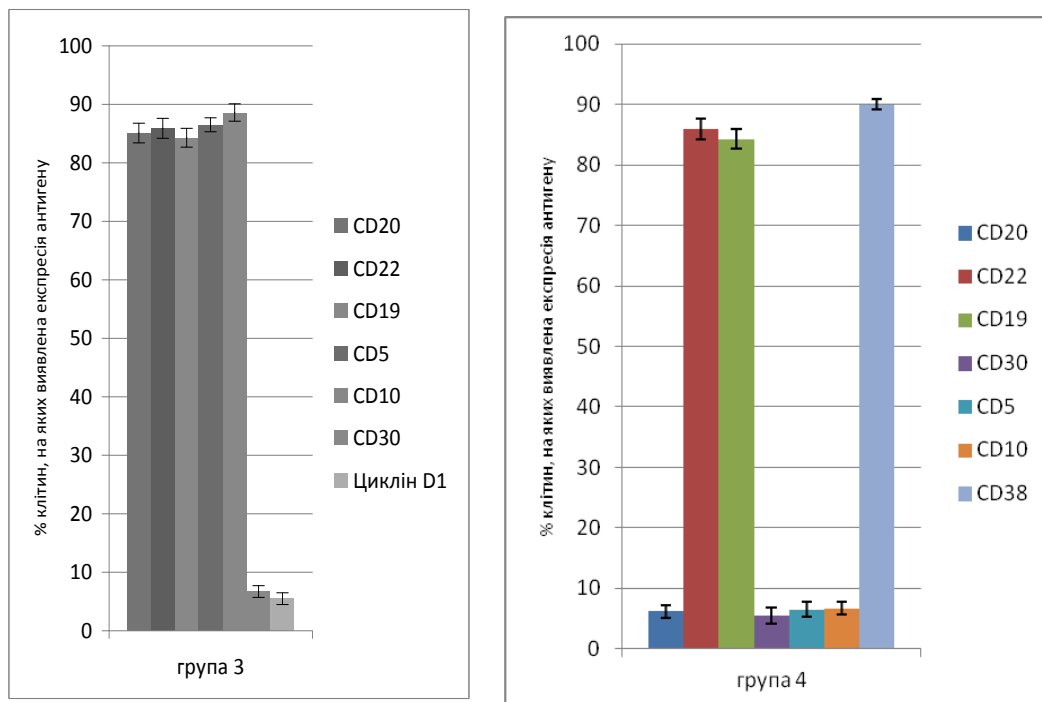
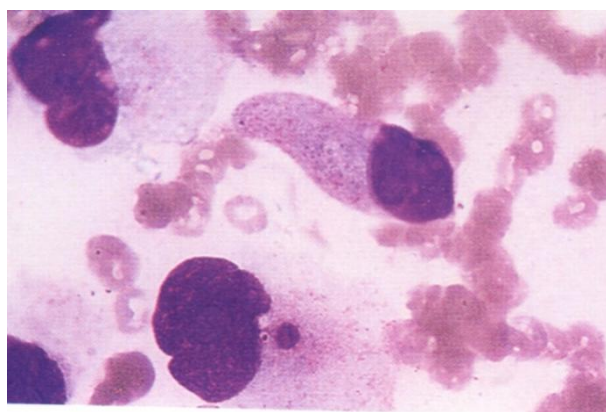


Рис. 6.2.3. Експресія антигенів CD19, CD20, CD22, CD5, CD10, CD30, CD38, цикліна D1 на субстратних клітинах 3 та 4 групи пацієнтів з діагнозом ДВБКЛ

В нашій роботі ми дослідили окремі чотири випадки (пацієнти які були скеровані на дослідження з підозрою на ДВБКЛ) з певними

складнощами в встановленні діагнозу. Саме висвітлення таких випадків в подальшому може значно спростити діагностику для лікарів.

Приклад 1. Хворий К. 68 років. Попередній діагноз ДВБКЛ. У периферичній крові хворого кількість лейкоцитів становила $3,2 \times 10^9/\text{л}$, лімфоцити - 52%. Клітинність кісткового мозку була знижена. Лімфоцити складають до 40%. Оглядово по мазку кісткового мозку виявлені крупні клітини з обширною цитоплазмою, крупним ядром, розміщеним дещо ексцентрично. При визначенні активності КФ в субстратних клітинах спостерігалась слабка дифузна реакція. Реакція при визначенні КНЕ була негативною. Результати імунофенотипування крупних клітин - $\text{CD}20^-$, $\text{CD}22^-$, $\text{CD}19^-$, $\text{CD}5^-$, $\text{CD}3^-$, $\text{CD}7^-$, $\text{CD}56^-$, $\text{CD}30^-$, ALK^- не дали змогу підтвердити наявність елементів В-клітинної лімфоми. Фенотип лімфоцитів кісткового мозку $\text{CD}3^+$, $\text{CD}8^+$ розцінили як реактивний. Імуноцитохімічним методом LSAB-AP в мазках кісткового мозку на злоякісно трансформованих клітинах виявили експресію цитокератину (ЦК) – білка характерного для епітеліальних клітин. Отже, за результатами досліджень запідозрили наявність метастазів анонімної злоякісної пухлини епітеліальної природи (Рис. 6.2.4).



а



б

Рис. 6.2.4. Морфологія клітини кісткового мозку при метастазах раку, встановлена при проведенні диференційної діагностики з ДВБКЛ (а), експресія панцитокератину (б), $\times 1000$.

Приклад 2. Хворий С. 45 років. Попередній діагноз ДВБКЛ. В крові лейкоцити – $5,3 \times 10^9/\text{л}$, в лейкограмі лімфоцити – 28%. В мазках кісткового мозку виявлено 30% клітин середнього і дещо крупнішого розміру. Клітини з помірно широкою базофільною цитоплазмою. Ядра клітин округлі, хроматин досить грубий, в цитоплазмі вакуолі, визначається також 35% малих лімфоцитів. Реакції на КФ та КНЕ в субстратних клітинах – негативні. Фенотип субстратних клітин: CD19^+ , CD20^+ , CD22^+ , CD10^+ , CD5^- , CD34^- , CD30^- .

Результати наших досліджень не дозволили однозначно визначитись стосовно характеру патологічного процесу. Проте ретельний перегляд мазків кісткового мозку дозволив виявити збільшену кількість макрофагів. Крім того, частина лімфоцитів була в стані апоптозу. Відомо, що при лімфомі Беркітта спорадичного типу виявлені мутації гена *MYC*, що в ряді взаємодій призводить до активації стану апоптозу в клітинах. У мазку також знайдені три клітини в стані мітозу. Всі вищеприведені особливості препарату кісткового мозку дали нам змогу вважати їх непрямыми ознаками лімфоми Беркітта, що в подальшому було підтверджено при цитогенетичному дослідженні (Рис. 6.2.5).

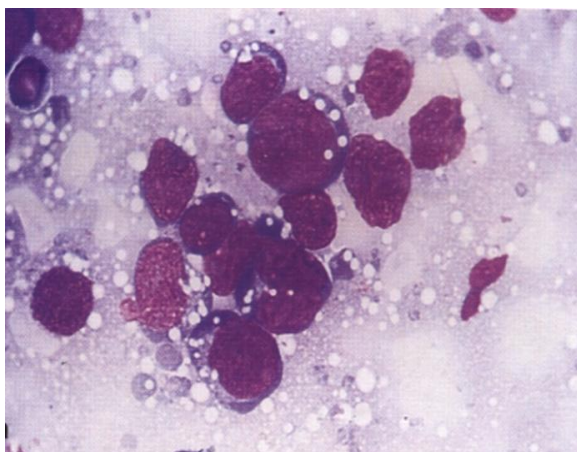


Рис. 6.2.5. Морфологія клітини кісткового мозку при лімфомі Беркітта, $\times 1000$.

Приклад 3. Хворий А. 73 роки. Направлений в онкологічне відділення з підозрою на ДВБКЛ. В крові лейкоцити – $4,3 \times 10^9/\text{л}$, лімфоцити – 40%. В кістковому мозку клітинність дещо знижена, виявлено 30% малих лімфоцитів. На цьому фоні виявлено 8% крупних одноядерних клітин. Структура хроматину ядер – груба, у деяких ядрах – 1-2 ядерця. Цитоплазма широка з деякою базофілією і вакуолями. Реакція на КФ і КНЕ у вигляді слабого дифузного забарвлення.

Результати імунофенотипування (метод LSAB-AP безпосередньо на мазках) показали, що на поверхневих мембранах 60% клітин виявлявся антиген CD20, на 1/3 експресувався CD79a, на одній клітині було виявлено експресію антигену CD30. Лімфоцити кісткового мозку виявились переважно Т-клітинами CD3^+ , CD4^+ , що не зовсім характерно для ДВБКЛ. Рутинне дослідження мазків кісткового мозку виявило збільшену кількість еозинофілів (12%) і 5% плазматичних клітин невеликого розміру.

Враховуючи все вище зазначене, ми запропонували лікарям продовжити дообстеження хворого і виключити лімфому Ходжкіна (Рис. 6.2.6). У подальшому наше припущення було підтверджене результатами гістологічного дослідження.

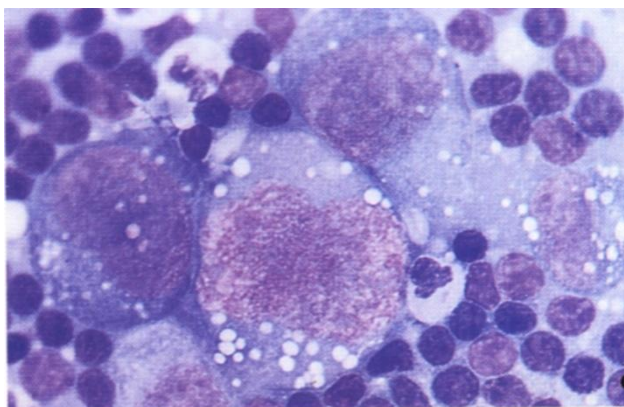


Рис. 6.2.6. Морфологія клітини кісткового мозку при лімфомі Ходжкіна, $\times 1000$.

Приклад 4. Хвора Н. 58 років. Попередній діагноз ДВБКЛ. В периферичній крові лейкоцити – $2,2 \times 10^9/\text{л}$, лімфоцити – 26%. В кістковому

мозку клітинність помірна. Виявлено 26% крупних бластоподібних клітин з широкою, блакитною цитоплазмою, ядро округле або дещо овальне, структура хроматину рихла, візуалізується ледь помітне ядерце. Реакція на КФ – слабка дифузна, на КНЕ – негативна. За результатами імунофенотипування субстратні клітини мали наступний імунофенотип: CD20⁻, CD22⁺, CD19⁺, CD5⁻, CD10⁻, CD34⁻, циклін D1^{+/-}.

Морфологічні і цитохімічні ознаки субстратних клітин могли відповідати як лімфомі з клітин мантийної зони (бластоїдний варіант), так і ДВБКЛ (центробластний варіант). Наявність експресії циклін D1 завжди однозначно була пріоритетом лімфоми мантийної зони. Проте нас насторожувала відсутність експресії антигену CD20. З анамнезу також було відомо, що пацієнтка хворіла майже півроку. Ми припустили, що за наявності бластоїдної лімфоми з клітин мантийної зони, її висока агресивність призвела б до значного підвищення кількості лейкоцитів, виявлення субстратних клітин в значній кількості в периферичній крові та кістковому мозку. Було запропоновано провести цитогенетичне та молекулярно-генетичне дослідження. У подальшому з'ясувалось, що і ці дослідження однозначно не встановили варіант лімфоми.

Підсумок

ДВБКЛ складає більше 30% всіх В-клітинних неходжкінських лімфом. Залучення в патологічний процес кісткового мозку спостерігається не більше ніж у 27% випадків. У 20% хворих злоякісно трансформовані лімфоїдні клітини виявлялися в периферичній крові. Результати наших досліджень свідчать про те, що при встановленні діагнозу ДВБКЛ цитоморфологічне, цитохімічне та імунофенотипове дослідження патологічних клітин кісткового мозку та периферичної крові є дуже важливим, для підтвердження процесу лейкемізації чи при проведенні диференційної діагностики. В нашій роботі ми дослідили окремі чотири випадки (пацієнти які були скеровані на

дослідження з підозрою на ДВБКЛ) з певними складнощами в встановленні діагнозу. Саме висвітлення таких випадків в подальшому може значно спростити діагностику для лікарів.

За результатами цитоморфологічного, цитохімічного та імунофенотипового дослідження встановлено, що диференційний діагноз ДВБКЛ необхідно проводити із: метастазами злоякісних анонімних пухлин в кістковому мозку, лімфомою Ходжкіна, лімфомою Беркїтта спорадичного типу, бластоїдним варіантом лімфоми з клітин мантїйної зони. Комплексне дослідження периферичної крові та кісткового мозку хворих з підозрою на ДВБКЛ є вкрай необхідним, оскільки воно є важливим допоміжним засобом, а в окремих випадках основним методом дослідження. Результати досліджень, описані в підрозділах 5.1-5.3, опубліковані у [25, 78, 95, 101,129, 130, 131].

РОЗДІЛ 7

УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Пухлини, що виникають з клітин лімфоїдної тканини, складають досить гетерогенну групу. З урахуванням клініко-патологічних проявів розрізняють новоутворення з переважним ураженням лімфатичних вузлів різної локалізації, первинно екстранодальні і дисиміновані або лейкемічні. НХЛ діагностуються на основі гістологічного та імуногістохімічного вивчення біоптатів лімфатичних вузлів або екстранодальних вогнищ ураження [25].

Раніше широко застосовувалася класифікація ВООЗ 2008 р., що ґрунтувалася на принципах морфоімунологічних зіставлень, відповідно до яких лімфоми поділялися на пухлини з клітин-попередників і новоутворення з периферичних (зрілих) імунокомпетентних клітин [21-22].

У новій класифікації ВООЗ (перегляд 2017 р.) наведені діагностичні критерії для виділення окремих нозологічних форм В-клітинних новоутворень лімфоїдної тканини, що складають більш як 90% всіх НХЛ з урахуванням молекулярно-генетичних ознак трансформованих клітин і принципів індивідуалізованої таргетної терапії [23, 111]. Найбільш поширеними нозологічними формами В-НХЛ у дорослих є дифузна ДВВКЛ та ФЛ, на частку яких припадає близько 50% всіх лімфоїдних пухлин [35].

Незважаючи на той факт, що злоякісні лімфоми є однією з найбільш досліджуваних областей онкогематології, залишаються значні прогалини в опублікованих даних, відсутні відповіді на питання, які мають важливе значення для пацієнтів і медичних працівників [3].

Однією з найактуальніших проблем сьогодення залишається проблема лікування хворих на лімфоми. Багато в чому тривалість життя хворих на лімфоми залежить від первинної локалізації, морфологічного варіанту пухлини, поширеності процесу, інших факторів прогнозу. В середньому 5-

річна виживаність хворих на В-НХЛ складає 50 – 60 % (від 80 % – при пухлинах низького ступеня злоякісності до 30 % – при новоутвореннях високого ступеня злоякісності) [3]. Саме зі складністю проведення ранньої диференційної діагностики та адекватної протокольної терапії в більшості випадків пов'язані високі показники смертності.

В момент встановлення діагнозу чи при прогресії захворювання в певної групи хворих на В-НХЛ виявляють ознаки ураження кісткового мозку та наявність патологічних клітин, які циркулюють в периферичній крові. Важливо наголосити, що саме цитоморфологічне, цитохімічне та імунофенотипове дослідження лімфоїдних клітин крові та кісткового мозку сприяє установленню діагнозу у випадках неможливості проведення біопсії лімфатичного вузла або отримання матеріалу із екстранодальних осередків ураження, при виявленні залишкової хвороби та рецидиві захворювання.

В нашій роботі ми підкреслюємо важливість саме комплексного та поетапного підходу до діагностики лімфом. При первинному перегляді мазків периферичної крові та кісткового мозку (у відповідності до дослідження біопсіного матеріалу) відразу необхідно визначити, чи можуть зміни, що ми спостерігаємо, бути пов'язаними з непластичним процесом. В частині випадків зміни можуть бути реактивними, що свідчить про наявність певних специфічних змін в організмі (запальні процеси, та інші), які не відносяться до онкологічних. Морфологічне дослідження дає чітке розуміння подальшої стратегії. Інколи діагноз може бути встановлено з великим, але не абсолютним, ступенем достовірності на основі базового морфологічного дослідження, але в більшості випадків для уточнення діагнозу необхідно провести цитохімічне дослідження, імунофенотипування та/або цитогенетичне дослідження [3].

Протягом останніх 25 років було опубліковано велику кількість статей про користь і роль цитопатологічного дослідження в діагностиці лімфом, але без урахування результатів імунофенотипування картина залишається неповною [96, 104, 105, 106-108].

Зазначене вище стало підґрунтям для проведення даної дисертаційної роботи, мета якої полягала у виконанні комплексного дослідження характеристик патологічних клітин в периферичній крові та кістковому мозку при деяких формах В-клітинних неходжкінських лімфомах в початковій стадії лейкемізації; визначенні лабораторних діагностичних критеріїв та розробки алгоритмів лабораторної діагностики фази лейкемізації лімфом.

Для досягнення мети було поставлено ряд задач, вирішення яких здійснювалось з використанням морфологічних, цитохімічних, імуноцитохімічних, а також статистичних методів дослідження. Основні завдання ми окреслили, як визначення цитоморфологічних та цитохімічних особливостей лімфоїдних клітин при різних формах В-клітинних лімфопроліферативних захворювань та дослідження спектру маркерів поверхневих мембран пухлинних клітин при різноманітних новоутвореннях, які виникають із зрілих В-лімфоцитів на різних стадіях антигензалежного диференціювання. Були сформовані чотири групи хворих, до яких увійшли пацієнти з нозологічними формами, які мають найбільш подібні клініко-патологічні прояви та морфологічну картину. Саме тому проведення в таких випадках диференційної діагностики на основі імуноцитохімічного дослідження є вкрай складним та важливим процесом.

ХЛЛ/ЛМЛ. В класифікації ВООЗ 2017 року пухлин лімфоїдної та кровотворної тканин ХЛЛ об'єднаний з ЛМЛ та розглядається як єдина нозологічна форма ХЛЛ/ЛМЛ [21-23, 111]. Основою для об'єднання даних патологій слугували подібність їх гістопатологічних особливостей, цитоморфологічних ознак, імунофенотипу, результатів молекулярно-генетичного дослідження. Однак, існує ряд наукових робіт, автори яких вважають, що ХЛЛ та ЛМЛ це різні захворювання [112, 113].

Провівши дослідження, ми встановили, що за морфологічними ознаками субстратні клітини у хворих на ХЛЛ/ЛМЛ нагадували малі лімфоцити. Хроматин ядер - щільний та глибчатий, цитоплазма слабо або помірно базофільна, інколи містила вакуолі. В частині випадків визначалися

більш крупні клітини з ознаками пролімфоцитів. За цитохімічними ознаками лімфоїдні клітини також були поліморфними. Активність КФ в цитоплазмі коливалась від слабкої дрібногранулярної, спостерігалась в невеликій частині клітин і була більш яскравою в 60-70% лімфоцитів. В 1-2% випадків зберігалась у вигляді слабого забарвлення, в невеликій частині клітин при додаванні специфічного інгібітора КФ – іонів тартрату (при ЛМЛ реакція повністю інгібувалась). Був встановлений наступний імунофенотип лімфоцитів: $CD20^+$, $CD19^+$, $CD5^+$, $CD23^+$. У частини хворих визначалась негативна реакція при виявленні експресія антигенів $CD23$ або $CD5$. В таких випадках проводилась диференційна діагностика з ЛКМ та ФЛ ($CD5^+$, $CD23^+$). Надійним маркером для ідентифікації останньої слугувала експресія антигена $CD10$.

За результатами наших досліджень при встановленні діагнозу ХЛЛ важливими діагностичними критеріями була дифузна інфільтрація субстратними клітинами кісткового мозку ($> 30\%$) та абсолютний лімфоцитоз в крові ($>5 \times 10^9/\text{л}$). Діагноз ЛМЛ міг бути встановлений у випадках коли гістоморфологічні та імунофенотипові характеристика була подібна до ХЛЛ, але не спостерігалась інфільтрація кісткового мозку субстратними лімфоїдними клітинами (від 15 до 30%) та абсолютний лімфоцитоз в периферичній крові становив менше $5 \times 10^9/\text{л}$ [25, 78, 82, 84, 91, 92, 95, 129].

МВЛ. В останні роки актуальним є вивчення так званого МВЛ [114-120]. Дана патологія може відігравати роль відправної точки у розвитку інших онкогематологічних захворювань, або ж бути процесом, який протікає безсимптомно. В класифікації ВООЗ 2017 р. МВЛ представлений у вигляді окремої нозологічної форми. МВЛ може також виявлятися у 12% здорових людей різного віку [109]. В даний час відомо, що МВЛ дуже часто передуює розвитку ХЛЛ. У новій класифікації ВООЗ (2017 р.) наголошується на необхідності проведення диференційної діагностики МВЛ з кількістю моноклонових В-лімфоцитів $<0,5 \times 10^9/\text{л}$ від МВЛ з високим вмістом подібних

клітин. Відповідно до нової класифікаційної схеми розпізнається і непов'язаний з ХЛЛ тип МВЛ, який в деяких випадках тісно пов'язаний з лімфою маргінальної зони селезінки [110, 75]. Пацієнти з МВЛ мають подібні до ХЛЛ і ЛМЛ цитоморфологічні, цитохімічні та імунофенотипові характеристики лімфоїдних клітин але відмінні клініко-гематологічні особливості. При даному процесі не виявляється ураження лімфатичних вузлів, селезінки та печінки. Чи є дана патологія основою для розвитку інших В-клітинних лімфопроліферативних захворювань, поки що сказати вкрай важко. Існує ряд наукових робіт, результати яких доводять, що при наявності та прогресуванні такої патології як В-великоклітинна лімфома в кістковому мозку виявляється клональна проліферація клітин з імунофенотипом В-ХЛЛ [77], але клінічна картина, кількість лейкоцитів та абсолютний лімфоцитоз не вкладаються в характерні критерії В-ХЛЛ. Таким пацієнтам ставлять діагноз В-великоклітинна лімфома (певного типу) з додатковою клональною проліферацією субпопуляції атипичних МВЛ клітин.

Провівши дослідження ми встановили, що дана патологія може бути діагностована при умові відсутності інфільтрації кісткового мозку субстратними клітинами (<15%) та абсолютного лімфоцитозу в периферичній крові ($<5 \times 10^9/\text{л.}$). За морфологічними ознаками субстратні клітини нагадували малі лімфоцити. Хроматин ядер щільний та глибокий, цитоплазма слабо або помірно базофільна, інколи містила вакуолі. Цитохімічні ознаки клітин були подібні до тих, які були властиві лімфомі з малих лімфоцитів. Реакція на КФ коливалась від слабкої до помірно дифузної, в частині клітин (60-70%) була більш яскравішою. Реакція повністю інгібувалась при додаванні в інкубаційне середовище іонів тартрату [25, 78-79, 80-81, 83, 85, 88, 90-92, 129].

За результатами дослідження кісткового мозку ми розділили всіх пацієнтів на групи. До першої увійшли хворі, у яких в кістковому мозку кількість лімфоцитів була в межах нормальних показників, але кількість В-клітин значно підвищена. За результатами імунофенотипування картина

схожа на ХЛЛ з виявленням одного з типів легких ланцюгів імуноглобулінів (κ або λ). В пацієнтів другої групи ми спостерігали диспластичні зміни в гранулоцитарному, еритроїдному та мегакаріоцитарному рядах, що деякою мірою нагадувало мієлодиспластичний синдром (рефрактерну анемію). Двох наступних пацієнтів ми розглянули як окремі випадки. У пацієнта К. в мазках крові, окрім лімфоцитів, кількість яких була в межах норми, було виявлено 56% бластоподібних клітин середнього розміру. В кістковому мозку ці клітини складали 60%, лімфоцити – 12%. Реакція на пероксидазу була слабкою в 5-10% бластоподібних клітин, реакція на КФ була негативною, на КНЕ – дрібногранулярна. За результатами імунофенотипування лімфоцити мали подібний до ХЛЛ фенотип, а на поверхневих мембранах бластів спостерігалась експресія антигенів $CD13^+$, $CD117^{+/+}$. При аналізі отриманих результатів ми розцінили їх як ГМЛ, що розвинувся на фоні змін, характерних для МДС. У пацієнта Х. спектр експресованих антигенів на поверхневих мембранах лімфоцитів відповідав ХЛЛ, їх кількість в кістковому мозку становили 70%. Також було виявлено 17% бластних клітин з фенотипом мієлоїдних: $CD117^+$, $CD33^{+/-}$. Все це спостерігалось на фоні нечисленних клітин гранулоцитарного, еритроїдного і мегакаріоцитарного ряду з вираженими диспластичними змінами. В результаті був встановлений діагноз — мієлодиспластичний синдром з надлишком бластів 2-типу (МДС, РАНБ-2) на фоні МВЛ.

ЛЧПС і ВКЛ-В. В класифікації (ВООЗ 2017 р.) пухлин лімфоїдної та кровотворної тканин в якості окремої нозологічної форми виділяють В-клітинну лімфому/лейкоз селезінки некласифіковану, до якої входять дві підгрупи ЛЧПС та ВКЛ-В [23, 111]. Ці форми лімфоїдних пухлин характеризуються наявністю в периферичній крові та кістковому мозку популяції клітин з характерними виростами в цитоплазмі, які мають ряд подібних ознак, як між собою так і з клітинами, що виявляються при деяких інших патологічних процесах [121-123]. За результатами проведеного нами дослідження встановлено, що субстратні лімфоїдні клітини у хворих на

ЛМЗС, ВКЛ, ЛЧПС, та ВКЛ-В мають між собою суттєві відмінності [25, 78, 87, 91, 93-95, 101, 129, 131].

Ми встановили, що у хворих з діагнозом ЛМСЗ значно збільшені розміри селезінки, які в частині випадків поєднувалися з наявністю ознак аутоімунної тромбоцитопенії та анемії. Кількість лейкоцитів, в більшій частині випадків у цих хворих була в межах нормальних показників. За цитоморфологічними ознаками субстратними клітинами є малі лімфоцити. Ядра клітин овальної або округлої форми з дрібногранулярною структурою хроматину. Цитоплазма світла, з помірною базофілією. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення в субстратних лімфоїдних клітинах значно більше в порівнянні з клітинами при ВКЛ та ВКЛ-В. В частині лімфоцитів спостерігалися невеликі вирости в цитоплазмі. В клітинах лімфоми активність кислої фосфатази коливалась від слабкої до помірної дрібногранулярної. В поодиноких клітинах реакція була дещо яскравішою. В більшій частині випадків реакція інгібувалась при додаванні інгібіторів – іонів тартрату. Однак, приблизно в 20% випадків в частині клітин (10-15%) слабо виражена реакція зберігалася. Імунофенотип був наступним: CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD11c^{-/+}, CD25^{-/+}, CD103^{-/+}, циклін D1⁻.

ВКЛ. Дослідивши групу хворих з діагнозом ВКЛ ми встановили, що значно збільшена у розмірах селезінка відмічалась в 45% випадків. Кількість лейкоцитів в периферичній крові коливалась від глибокої лейкопенії до високих показників ($20-30 \times 10^9/\text{л}$), субстратні клітини складали 5-10% і більше. Картина мієлограми була неоднозначною. Субстратні клітини ВКЛ середнього або дещо крупнішого розміру, ніж при В-ХЛЛ, цитоплазма світло-блакитна або з ознаками слабкої базофілії, в частині клітин помірно широка з виростами. Цих виростів на клітинах спостерігалась значно більше ніж при ЛМЗС, вони були дещо довші та поліморфніші. Ядро округле або овальне, в частині клітин розташоване ексцентрично. Структура ядерного хроматина рихла. Характер реакції при виявленні активності КФ виражений поліморфний. При додаванні інгібітору (іонів тартрату) реакція зберігалася в

половині субстратних клітин, при цьому, визначались клітини з яскравою реакцією. Імунофенотип клітин був наступним - $CD19^+$, $CD20^+$, $CD22^+$, $CD11c^+$, $CD25^+$, $CD103^+$, циклін $D1^+$.

ЛЧПС. Провівши дослідження ми встановили, що у пацієнтів з діагнозом ЛЧПС на рівні з селезінкою в патологічний процес були залучені синуси кісткового мозку. Характерними рисами ЛЧПС була наявність лейкопенії та тромбоцитопенії. В мазках периферичної крові та кісткового мозку виявлялись округлі клітини невеликого та середнього розміру, ядерний хроматин темний рихлий. Цитоплазма вузька з незначною базофілією. Відростки в цитоплазмі грубіші (ширші та довші), ніж при ЛМЗС та ВКЛ. Реакція при визначенні активності кислої фосфатази дрібно-гранулярна – від слабкої до помірної. В поодиноких клітинах реакція дещо яскравіша. В двох випадках реакція інгібувалась іонами тартрату, в одному випадку слабке забарвлення зберігалось. Імунофенотип клітин мав наступні особливості: $CD19^+$, $CD20^+$, $CD22^+$, $CD11c^{+/-}$, $CD25^-$, $CD103^{-/+}$, циклін $D1^-$.

В-ВКЛ. За результатами проведеної роботи було показано, що у хворих з діагнозом ВКЛ-В були збільшені розміри селезінки, у двох спостерігалось незначне збільшення розмірів лімфатичних вузлів. В усіх хворих кількість лейкоцитів в периферичній крові коливались від 10 до 30×10^9 /л. В трьох пацієнтів відмічалися ознаки анемії та тромбоцитопенії. Кількість моноцитів в периферичній крові, на відміну від класичного ВКЛ, була значно підвищена. В мазках периферичної крові та кісткового мозку виявляли значну кількість лімфоїдних клітин з ворсинчастою цитоплазмою. Субстратні клітини округлі і дещо крупніші за клітини ВКЛ. Мали набагато вище ядерно-цитоплазматичне співвідношення, ніж субстратні клітини хворих на ВКЛ. Ядра клітин округлі, з помітними ядерцями. Структура хроматину конденсована, більш нагадує структуру хроматину в пролімфоцитах, ніж в клітинах пацієнтів з ВКЛ. Цитоплазма вузька з деякою базофілією. Вирости цитоплазми більше нагадують ЛЧПС, ніж ВКЛ. Реакція на КФ дрібно-гранулярна від слабкої до помірної. В трьох хворих реакція при визначенні

активності КФ в частині клітин зберігалась у вигляді слабкого забарвлення при додаванні інгібітора (іонів тартрату) в інкубаційне середовище, в двох інших випадках інгібувалась. Імунофенотип злоякісно трансформованих клітин зафіксовано наступний – CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD11c⁺, CD25^{+/+}, CD103^{+/+}, циклін D1⁺.

Таким чином, нами встановлено, що означені пухлини мають ряд відмінних морфологічних, цитохімічних та імунофенотипових характеристик. Диференційна діагностика та встановлення уточненого діагнозу є критично важливими, враховуючи, що перебіг захворювання і прогноз при цих патологічних процесах є різними, що призводить до змін і в тактиці лікування. ВКЛ-В має більш агресивний характер перебігу, ніж ВКЛ. Зазвичай ВКЛ-В піддається лікуванню з застосуванням МкАт. Для лікування ВКЛ застосовують похідні пуринових нуклеозидів (кладрибін, та ін.), які, при рецидиві захворювання призначають у поєднанні з ретуксимабом. У хворих на ЛЧПС спостерігається більш індолентний характер перебігу у порівнянні з ЛМЗС та більш довгострокове виживання. Медіана виживаності 5-10 років. ЛЧПС характеризується більш сприятливим прогнозом протікання і більшою тривалістю життя, проте вона досить резистентна до стандартних протоколів лікування. На даний час не встановлені цитогенетичні аномалії, які б могли зі 100% достовірністю виступати в ролі надійних маркерів тих чи інших форм В-клітинних пухлин. При ЛМЗС соматичні гіпермутації генів важких ланцюгів імуноглобулінів виявляються у 50% випадків, у 40% хворих визначаються аномалії хромосоми 7q31-32, у 20% пацієнтів транслокація t(11;14), у 13% хворих трисомія 3q. Частина випадків супроводжується мутаціями гена *TP53* при більш агресивному перебігу хвороби. При ЛЧПС в частині випадків виявляється гіпермутація генів варіабельних ділянок тяжких ланцюгів імуноглобулінів, у деяких хворих – транслокації t(9;14)(p13;q32) з залученням генів *PAX5* та *IGH*. У хворих на ВКЛ у 5% випадків виявляються соматичні мутації *VH*-генів. У деяких виявляється трисомія 5 і 7. У хворих

на ВКЛ-В в частині випадків спостерігається делеція гену *TP53*, або цитогенетичні зміни з залученням 14p32 та 8q24.

БВ-ЛКМ. В класифікації (ВООЗ 2017 р.) пухлин лімфоїдної та кровотворної тканин виділяють окрему нозологічну форму – БВ-ЛКМ [23, 111]. Отримані нами результати імунофенотипових та цитоморфологічних характеристик субстратних клітин периферичної крові та кісткового мозку у даної групи хворих повністю узгоджуються з даними доступної літератури, які стосуються результатів імуногістохімічного дослідження біоптатів (БВ-ЛКМ) [126-128]. У відповідності до них, на поверхневих мембранах патологічних клітин при даній рідкісній нозологічній формі неходжкінських лімфом виявляється експресія важких ланцюгів IgM/IgD і зазвичай λ -легких ланцюгів імуноглобулінів.

Визначається позитивна реакція при дослідження антигенів CD5, CD43 та негативна реакція з МкАт до антигенів CD10, CD23, BCL6. В деяких випадках можливий аберантний фенотип при відсутності експресії CD5 та наявності експресії BCL6 та CD10. При проведенні імунофенотипування реакція виявлення BCL2 та цикліну D1 є позитивною в усіх випадках. Останній виявляється навіть при відсутності експресії антигену CD5 [98, 99, 100]. Ці дані, нарівні з цитогенетичними дослідженнями на наявність $t(11;14)$, є вкрай важливими для підтвердження діагнозу БВ-ЛКМ.

У всіх пацієнтів з діагнозом ЛКМ при дослідженні периферичної крові загальна кількість лейкоцитів коливалась від нормальних показників до $80-100 \times 10^9/\text{л}$.

В мазках крові та кісткового мозку ми виявили від 50 до 90% клітин, які за цитоморфологічними ознаками належали до субстратних. Це були лімфоїдні клітини невеликого та середнього розміру, дещо крупніші, ніж нормальні лімфоцити, з округлим або неправильної форми ядром. Цитопlasма клітин була досить широкою та блідою. Хроматин ядер більш дисперсний, ніж в малих лімфоцитах в нормі, ядерця погано візуалізовані, в переважній більшості випадків залишались непомітними. При проведенні

цитохімічних реакцій активність кислої фосфатази та кислої неспецифічної естерази була у вигляді слабкого дифузного профарбовування цитоплазми. Активність КФ інгібувалась повністю при додаванні в інкубаційне середовище інгібіторів іонів тартрату. Імунофенотип в більшості випадків був наступним - CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD5⁺, CD43⁺, CD23⁻ (в 10% випадків CD23^{+/+}), CD11c⁻, CD25⁻, CD103⁻, циклін D1⁺, CD10⁻.

БВ-ЛКМ поділяють на два цитологічні підтипи: лімфобластний і центробластний. Лімфобластний підтип лімфоми представлений клітинами середнього розміру з дрібнозернистою структурою хроматину та вузькою цитоплазмою. В частині випадків в ядрах виявляються невеликі ледь помітні ядерця, в 15% випадків в ядрах ядерця добре візуалізуються. При центробластному підтипі БВ-ЛКМ клітини значно крупніші, цитоплазма помірна, іноді з ознаками базофілії, ядра круглі або з дещо нерівними краями. Хроматин ядер рихлий, інколи в ядрі слабо візуалізуються ядерця.

Хворих на лімфобластний підтип БВ-ЛКМ лікарі найчастіше скеровували на дослідження як лімфобластну лімфому або ГЛЛ. При центробластному підтипі процес розцінюється як монобластний варіант ГМЛ [124, 125].

Провівши дослідження, ми встановили, що у пацієнтів з діагнозом БВ-ЛКМ в периферичній крові спостерігався лейкоцитоз, в мазках крові та кісткового мозку ми виявили від 50 до 90% клітин з ознаками бластів. За цитоморфологічними характеристиками у окремих хворих вони нагадували лімфобласти, в інших випадках – бласти мієлоїдного походження. При цитохімічному вивченні субстратних клітин, крупнішого чи середнього розміру, визначалась негативна реакція на МПО. Реакція на КФ коливалась від негативної до слабкої дифузної. Також ми виявили слабку дифузногранулярну реакцію на КНЕ.

При проведенні імунофенотипування клітин крові та кісткового мозку хворих нами використовувались МкАт до лінійно-специфічних та диференційних антигенів різних типів лімфоїдних клітин та кровотворних

клітин мієлоїдного походження, умовно поділені на маркери трьох ліній: 1 - CD19, CD13, CD33, CD3, CD117, CD10, CD7; 2 - CD3, CD79a, CD61, CD41, CD36, GLA, cyCD79a; 3 - CD20, CD5, циклін D1, а також МкАт для виявлення легких ланцюгів імуноглобулінів, локалізованих в цитоплазмі клітин (сум), або на поверхневих мембранах (sμ, sλ, sκ). Імунофенотип був наступним - CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD5⁺, CD43⁺, CD23⁻, CD11c⁻, CD25⁻, CD103⁻, циклін D1⁺, CD10⁻; CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD5⁻, CD43⁺, CD23⁻, CD11c⁻, CD25⁻, CD103⁻, циклін D1⁺, CD10⁺. В частині випадків, коли попередній діагноз був ГЛ, ми використовували поетапну постановку панелей МкАт. Імунофенотип субстратних клітин був наступним - CD19⁻, CD13⁻, CD33⁻, CD3⁻, CD117⁻, CD10⁻, CD7⁻, CD3⁻, CD79a⁻, CD61⁻, CD41⁻, CD36⁻, GLA⁻, cyCD79a⁺, CD20⁺, CD5⁺, цикліну D1⁺, сум⁺, sμ⁺, sλ⁺, sκ⁻; CD19⁻, CD13⁻, CD33⁻, CD3⁻, CD117⁻, CD10⁻, CD7⁻, CD3⁻, CD79a⁻, CD61⁻, CD41⁻, CD36⁻, GLA⁻, cyCD79a⁺, CD20⁺, CD5⁻, цикліну D1⁺, сум⁺, sμ⁺, sλ⁺, sκ⁻ (МПО⁻, КФ⁻, КНЕ⁻); CD19⁻, CD13⁻, CD33⁻, CD3⁻, CD117⁻, CD10⁻, CD7⁻, CD3⁻, CD79a⁻, CD61⁻, CD41⁻, CD36⁻, GLA⁻, cyCD79a⁺, CD20⁺, CD5⁻, цикліну D1⁺, сум⁺, sμ⁺, sλ⁺, sκ⁻ (МПО⁻, КФ - дрібногранулярна, КНЕ - від слабкої до помірної).

Отримані нами дані дозволяють стверджувати, що результати цитоморфологічного, цитохімічного та імунофенотипового дослідження, з використанням панелі спеціально підібраних МкАт, дозволяють ідентифікувати патологічні клітини крові та кісткового мозку при бластоїдному варіанту лімфоми з клітин мантиї в стадії лейкемізації та проводити диференційну діагностику з іншими формами гематологічних новоутворень [24, 25, 78, 86, 88, 89, 91, 97, 101, 129].

ДВВКЛ складає більше 30% всіх В-клітинних неходжкінських лімфом, 40% з них є екстранодальні з первинною локалізацією в легенях, нирках, печінці, кістках, шкірі, ЦНС і т.д. Залучення в патологічний процес кісткового мозку спостерігається не більше ніж, у 27% випадків. У 20% хворих злоякісно трансформовані лімфоїдні клітини виявляються в периферичній крові [21-23, 111].

У пацієнтів з діагнозом ДВБКЛ, згідно з нашими дослідженнями кількість лейкоцитів в крові коливалась від $2,6 \times 10^9/\text{л}$ до $15 \times 10^9/\text{л}$. Лімфоцити становили 18-50%. У кістковому мозку кількість лімфоцитів коливалась від 10 до 40%. В периферичній крові здебільшого виявляли 3-5% злоякісно трансформованих клітин, в кістковому мозку – 8-30%.

Злоякісні трансформовані клітини у хворих на ДВБКЛ за морфологічними ознаками були вкрай поліморфні, і більшість з них це – клітини великого розміру. Проте, поруч з ними в крові та кістковому мозку виявлялися менші за розміром (середні) субстратні клітини. Цитоплазма клітин – блакитного кольору, в деяких випадках базofilна. У ряді випадків в цитоплазмі виявлялись вакуолі. Крупні ядра клітин овальні, або округлі, іноді більш поліморфні з нерівними краями. Ядра розміщені як в центрі клітин, так і ексцентрично. Структура хроматину ядер теж неоднозначна. В частині випадків вона була досить ніжною і нагадувала бласти, в інших була достатньо грубою. У цитоплазмі клітин виявляється слабка дифузна пляма при виявленні активності КФ і КНЕ. Імунофенотип субстратних клітин був наступним - $\text{CD}20^+$, $\text{CD}22^+$, $\text{CD}19^+$, $\text{CD}5^-$, $\text{CD}10^-$, $\text{CD}38^-$, $\text{CD}30^-$; $\text{CD}20^+$, $\text{CD}22^+$, $\text{CD}19^+$, $\text{CD}5^+$, $\text{CD}10^-$, $\text{CD}30^-$, циклін D1⁻; $\text{CD}20^+$, $\text{CD}22^+$, $\text{CD}19^+$, $\text{CD}5^+$, $\text{CD}10^+$, $\text{CD}30^-$, циклін D1⁻; $\text{CD}20^-$, $\text{CD}22^+$, $\text{CD}19^+$, $\text{CD}30^-$, $\text{CD}5^-$, $\text{CD}10^-$, $\text{CD}38^+$ [25, 78, 91, 101, 129, 130].

При проведенні комплексного дослідження зразків матеріалу, отриманих від наших пацієнтів, у 4-х випадках результати були неоднозначними. В першого хворого в периферичній крові хворого кількість лейкоцитів становила $3,2 \times 10^9/\text{л}$, лімфоцитів – 52%. Клітинність кісткового мозку була знижена. Лімфоцити складали до 40%. Оглядово по мазку кісткового мозку виявлені крупні клітини з обширною цитоплазмою, крупним ядром, розміщеним дещо ексцентрично. При визначенні активності кислої фосфатази в субстратних клітинах спостерігалась слабка дифузна реакція. Реакція при визначенні кислої неспецифічної естерази була від'ємною. Результати імунофенотипування крупних клітин не дали змогу

підтвердити наявність елементів В-клітинної лімфоми. Фенотип лімфоцитів розцінили як реактивний. На наступному етапі виявлена еспресія цитокератину (ЦК), що дало підставу запідозрили наявність метастазів анонімної злоякісної пухлини епітеліальної природи.

В другого хворого в крові лейкоцити становили $5,3 \times 10^9/\text{л}$, в лейкограмі лімфоцити – 28%. В мазках кісткового мозку виявлено 30% лімфоїдних клітин середнього і дещо крупнішого розміру. Клітини з помірно широкою базофільною цитоплазмою. Ядра клітин округлі, хроматин досить грубий, в цитоплазмі вакуолі. Визначається також 35% малих лімфоцитів. Реакції на КФ та КНЕ в субстратних клітинах – негативні. Імунофенотип субстратних клітин був наступним – $\text{CD}19^+$, $\text{CD}20^+$, $\text{CD}22^+$, $\text{CD}10^+$, $\text{CD}5^-$, $\text{CD}34^-$, $\text{CD}30^-$. При повторному перегляді мазків звернула на себе увагу збільшена кількість макрофагів, частина лімфоцитів в стані апоптозу та 3% клітин в стані мітозу. Всі вищеприведені особливості дали нам змогу вважати їх непрямыми ознаками лімфоми Беркїтта, що в подальшому і було підтверджено при цитогенетичному дослідженні.

В третього хворого в крові лейкоцити становили $4,3 \times 10^9/\text{л}$, лімфоцити – 40%. В кістковому мозку клітинність дещо знижена, виявлено 30% малих лімфоцитів. На цьому фоні виявлено 8% крупних одноядерних клітин. Структура хроматину ядер –груба, у деяких ядрах 1-2 ядерця. Цитоплазма широка з деякою базофілією і вакуолями. Реакція на КФ та КНЕ у вигляді слабкого дифузного забарвлення. Фенотип субстратних клітин: $\text{CD}79\text{a}^+$, $\text{CD}20^+$, одна клітина експресувала антиген $\text{CD}30$. Відмічена збільшена кількість езинофілів (12%) і наявність 5% плазматичних клітин невеликого розміру. Ми запропонували лікарям продовжити дообстеження хворого і виключити лімфому Ходжкіна. У подальшому наше припущення було підтверджене результатами гістологічного дослідження.

В четвертого хворого в периферичній крові кількість лейкоцитів становила $2,2 \times 10^9/\text{л}$, лімфоцитів – 26%. В кістковому мозку клітинність була помірною. Виявлено 26% крупних бластоподібних клітин з широкою,

блакитною цитоплазмою, ядро округле або дещо овальне, структура хроматину рихла, візуалізується ледь помітне ядерце. Реакція на КФ - слабка дифузна, на КНЕ – негативна. Імунофенотип субстратних клітин був наступним – CD20⁻, CD22⁺, CD19⁺, CD5⁻, CD10⁻, CD34⁻, циклін D1^{+/-}. Результати були дещо неоднозначними, але з анамнезу нам було відомо, що пацієнтка хворіла майже півроку. Ми припустили, що за наявності бластоїдної лімфоми з клітин мантийної зони її висока агресивність призвела б до значного підвищення кількості лейкоцитів, виявлення субстратних клітин в значній кількості в периферичній крові та кістковому мозку. Було запропоновано провести цитогенетичне та молекулярно-генетичне дослідження. У подальшому з'ясувалось, що і результати цих досліджень не дозволили однозначно встановити варіант лімфоми.

За результатами проведених нами досліджень диференційний діагноз ДВКЛ необхідно проводити із: метастазами анонімних злоякісних пухлин в кістковому мозку, лімфомою Ходжкіна, плазмоклітинною лімфомою, лімфомою Беркітта спорадичного типу, бластоїдним варіантом лімфоми з клітин мантийної зони.

ВИСНОВКИ

На сьогоднішній день інформація щодо різних патологій із зрілих В-клітин є достатньо висвітленою у науковій літературі, але нові нозологічні форми В-НХЛ залишаються мало вивченими. Тому, дослідження імуноцитохімічних характеристик субстратних клітин дало б змогу краще зрозуміти особливості даних захворювань та стало б основою для розроблення алгоритмів лабораторної діагностики деяких форм В-клітинних неходжкінських злоякісних лімфом в стадії лейкемізації, а також диференційної діагностики з іншими формами онкогематологічних захворювань.

1. З'ясовано, що важливим діагностичним критерієм В-ХЛЛ є наявність дифузної інфільтрації субстратними клітинами кісткового мозку ($> 30\%$) та абсолютний лімфоцитоз в крові ($> 5 \times 10^9/\text{л.}$). Діагноз ЛМЛ має бути встановлений у випадках, коли цитоморфологічні та імунофенотипові характеристики клітин подібні до ХЛЛ, але не спостерігається інфільтрація кісткового мозку субстратними лімфоїдними клітинами та абсолютний лімфоцитоз в периферичній крові складає $< 5 \times 10^9/\text{л.}$ Для встановлення діагнозу МВЛ необхідним критерієм є відсутність інфільтрації кісткового мозку субстратними клітинами ($< 15\%$) та абсолютний лімфоцитоз в периферичній крові ($< 5 \times 10^9/\text{л.}$). За результатами цитоморфологічного, цитохімічного та імуноцитохімічного дослідження дані форми лімфопроліферативних процесів подібні між собою.

2. ЛМЗС, ВКЛ, ВКЛ-В, ЛЧПС відрізняються від інших форм В-НХЛ наявністю специфічних цитоплазматичних виростів. Найбільш поліморфні вирости в цитоплазмі спостерігають при ЛЧПС. Субстратні клітини ВКЛ-В мають поліморфну реакцію на КФ, яка не інгібується при додаванні інгібіторів іонів тартрату, та наступний імунофенотип: $\text{CD}19^+$, $\text{CD}20^+$, $\text{CD}22^+$, $\text{CD}11c^+$, $\text{CD}25^{-/+}$, $\text{CD}103^{+/-}$, циклін $\text{D}1^-$. Для злоякісно трансформованих клітин хворих на ЛСЧП характерним є імунофенотип $\text{CD}19^+$, $\text{CD}20^+$, $\text{CD}22^+$,

CD11c^{+/+}, CD25⁻, CD103^{-/+}, циклін D1⁻ та відсутність інгібування КФ у більшості випадків.

3. Для диференціації бластоподібних клітин при БВ-ЛКМ та бластів іншого гістогенезу необхідне проведення уточненої цитохімічної та імуноцитохімічної діагностики. Патологічні клітини при БВ-ЛКМ за цитоморфологічними характеристиками подібні до бластів, в яких не виявляється МПО, у більшості випадків КНЕ, КФ, проте у деяких хворих спостерігається дрібногранулярна реакція на КНЕ та КФ, яка повністю інгібується при додаванні іонів тартрату. За результатами імунофенотипування субстратних клітин при БВ-ЛКМ сформовано 2 групи та виділено окремі випадки, які не ввійшли до цих груп. Злоякісно трансформовані клітини хворих на БВ-ЛКМ першої групи мали імунофенотип – CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD5⁺, ЦиклінD⁺, CD23⁻, CD10⁻), другої – CD19⁺, CD20⁺, CD22⁺, CD5⁻, ЦиклінD⁺, CD23⁻, CD10⁺), а окремо виділені випадки – CD19⁻, cyCD79a⁺, CD20⁺, CD5⁺, CD10⁻, sλ⁺, sμ⁺, суμ⁻; – CD19⁻, cyCD79a⁺, CD20⁺, CD5⁻, CD10⁺, sλ⁺, sμ⁺, суμ⁺; – CD19⁻, cyCD79a⁺, CD20⁺, CD5⁻, CD10⁻, sλ⁺, sμ⁺, суμ⁺.

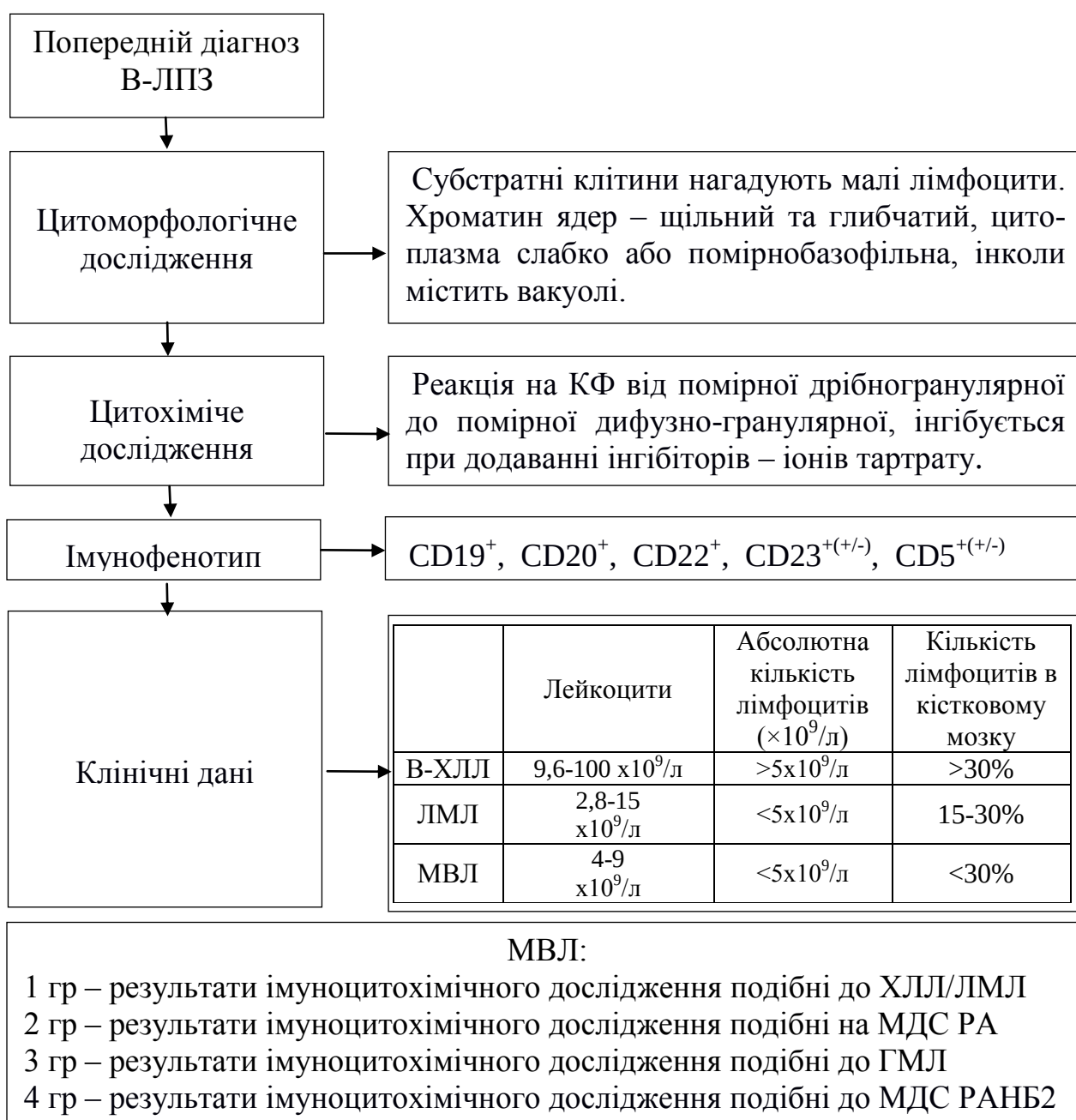
4. Диференційний діагноз ДВБКЛ необхідно проводити із лімфомою Ходжкіна, лімфоплазмочитарною лімфомою, лімфомою Беркїтта спорадичного типу, бластоїдним варіантом лімфоми з клітин мантийної зони та метастазами анонімних злоякісних пухлин епітеліальної походження в кістковий мозок із обов'язковим використанням імуноцитохімічних методів.

5. Визначені критерії та розроблені алгоритми лабораторної діагностики деяких форм В-клітинних неходжкінських злоякісних лімфом в стадії лейкоїзації, шляхом поетапного вивчення цитоморфологічних, цитохімічних та імунофенотипових характеристик субстратних лімфоїдних клітин в периферичній крові та кістковому мозку, які зберігають здатність до рециркуляції, як і їх нормальні аналоги.

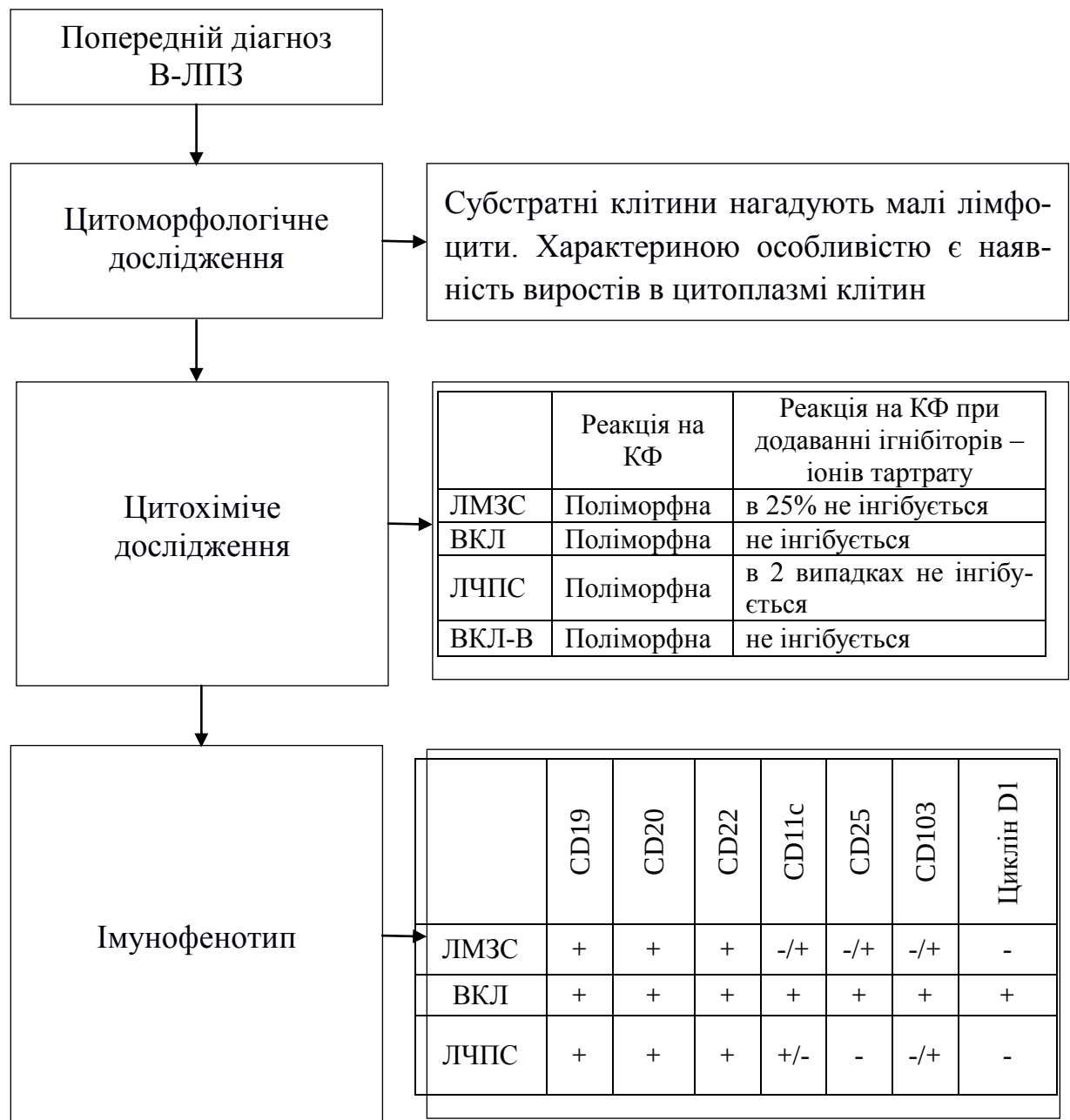
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Розроблені принципи застосування ензимохімічних та імуноцитохімічних методів для проведення уточненої диференційної діагностики деяких форм В-клітинних неходжкінських лімфом в фазі лейкоїзації.

1. Цитоморфологічна та імуноцитохімічна характеристика субстратних лімфоїдних клітин при моноклональному В-клітинному лімфоцитозі, лімфомі з малих лімфоцитів проводиться згідно алгоритму проведення диференційної діагностики даних патологій за наступною схемою:

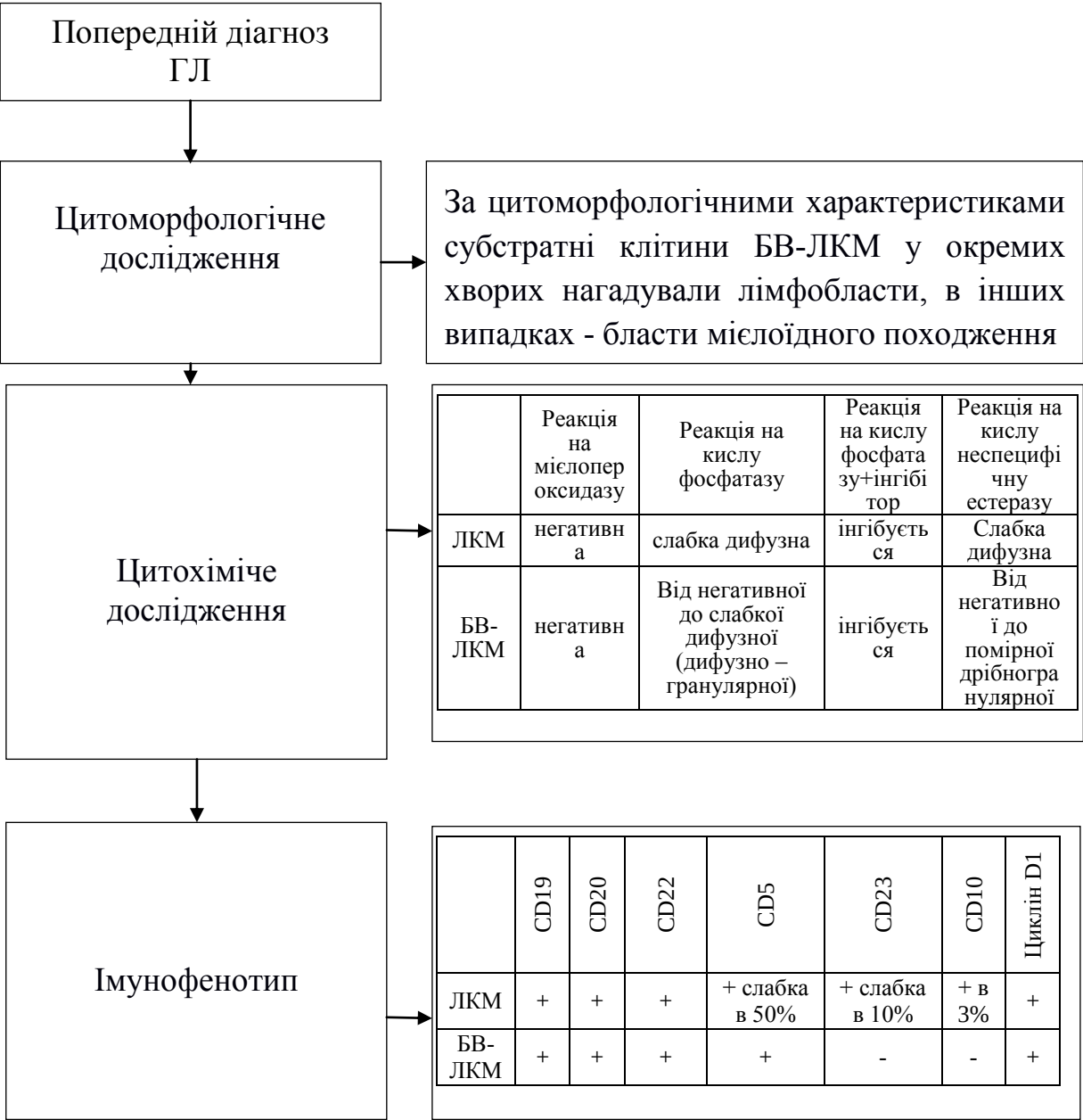


2. Диференційна діагностика лімфоми маргінальної зони селезінки, волосковоклітинного лейкозу та В-клітинної лімфоми/лейкозу селезінки некласифікованої проводиться з обов'язковим проведенням цитоморфологічних, цитохімічних та імунофенотипових досліджень з урахуванням характерних ознак клітин патологічного клону, наведених у схемі.



Диференційна діагностика бластоїдного варіанту лімфоми з клітин мантиї в стадії лейкомізації з іншими формами новоутворень кровотворної та

лімфоїдної тканин включає комплекс цитоморфологічних, цитохімічних та імунофенотипових досліджень згідно представленої схеми досліджень.



Результати виконаних досліджень впроваджені в практику онкогематологічних відділень м. Києва та областей України.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. 12 вересня у Національному інституті раку (адміністративний корпус, конференц-зал), адреса: м. Київ, вул. Ломоносова 33/43) відбудеться інформаційний захід до Всесвітнього дня боротьби з лімфоною. Брифінг для ЗМІ об 11.00 [Електронний ресурс] // УНІАН. <https://www.unian.ua/society/10674840-obiznanist-uzhe-ryatuye.html>. (дата звернення: 15.09.2019).
2. Рак в Україні, 2017-2018 захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби [Електронний ресурс] // Бюлетень Національного канцер-реєстру України – 2018. – №20. <http://www.ncru.inf.ua/publications/index.htm> (дата звернення: 13.02.2019).
3. Седаков І.Є., Ліщишина О.М., Крячок І.А., та ін. Діагностика і лікування лімфом у дорослих: практ. посібник Київ: Державний експертний центр МОЗ України, 2016. 395с.
4. Глузман Д.Ф., Сидоренко С.П., Полудненко Л.Ю., Юрченко О.В., Гольдшмид Б.Я. Современные представления о происхождении клеток Березовского-Штернберга при лимфогранулематозе. *Гематол трансфузиол*, 1990; **35**(11): 24.
5. Jaffe E.S., Harris N.L., Stein H., Issacson P.G. Classification of lymphoid neoplasms: the microscope as a tool for disease discovery. *Blood*, 2008; **112**: 4384-99.
6. Gall E.A., Mallory T.B. Malignant lymphoma: a clinico-pathologic survey of 618 cases. *Am J Pathol*, 1942; **18**: 381-429.
7. Lennert K., Mohri H., Stein H., Kaiserling E. Histopathology of malignant lymphoma. *Br J Haematol*, 1975; **31**(Suppl); 193-203.
8. Berard K.V., Jaffe E., Rappaport H. Round grounded historical and pathological classifications. *Cancer Treat Rep*, 1997; **61**: 1037-48.

9. Hicks E.B., Rappaport H., Winter W.J. Follicular lymphoma; reassessment of its position in the malignant lymphoma scheme based on a survey of 253 cases. *Cancer*, 1956; **9**: 792-821
10. Rappaport H. Atlas of tumor pathology. Tumors of the hematopoietic system. Vol. Section III (Series I ed). Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology; 1966. 442p.
11. Nathwani B., Kim H., Rappaport H. Malignant lymphoma, lymphoblast. *Cancer*, 1976; **38**: 964-83.
12. Lukes R.J., Collin R.D. Immunological characteristics of human malignant lymphoma. *Cancer*, 1974; **34**(4 Suppl): 1488-503.
13. Gerard-Marchant R., Hamlin I., Lennert K., et al. Classification of non-Hodgkin's lymphoma. *Lancet*, 1974; **2**: 406-08.
14. Stansfeld A.G., Diebold J., Kapanci Y., Kelényi G., Lennert K., Mioduszevska O., et al. Kiel's classification for lymphoma has been updated. *Lancet*, 1988; **1**: 292-93.
15. Non-Hodgkin's Lymphoma Pathologic Classification Project. National Cancer Institute sponsored study of classifications of non-Hodgkin's lymphomas: summary and description of a Working Formulation for clinical usage. *Cancer*, 1982; **49**: 2112-2135.
16. Lukes R., Collins R. Immunologic characterization of human malignant lymphomas. *Cancer*, 1974; **34**: 1488–1503.
17. Vasef M.A., Lin Y., Dick F., et al. Lymphoma classification. *Lab. Medicine*, 2000; **31**: 679-84.
18. Harris N.L., Jaffe E.S., Diebold J., Flandrin G., Muller-Hermelink H.K., Vardiman J. Lymphoma classification - from controversy to consensus: the R.E.A.L. and WHO Classification of lymphoid neoplasms. *Ann Oncol.* 2000; **11**(Suppl 1): S3-10.
19. Jaffe E.S., Harris N.L., Stein H., Vardiman J.W. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2001. 351p.

20. Harris N.L., Jaffe E.S., Diebold J., et al. World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting - Airlie House, Virginia, November 1997. *J Clin Oncol.* 1999; **17**: 3835–3849.
21. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2008. 439p.
22. Campo E., Swerdlow S.H., Harris N.L., et al. WHO classification of 2008 lymphoid tumors and beyond: developing concepts and practical applications. *Blood.* 2011; **117**: 5019–5032.
23. Swerdlow S.H., Campo E., Pileri S.A., et al. View the 2016 World Health Organization classification of lymphoid tumors. *Blood.* 2016; **127**: 2375–2390.
24. Поліщук А.С., Скляренко Л.М., Іванівська Т.С. Морфологічна та імунофенотипова характеристика лімфоїдних клітин бластоїдного варіанту лімфоми з клітин мантиї. *Онкологія*, 2019; **21** (3): 263.
25. Глузман Д.Ф., Скляренко Л.М., Коваль С.В., Ивановская Т.С., Полищук А.С., и др. Диагностика опухолей кроветворной и лимфоидной тканей (по материалам классификации ВОЗ 2016 г.). Киев: ДИА, 2017. 64с.
26. Глузман Д.Ф., Скляренко Л.М., Надгорная В.А., Коваль С.В., и др. Новая классификация опухолей лимфоидной ткани (ВОЗ, 2008). Киев: ДИА, 2009. 36с.
27. Глузман Д.Ф., Фильченков А.А., Скляренко Л.М., Ивановская Т. С. Дифференцировочные антигены клеток человека. Киев. Лира-К, 2019. -247 с.
28. Mason D., Gatter K. Lymphoma classification. Glostrup: DAKO A/S, 1999. 64p.
29. Ferry J.A., Harris N.L. Atlas of lymphoid hyperplasia and lymphoma. Philadelphia etc: WB Saunders Co, 1997. 273p.

30. Zech L., Haglund U., Nilsson K., Klein G. Characteristic chromosomal abnormalities in biopsies and lymphoid-cell lines from patients with Burkitt and non-Burkitt lymphomas. *Int J Cancer*. 1976; **17**: 47.
31. Skoog L., Tani E. B cell neoplasms. *Monographs in Clinical Cytology*, 2009; **18**: 19–37.
32. Федоренко З.П., Гулак Л.О., Горох Є.Л., та ін. Рак в Україні, 2006-2007. Бюл Націон Канцер-реєстру України Київ: 2008; **9**: 100с.
33. Caraway N.P. Strategies to diagnose lymphoproliferative disorders by fine-needle aspiration by using ancillary studies. *Cancer*, 2005; **105** (6): 432–442.
34. Demurtas A., Accinelli G., Pacchioni D., et al. Utility of flow cytometry immunophenotyping in fine-needle aspirate cytologic diagnosis of non-Hodgkin lymphoma: a series of 252 cases and review of the literature. *Appl Immunohistochem Mol Morphology*, 2010; **18** (4): 311–322.
35. Chan JKC. Tumors of the lymphoreticular system. In: Diagnostic histopathology of tumors, 2nd ed. London etc: Churchill Livingstone, 2000. 1099p.
36. Neoplastic hematopathology. Knowles DM (ed). Baltimore etc: Williams a Wilkins, 1992. 1624p.
37. Mason D.Y., Harris N.L., et al. Human lymphoma: clinical implications of REAL classification. London etc: Springer-Verlag, 1999. 554p.
38. Armitage J.O., Weisenburger D.D. For the non-Hodgkin's lymphoma classification project. New approach to classification non-Hodgkin's lymphoma: clinical features of the major histologic subtypes. *J Clin Oncol*, 1998; **16**: 2780.
39. Barrena S., Almeida J., Garcia-Macias MDC, et al. Flow cytometry immunophenotyping of fine-needle aspiration specimens: utility in the diagnosis and classification of non-hodgkin lymphomas. *Histopathology*, 2011; **58** (6): 906–918.
40. Ковригина А.М. Алгоритмы дифференциальной диагностики лимфом. Сб. алгоритмов и протоколов лечения заболеваний системы крови. Москва: ФГБУ «Гематологический научный центр МЗ России», 2012. 415с.

41. Kolar G.R., Mehta D., Pelayo P.A. Novel human B cell subpopulation representing the initial germinal center population to express AID. *Blood*, 2007; **109**: 2545–2552.
42. Moldenhauer G., Popov S., Wotschke B., et al. AID expression identifies interfollicular large B cells as putative precursors of mature B cell malignancies. *Blood*, 2006; **107**: 2470–2473.
43. Pambuccian S.E., Bardales R.H. *Lymph Node Cytopathology is Essentials in Cytopathology*. New York, NY, USA: Springer, Science, Business Media, 2011. 279p.
44. Bernard A., Boumsell L., Dausset J., et al. Leucocyte Typing. Human Leucocyte Differentiation Antigens Detected by Monoclonal Antibodies. Specification, Classification, Nomenclature. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1984. 814p.
45. Human Cell Differentiation Molecules [homepage on the Internet] // <http://www.HCDM.org> (date of application: 20.10.2019)
46. Фильченков А.А., Глузман Д.Ф., Ивановская Т.С. Новые дифференцировочные антигены нормальных и неопластических кроветворных и лимфоидных клеток (по материалам международных рабочих совещаний HLDA9и HLDA10). *Онкология*, 2019; **21**: 101–12.
47. Reinherz E.L., Haynes B.F., Nadler L.M., Bernstein I.D. Leukocyte Typing II, Vol 1. Human T Lymphocytes. New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer-Verlag, 1986. 552p.
48. Reinherz E.L., Haynes B.F., Nadler L.M., Bernstein I.D. Leukocyte Typing II, Vol 2. Human B Lymphocytes. New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer-Verla, 1986. 562p.
49. Reinherz E.L., Haynes B.F., Nadler L.M., Bernstein I.D. Leukocyte Typing II, Vol 3. Human Myeloid and Hematopoietic Cells. New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer-Verlag, 1986. 368p.

50. McMichael A.J., Beverley PCL, Cobbold S., et al. Leucocyte Typing III: White Cell Differentiation Antigens. Oxford: Oxford University Press, 1987. 1050p.
51. Knapp W., Dörken B., Gilks W.R., et al. Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens. Oxford: Oxford University Press, 1989. 1182p.
52. Schlossman S.F., Boumsell L., Gilks W., et al. Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens, Vol 1. Oxford, New York: Oxford University Press, 1995. 1223p.
53. Schlossman S.F., Boumsell L., Gilks W., et al. Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens, Vol 2. Oxford, New York: Oxford University Press, 1995. 2052p.
54. Kishimoto T., Kikutani H., von dem Born AEGK, et al. Leucocyte Typing VI. New York: Garland Publishing, Inc., 1997. 1342p.
55. Mason D., Simmons D., Buckley C., et al. Leucocyte Typing VII. Oxford: Oxford University Press, 2002. 945p.
56. Zola H., Swart B., Nicholson I., et al. CD molecules 2005: human cell differentiation molecules. *Blood*, 2005; **106**: 3123–6.
57. Cabezón R., Sintès J., Llinàs L., Benitez-Ribas D. Analysis of HLDA9 mAbs on plasmacytoid dendritic cells. *Immunol Lett*, 2011; **134**: 167–73.
58. Matesanz-Isabel J., Sintès J., Llinàs L., et al. New B-cell CD molecules. *Immunol Lett*, 2011; **134**: 104–12.
59. Muccio V.E., Saraci E., Gilestro M., et al. Multiple myeloma: new surface antigens for the characterization of plasma cells in the era of novel agents. *Cytometry B Clin Cytom*, 2016; **90**: 81–90.
60. Clark G., Stockinger H., Balderas R., et al. Nomenclature of CD molecules from the Tenth Human Leucocyte Differentiation Antigen Workshop. *Clin Transl Immunology*, 2016; **5**: e57.
61. Engel P., Boumsell L., Balderas R., et al. CD Nomenclature 2015: Human Leukocyte Differentiation Antigen Workshops as a driving force in immunology. *J Immunol*, 2015; **195**: 4555–63

62. Кост Е.А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. Москва: Медицина, 1975. 383с.
63. Loele W. Eine Dauerfärbung der Oxydasen in myeloidischen Leukocyten in Blutaussstrich. *Dtsch. Med. Wochenschr*, 1936; **62** (38): 2004-2008.
64. Goldberg A.F., Barka T. Acid phosphatase activity in human blood cell. *Nature*, 1962; **195** (4838): 297-298.
65. Mueller J., Brun R.G., Buerki H., et al. Nonspecific acid esterase activity: a criterion for differentiation of T and B lymphocytes in mouse lymph node. *Eur J Immunol*, 1975; **5** (4): 270-274.
66. Клаус Дж. Лимфоциты. Методы. Москва: Мир, 1990. - 392с.
67. Пинчук В.Г., Глузман Д.Ф., Надгорная В.А., и др. Иммуноцитохимия и моноклональные антитела в онкогематологии. Київ: Наукова думка, 1990. 232с.
68. Глузман Д.Ф., Надгорная В.А., Абраменко И.В., и др. Иммунопероксидазный метод определения антигенов поверхностных мембран нормальных и лейкозных клеток с использованием отечественных моноклональных антител. *Эксперим онкология*, 1986; **8** (6) :46-49.
69. Глузман Д.Ф., Склярченко Л.М., Надгорная В.А., Крячок И. А. Иммуноцитохимическая диагностика опухолей кроветворной и лимфоидной тканей у детей. Киев: ДИА, 2005. 187с.
70. Davey F.R., Erber W.N., Gatter K.C., et al. Immunophenotyping of acute myeloid leukemia by immune-alkaline phosphatase (APAAP) labeling with a panel of antibodies. *Amer J Hematol*, 1987; **26**: 157.
71. Хсу С.М. Иммунопероксидазные методы с использованием системы авидин-биотин. В кн: Иммуноферментный анализ. Москва: Мир, 1988. 423с.
72. Мечетнер Е.Б., Глузман Д.Ф., Розина Э.Н., и др. Иммуноферментные цитохимические исследования в онкогематологии. *Гематол трансфузиология*, 1989; **2**: 57-60.

73. Jeffers M.D., Milton J., Herriot R., McKean M. Fine needle aspiration cytology in the investigation of non - Hodgkin's lymphoma. *J Clin Pathol*, 1998; **51** (3): 189–196.
74. Лакин Г.Ф. Биометрия. Москва: Высшая школа, 1980. 290с.
75. Xochelli A., Kalpadakis C., Gardiner A., et al. Clonal B-cell lymphocytosis exhibiting immunophenotypic features consistent with a marginal-zone origin: is this a distinct entity? *Blood*, 2014; **123** (8): 1199-1206.
76. Глузман Д.Ф., Скляренко Л.М., Надгорная В.А. Диагностическая онкогематология. Киев: ДИА 2011. 126с.
77. Anne M. Tierens, Harald Holte, et al. Low levels of monoclonal small B cells in the bone marrow of patients with diffuse large B-cell lymphoma of activated B-cell type but not of germinal center B-cell type. *Haematologica*, 2010; **95**(8): 1334–1341.
78. Глузман Д.Ф., Скляренко Л.М., Коваль С.В., Иванивская Т.С., Завелевич М.П., Украинская Н.И., Полищук А.С., Швыдка М.С., Гуслицер Н.Л. Современные международные классификации опухолей лимфоидной и кроветворной тканей. *Лаб диагностика*, 2016; **4**: 44-49.
79. Гамалія М.Ф., Шишко Є.Д., Штонь І.О., Завелевич М.П., Фільченков О.О., Українська Н.І., Поліщук А.С. Фотодинамічний вплив *ex vivo* на злоякісні лімфоїдні кітини при хронічних лімфопроліферативних захворюваннях *Онкологія*, 2016; **18**(4): 305-310.
80. Матвєєва А.С., Ковалевська Л.М., Полищук А.С., Муштак М., Кашуба О.В. Профіль експресії факторів транскрипції у зразках крові хворих на хронічний лімфолейкоз. *Онкологія*, 2016;**18**(4): 311-315.
81. Глузман Д.Ф., Скляренко Л.М., Коваль С.В., Иванивская Т.С., Родионова Н.К., Завелевич М.П., Украинская Н.И., Полищук А.С., Швыдка М.С. Хронический лимфолейкоз и острые миелоидные лейкозы в структуре онкогематологических заболеваний у населения Украины в постчернобыльский период. *Онкология*, 2017; **19** (1): 33-40.

82. Глузман Д.Ф., Склярєнко Л.М., Іванівська Т.С., Коваль С.В., Українська Н.І., Поліщук А.С., Швидка М.С., Завелевич М.П. Новое в классификации ВОЗ В-клеточных опухолей лимфоидной ткани (пересмотр 2016 г.). *Онкология*, 2017; **19** (1): 80-85.

83. Матвєєва А.С., Ковалєвська Л.М., Поліщук А.С., Кашуба О.В. Сигнальний шлях IL2-STAT5 заблокованого у клітинах хронічного лімфолейкозу. *Онкология*, 2017; **19** (4): 247-253.

84. Глузман Д.Ф., Склярєнко Л.М., Іванівська Т.С., Коваль С.В., Завелевич М.П., Українська Н.І., Поліщук А.С., Швидка М.С. Классификация ВОЗ В-клеточных опухолей лимфоидной ткани (пересмотр 2016 года). *Газета "Здоров'я України"*, 2017; **1**: 70-72.

85. Орловский О.А., Кленов О.О., Бентрад В.В., Гоголь С.В., Залеток С.П., Склярєнко Л.М., Поліщук А.С. Деякі особливості метаболізму і патогенетичних функцій поліамінів у мононуклеарах пацієнтів з хронічним В-лімфоцитарним лейкозом та гострим монобластним лейкозом (M5). *Клінічна Онкология*, 2018; **8** (4): 269-272.

86. Склярєнко Л.М., Поліщук А.С., Іванівська Т.С., та ін. Імунофенотипова характеристика бластоїдного варіанту лімфоми з клітин мантиї. *Онкология*, 2019; **21** (2): 113-116.

87. Polishchuk A.S., Zavelevich M.P., Gluzman D.F. Villous lymphocytes in blood and bone marrow in some forms of B-cell lymphoid malignancies. *Eureka Life Sciences*, 2020; (5): 29-33.

88. Ivanivska T.S., Sklyarenko L.M., Zavelevich M.P., Philchenkov A.A., Koval S.V., Polishchuk A.S., Gluzman D.F. Immunophenotypic features of leukemic stem cells and bulk of blasts in acute myeloid leukemia. *Exp Oncol*, 2019; **41** (3): 207-209.

89. Глузман Д.Ф., Склярєнко Л.М., Іванівська Т.С., Завелевич М.П., Коваль С.В., Поліщук А.С. Спосіб ідентифікаційної діагностики бластоїдного варіанту лімфоми клітин мантиї. *Патент № 139194 України на користь модель*. 2019.

90. Сидоренко С.П., Шлапацька Л.М., Гордієнко І.М., Щербіна В.М., Скляренко Л.М., Іванівська Т.С., Поліщук А.С. Спосіб прогнозування чутливості до дії хіміопрепаратів при хронічному лімфолейкозі. *Інформац. лист № 212-2019*. Київ: МОЗ України. 2019.

91. Полищук А.С., Глузман Д.Ф., Скляренко Л.М., и др. Цитоморфологическая и иммуноцитохимическая характеристика В-клеточных неходжкинских лимфом в свете новой классификации ВОЗ (2016 г.). *Клінічна онкологія*, 2017; **2** (26): 91.

92. Поліщук А.С., Скляренко Л.М. Імуноцитохімічна характеристика клітин при хронічному лімфолейкозі/лімфомі із малих лімфоцитів і моноклональному В-лімфоцитозі. *Шевченківська весна 2018*, 2018. 51-52 с.

93. Поліщук А.С. Цитоморфологічна та імуноцитохімічна характеристика клітин крові та кісткового мозку при В-клітинній лімфомі маргінальної зони селезінки. *Онкологія*, 2019; **21** (1): 91-92.

94. Поліщук А.С., Скляренко Л.М., Іванівська Т.С. Morphology and immunophenotype of lymphoid cells with hairy-like projections of cytoplasm in B-cell lymphoproliferative diseases. *Онкологія*, 2019; **21** (1): 79.

95. Поліщук А.С. Імунофенотипові маркери клітин кісткового мозку та периферичної крові хворих на В-клітинні неходжкінські лімфоми в фазі лейкоїзації. Науково-практичної конференції для лікарів-гематологів, онкологів і спеціалістів лабораторної медицини «Інноваційні технології лабораторної діагностики в онкогематології» 2019.

96. Young N.A., Al-Saleem T. Hematopathologists and cytopathologists: enemies or allies? *Diagn Cytopathol*, 1999; **21** (5): 305–306.

97. Глузман Д.Ф., Скляренко Л.М., Коваль С.В., Ивановская Т.С., Завелевич М.П., Фильченков А.А., Полищук А. С, Родионова Н.К. Современная классификация и диагностика миелодиспластических синдромов. Научно-методическое пособие. Киев: ТОВ “НВП “Інтерсервіс”, 2018. -144 с.

98. Khanna R., Belurkar S., Lavanva P., et al. Blastoid variant of mantle cell

lymphoma with leukemic presentation. A rare case report. *J Clin Diagn Res*, 2017; **11**: 16-18.

99. Nakatsuka S.I., Nagatomo J., Nagano T., et al. Classical type and blastoid variant mantle cell lymphoma in some lymph node: histology and cytological findings from touch imprint specimen. *Diagn Cytopathol*, 2017; **45**: 364-370.

100. Vose J.M. Mantle cell lymphoma: 2017 update on diagnosis risk stratification, and clinic menagement. *Am J Hematol*, 2017; **92**: 806-813.

101. Глузман Д.Ф., Скляренко Л.М., Іванівська Т.С., Завелевич М.П., Коваль С.В., Поліщук А.С., Швидка М.С. Спосіб ідентифікації неопластичних клітин у спинномозковій рідині. *Патент № 124850 України на користь модель*, 2018.

102. The UniProt Knowledgebase (UniProtKB) [database on the Internet] // UniProt Consortium. <https://www.uniprot.org> (date of application 20.09.2019).

103. Hehn S.T., Grogan T.M., Miller T.P. Utility of fine-needle aspiration as a diagnostic technique in lymphoma. *J Clin Oncol*, 2004; **22** (15): 3046–3052.

104. Wakely P.E., Jr. The diagnosis of non-Hodgkin lymphoma using fine-needle aspiration cytopathology: a work in progress. *Cancer Cytopathol*, 2010; **118** (5): 238–243.

105. Sandhaus L.M. Fine-needle aspiration cytology in the diagnosis of lymphoma: the next step. *Am J Clin Pathol*, 2000; **113** (5): 623–627.

106. AlZa'abi A.M., Geddie W.B., Boerner S.L. Equivalence of laser scanning cytometric and flow cytometric immunophenotyping of lymphoid lesions in cytologic samples. *Am J Clin Pathol*, 2008; **129** (5): 780–785.

107. Barrena S., Almeida J., Garcia-Macias MDC, et al. Flow cytometry immunophenotyping of fine-needle aspiration specimens: utility in the diagnosis and classification of non - Hodgkin lymphomas. *Histopathology*, 2011; **58** (6): 906–918.

108. Demurtas A., Accinelli G., Pacchioni D., et al. Utility of flow cytometry immunophenotyping in fine-needle aspirate cytologic diagnosis of non-

Hodgkin lymphoma: a series of 252 cases and review of the literature. *Appl Immunohistochem Mol Morphology*, 2010; **18** (4): 311–322.

109. Rajkumar S.V., Dimopoulos M.A., Palumbo A. et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol*, 2014; **15** (12): 538–48.

110. Landgren O., Kyle R.A., Pfeiffer R.M. et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. *Blood*, 2009; **113**: 5412–17.

111. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2017. 586p.

112. Hallek M., Cheson B.D., Catovsky D., et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood*, 2008; **111**: 5446–5456.

113. Tsimberidou A.M., Wen S., O'Brien S., et al. Assessment of chronic lymphocytic leukemia and small lymphocytic lymphoma by absolute lymphocyte counts in 2,126 patients: 20 years of experience at the University of Texas MD Anderson Cancer Center. *J Clin Oncol*, 2007; **25**: 4648–4656.

114. Nieto W.G., Almeida J., Romero A., et al. Primary Health Care Group of Salamanca for the Study of MBL. Increased frequency (12%) of circulating chronic lymphocytic leukemia-like B-cell clones in healthy subjects using a highly sensitive multicolor flow cytometry approach. *Blood*, 2009; **114** (1): 33–37.

115. Landgren O., Albitar M., Ma W., et al. B-cell clones as early markers for chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*, 2009; **360** (7): 659–667.

116. Rawstron A.C., Shanafelt T., Lanasa M.C., et al. Different biology and clinical outcome according to the absolute numbers of clonal B-cells in monoclonal B-cell lymphocytosis (MBL). *Cytometry B Clin Cytom*, 2010; **78** (suppl 1): S19–S23.

117. Vardi A., Dagklis A., Scarfò L., et al. Immunogenetics shows that not all MBL are equal: the larger the clone, the more similar to CLL. *Blood*, 2013; **121** (22): 4521–4528.
118. Morabito F., Mosca L., Cutrona G., et al. Clinical monoclonal B lymphocytosis versus Rai 0 chronic lymphocytic leukemia: a comparison of cellular, cytogenetic, molecular, and clinical features. *Clin Cancer Res*, 2013; **19** (21): 5890–5900.
119. Xochelli A., Kalpadakis C., Gardiner A., et al. Clonal B-cell lymphocytosis exhibiting immunophenotypic features consistent with a marginal-zone origin: is this a distinct entity? *Blood*, 2014; **123** (8): 1199–1206.
120. Bruscaggin A., Monti S., Arcaini L., et al. Molecular lesions of signalling pathway genes in clonal B-cell lymphocytosis with marginal zone features. *Br J Haematol*, 2014; **167** (5): 718–720.
121. Ponzoni M., Kanellis G., Pouliou E., et al. Bone marrow histopathology in the diagnostic evaluation of splenic marginal-zone and splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma: a reliable substitute for spleen histopathology? *Am J Surg Pathol*, 2012; **36**: 1609–1618.
122. Behdad A., Bailey N.G. Diagnosis of splenic B-cell lymphomas in the bone marrow: a review of histopathologic, immunophenotypic, and genetic findings. *Arch Pathol Lab Med*, 2014; **138**: 1295–1301.
123. Cessna M.H., Hartung L., Tripp S., et al. Hairy cell variant: Fact or fiction. *Am J Clin Pathol*, 2005; **123**: 132–138.
124. Aukema S.M., Hoster E., Rosenwald A., et al. Expression of TP53 is associated with the outcome of MCL independent of MIPI and Ki-67 in trials of the European MCL Network. *Blood*, 2018; **131**: 417-20.
125. Lardelli P., Bookman M.A., Sundeen J., et al. Lymphocytic lymphoma of intermediate differentiation. Morphologic and immunophenotypic spectrum and clinical correlations. *Am J Surg Pathol*, 1990; **14**: 752-63.
126. Sen R., Gupta S., Gill M., Kohli R., Gupta V., Verma R. Blastoid variant of mantle cell lymphoma: A rare case report. *Am J Med Case Rep*, 2014; **2**

(8): 161–63.

127. Bernard M., Gressin R., Lefrere F., Drenou B., Branger B., Caulet-Maugendre S., et al. Blastic variant of mantle cell lymphoma: a rare but highly aggressive subtype. *Leukemia*, 2001; **15** (11): 1785–91.

128. Morice W.G., Hodnefield J.M., Kurtin P.J., Hanson C.A. An unusual case of leukemic mantle cell lymphoma with a blastoid component showing loss of CD5 and aberrant expression of CD10. *Am J Clin Pathol*, 2004; **10**: 122–27.

129. Глузман Д.Ф., Скляренко Л.М., Коваль С.В., Ивановская Т.С., и др. Современные международные классификации опухолей лимфоидной и кроветворной тканей. Киев: ДИА, 2016. 48с.

130. Глузман Д.Ф., Скляренко Л.М., Иванивская Т.С., Полищук А.С. Иммуноцитохимические маркеры выявления микрометастазов опухолей. *Онкология*, 2018; **20** (78): 287-294.

131. Поліщук А.С. Імунофенотипові маркери клітин периферичної крові та кісткового мозку хворих на В-клітинні неходжкінські лімфоми в фазі лейкоїзації. Науково-практична конференція, з міжнародною участю «Ефективність, якість та доступність сучасної лабораторної медицини в Україні» 2020.

132. Kumar S, Lütke T, Schwartz-Albiez R. GlycoCD: a repository for carbohydrate-related CD antigens. *Bioinformatics* 2012; **28** (19): 2553-5.

133. Glyco-CD databank [database on the Internet] // Heidelberg: German Cancer Research Center. <http://glycosciences.de/glycocd/browse.php> (date of application 24.09.2019).

134. National Center for Biotechnology Information (NCBI) [database on the Internet] // U.S. National Library of Medicine at the National Institutes of Health. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene> (date of application 10.10.2019).

135. The GeneCards [database on the Internet] // Rehovot: The Crown Human Genome Center, Weizmann Institute of Science. <https://www.genecards.org> (date of application 18.10.2019).

136. Гельсінська декларація Всесвітньої медичної асоціації "Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта досліджень" [Електронний ресурс] // Гельсінська декларація Всесвітньої медичної асоціації. <https://zakon.rada.gov.ua/> (дата звернення: 16.08.2020).

Додаток А

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Головний лікар
Комунального закладу «Дніпропетровської обласної ради
"Дніпропетровська міська багатопрофільна клінічна лікарня №4"
Небанов Коетянтин Олександрович

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва розробки: «Розробка і впровадження алгоритмів імуноцитохімічної і молекулярно-генетичної діагностики хронічного мієлолейкозу, форм мієлопроліферативних новоутворень та мієлодиспластичних синдромів» в рамках виконання НТР «Розроблення та впровадження в клінічну практику новітніх імуноцитохімічних і молекулярно-генетичних технологій діагностики пухлин кровотворної і лімфоїдної тканини» (тема за договором ДЗ/43-2015 від 30.10.2015р.)
(найменування пропозиції щодо впровадження)
2. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, відділ онкогематології
Поштова адреса: 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45
Керівник розробки - доктор медичних наук професор Глузман Д.Ф.
Відповідальні виконавці: ст.н.с., д.м.н. Складенко Л.М., ст.н.с., к.б.н. Коваль С.В., н.с., к.б.н. Іванівська Т.С., м.н.с. Українська Н.І., асп. Поліщук А.С., асп. Швидка М.С.
(заклад-розробник, поштова адреса, ПІБ авторів)
3. Джерело інформації: Д.Ф. Глузман, Л.М. Складенко, Г.Д. Телегєєв, М.В. Дибков, С.В. Коваль, Т.С. Іванівська, М.П. Завелевич, Н.І. Українська, А.С. Поліщук, М.С. Швидка. Діагностика мієлоїдних новоутворень і гострих лейкозів. Науково-методичний посібник. Київ: ДІА, 2016. 124с.
(назва, вид надання методичних рекомендацій, інформаційні листи, вихідні дані статті/монографії)
4. Впроваджено: гематологічне відділення "Дніпропетровської міської багатопрофільної клінічної лікарні №4", м. Дніпро, вул. Близня 31, індекс 49102, тел. (056)-756-01-52, тел.(056)-756-01-57
(найменування ЛПУ, адреса, відділення, де проводилось впровадження)
5. Терміни впровадження: 01.01.2016 р. — 31.12.2016 р.
6. Загальна кількість спостережень - 92 хворих
7. Результат використання пропозицій (кількість спостережень):
позитивний (100%) 92 хворих
невизначений -
негативний -
8. Ефективність впровадження.
Уточнена, гістогенетично обумовлена діагностика дозволяє проводити лікування хворих на онкогематологічні захворювання за міжнародними стандартами з використанням сучасних терапевтичних схем і новітніх лікарських засобів.
9. Зауваження, пропозиції: Використання в межах діагностичних досліджень нових технологій, які базуються на новітніх досягненнях молекулярної біології та біотехнології, дозволяє підвищити до світового рівень діагностики і, відповідно, покращити результати лікування онкогематологічних захворювань і якість життя хворих, дякуючи застосуванню лікарських препаратів нового покоління.

“23” 2016 р.

Відповідальний за впровадження:

Зав.гематологічним відділенням
Каплан Поліна Єфимівна

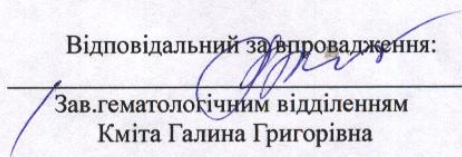

ЗАТВЕРДЖУЮ
 Головний лікар
 Комунального закладу Тернопільської обласної ради
 «Тернопільська Університетська лікарня»
 Бліхар Василь Євгенович

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва розробки: «Розробка і впровадження алгоритмів імуноцитохімічної і молекулярно-генетичної діагностики хронічного мієлолейкозу, форм мієлопроліферативних новоутворень та мієлодиспластичних синдромів» в рамках виконання НТР «Розроблення та впровадження в клінічну практику новітніх імуноцитохімічних і молекулярно-генетичних технологій діагностики пухлин кровотворної і лімфоїдної тканин» (тема за договором ДЗ/43-2015 від 30.10.2015р.)
 (найменування пропозиції щодо впровадження)
2. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України, відділ онкогематології
 Поштова адреса: 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45
 Керівник розробки - доктор медичних наук професор Д.Ф. Глузман
 Відповідальні виконавці: пров.н.с, д.м.н. Л.М.Скляренко, ст.н.с., к.б.н. С.В.Коваль, н.с., к.б.н. Іванівська Т.С., м.н.с. Українська Н.І.
 (заклад-розробник, поштова адреса, ПІБ авторів)
3. Джерело інформації: Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, Г.Д. Телегеев, М.В. Дибков, С.В. Коваль, Т.С. Іванівська, М.П. Завелевич, Н.І. Українська, А.С. Поліщук, М.С. Швидка. Діагностика мієлоїдних новоутворень і гострих лейкозів. Науково-методичний посібник. Київ: ДІА, 2016. 124с.
 (назва, вид надання методичних рекомендацій, інформаційні листи, вихідні дані статті/монографії)
4. Впроваджено: гематологічне відділення «Тернопільської Університетської лікарні», вул.Клінічна 1, м. Тернопіль, 46002, тел. (0352) 23 58 86, (0352) 27 33 04, (0352) 27 33 17, e-mail: terokkl@ukr.net
 (найменування ЛПУ, адреса, відділення, де проводилось впровадження)
5. Терміни впровадження: 01.01.2016 р. — 31.12.2016 р.
6. Загальна кількість спостережень - 30 хворих
7. Результат використання пропозицій (кількість спостережень):
 позитивний 30 (100%) 30 хворих
 невизначений _____ -
 негативний _____ -
8. Ефективність впровадження.
 Уточнена, гістогенетично обумовлена діагностика дозволяє проводити лікування хворих на онкогематологічні захворювання за міжнародними стандартами з використанням сучасних терапевтичних схем і новітніх лікарських засобів.
9. Зауваження, пропозиції: Використання в межах діагностичних досліджень нових технологій, які базуються на новітніх досягненнях молекулярної біології та біотехнології, дозволяє підвищити до світового рівень діагностики і, відповідно, покращити результати лікування онкогематологічних захворювань і якість життя хворих, дякуючи застосуванню лікарських препаратів нового покоління.

«28» листопада 2016 р.

Відповідальний за впровадження:


 Зав.гематологічним відділенням
 Кміта Галина Григорівна

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар
Обласної клінічної лікарні
м. Івано-Франківськ
Гришук Ротар Іванович



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва розробки: «Розробка і впровадження алгоритмів імунцитохімічної і молекулярно-генетичної діагностики хронічного мієлолейкозу, форм мієлопроліферативних новоутворень та мієлодиспластичних синдромів» в рамках виконання НТР «Розроблення та впровадження в клінічну практику новітніх імунцитохімічних і молекулярно-генетичних технологій діагностики пухлин кровотворної і лімфоїдної тканин» (тема за договором ДЗ/43-2015 від 30.10.2015р.)
(найменування пропозиції щодо впровадження)
2. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, відділ онкогематології
Поштова адреса: 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45
Керівник розробки - доктор медичних наук професор Глузман Д.Ф.
Відповідальні виконавці: ст.н.с, д.м.н. Скляренко Л.М., ст.н.с., к.б.н. Коваль С.В., н.с., к.б.н. Іванівська Т.С., м.н.с. Українська Н.І., асп. Поліщук А.С., асп. Швидка М.С.
(заклад-розробник, поштова адреса, ПІБ авторів)
3. Джерело інформації: Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, Г.Д. Телегеев, М.В. Дибков, С.В. Коваль, Т.С. Іванівська, М.П. Завелевич, Н.І. Українська, А.С. Поліщук, М.С. Швидка. Діагностика мієлоїдних новоутворень і гострих лейкозів. Науково-методичний посібник. Київ: ДІА, 2016. 124с.
(назва, вид надання методичних рекомендацій, інформаційні листи, вихідні дані статті/монографії)
4. Впроваджено: гематологічне відділення обласної клінічної лікарні, м. Івано-Франківськ, вул. Федьковича, 91, індекс 76008, тел. (0342)-528-29, (0342)-528-30.
(найменування ЛПУ, адреса, відділення, де проводилось впровадження)
5. Терміни впровадження: 01.01.2016 р. — 31.12.2016 р.
6. Загальна кількість спостережень - 43 хворих
7. Результат використання пропозицій (кількість спостережень):
позитивний _____ (100% 43 хворих)
невизначений _____ -
негативний _____ -
8. Ефективність впровадження.
Уточнена, гістогенетично обумовлена діагностика дозволяє проводити лікування хворих на онкогематологічні захворювання за міжнародними стандартами з використанням сучасних терапевтичних схем і новітніх лікарських засобів.
9. Зауваження, пропозиції: Використання в межах діагностичних досліджень нових технологій, які базуються на новітніх досягненнях молекулярної біології та біотехнології, дозволяє підвищити до світового рівень діагностики і, відповідно, покращити результати лікування онкогематологічних захворювань і якість життя хворих, дякуючи застосуванню лікарських препаратів нового покоління.

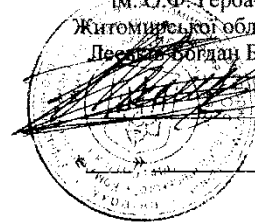
«05» грудня 2016 р.

Відповідальний за впровадження:

Зав.гематологічним відділенням
Доцент Глушко Наталія Любомирівна

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар
Комунальної установи «Обласна клінічна лікарня
ім. О.Ф. Гербачевського»
Житомирської обласної ради
Лещенко Богдан Богданович



2017р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

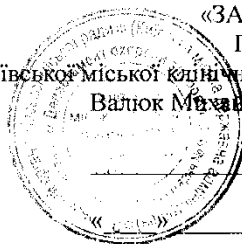
1. Назва розробки: «Комплексна уточнена діагностика гострих і хронічних лейкозів у хворих України» в рамках виконання НДР «Цитоморфологічна та імуноцитохімічна характеристика лейкозів у післячорнобильський період» (2015-2017рр.) в рамках виконання відомчої тематики «Виявлення маркерів злоякісної трансформації та ідентифікації ознак стовбурових клітин пухлинного пласту з метою ранньої діагностики та прогнозу перебігу хвороби» (шифр теми 2.2.5.392, № держресстрації 0114U004390 від 26.04.14р.).
(найменування пропозиції щодо впровадження)
2. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, відділ онкогематології
Поштова адреса: 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45.
Керівник розробки - доктор медичних наук професор Д.Ф. Глузман
Відповідальні виконавці: д.м.н. пров. н.с. Л.М. Скляренко, к.б.н. ст.н.с. С.В. Коваль, к.б.н. н.с. Іванівська Т.С., інж. Поліщук А.С., інж. Швидка М.С.
(заклад-розробник, поштова адреса, ПІБ авторів)
3. Ионизирующая радиация и онкогематологические заболевания. Киев: ДИА, 2016. 284с. / Под ред. акад. В.Ф. Чехуна, проф. Д.Ф. Глузмана
(назва, вид надання методичних рекомендацій, інформаційні листи, вихідні дані статті, монографії)
4. Впроваджено: гематологічне відділення обласної клінічної лікарні ім. О.Ф. Гербачевського, вул. Червоного Хреста 3, м. Житомир, 10002, тел. 0 (412) 43-87-40, e-mail: medisa@meta.ua, medisazt@gmail.com
(найменування ЛПУ та відділення, де проводилось впровадження)
5. Терміни впровадження: 01.01.2015р. — 30.12.2017р.
6. Загальна кількість спостережень - 207 хворих
7. Результат використання пропозицій (кількість спостережень):
позитивний (100%) - 207
невизначений -
негативний -
8. Ефективність впровадження.
Уточнена, гістогенетично обумовлена діагностика дозволяє проводити лікування хворих на онкогематологічні захворювання за міжнародними стандартами з використанням сучасних терапевтичних схем і новітніх лікарських засобів.
9. Зауваження, пропозиції: Використання в межах діагностичних досліджень нових технологій, які базуються на новітніх досягненнях молекулярної біології та біотехнології, дозволяє підвищити до світового рівень діагностики і, відповідно, покращити результати лікування онкогематологічних захворювань і якість життя хворих, дякуючи застосуванню лікарських препаратів нового покоління.

«12» серпня 2017р.

Відповідальний за впровадження:

Зав. гематологічним відділенням
з ліжками інтенсивної терапії
к.м.н. Лиса Таміла Іларіонівна

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Головний лікар
Київської міської клінічної лікарні № 9
Валюк Михайло Дмитрович



2017 р.

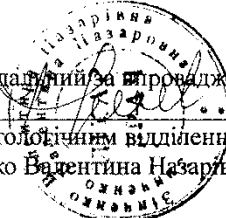
АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва розробки: «Комплексна уточнена діагностика гострих і хронічних лейкозів у хворих України» в рамках виконання НДР «Цитоморфологічна та імуноцитохімічна характеристика лейкозів у післячорнобильський період» (2015-2017рр.) в рамках виконання відомчої тематики «Виявлення маркерів злоякісної трансформації та ідентифікації ознак стовбурових клітин пухлинного пласту з метою ранньої діагностики та прогнозу перебігу хвороби» (шифр теми 2.2.5.392, №держреєстрації 0114U004390 від 26.04.14р.).
(найменування пропозиції щодо впровадження)
2. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, відділ онкогематології
Поштова адреса: 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45
Керівник розробки - доктор медичних наук професор Д.Ф. Глузман
Відповідальні виконавці: д.м.н. пров. н.с. Л.М. Складенко, к.б.н. ст.н.с. С.В. Коваль, к.б.н. н.с. Іванівська Т.С., інж. Поліщук А.С., інж. Швидка М.С.
(заклад-розробник, поштова адреса, ПІБ авторів)
3. Ионизирующая радиация и онкогематологические заболевания. Киев: ДИА, 2016. 284с. / Под. ред. акад. В.Ф. Чехуна, проф. Д.Ф. Глузмана
(назва, вид надання методичних рекомендацій, інформаційні листи, вихідні дані статті, монографії)
4. Впроваджено: гематологічне відділення №2 КМКЛ №9, вул. Ризька, 1, м. Київ, 04112, тел. (044) 440 11 44
(найменування ЛПУ та відділення, де проводилось впровадження)
5. Терміни впровадження: 01.01.2015р. — 30.12.2017р.
6. Загальна кількість спостережень — 555 хворих
7. Результат використання пропозицій (кількість спостережень):
позитивний (100%) 555
невизначений _____ -
негативний _____ -
8. Ефективність впровадження.
Уточнена, гістогенетично обумовлена діагностика дозволяє проводити лікування хворих на онкогематологічні захворювання за міжнародними стандартами з використанням сучасних терапевтичних схем і новітніх лікарських засобів.
9. Зауваження, пропозиції: Використання в межах діагностичних досліджень нових технологій, які базуються на новітніх досягненнях молекулярної біології та біотехнології, дозволяє підвищити до світового рівень діагностики і, відповідно, покращити результати лікування онкогематологічних захворювань і якість життя хворих, дякуючи застосуванню лікарських препаратів нового покоління.

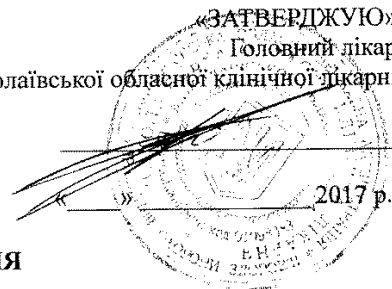
“25” нової 2017 р.

Відповідає за впровадження:

Зав. гематологічним відділенням №2
Зінченко Валентина Назарівна



«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Головний лікар
Миколаївської обласної клінічної лікарні



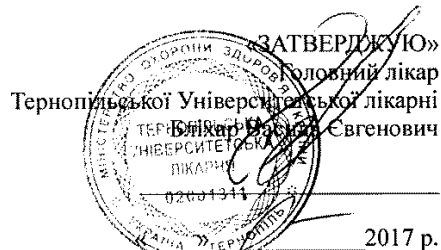
АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва розробки: «Комплексна уточнена діагностика гострих і хронічних лейкозів у хворих України» в рамках виконання НДР «Цитоморфологічна та імуноцитохімічна характеристика лейкозів у післячорнобильський період» (2015-2017рр.) в рамках виконання відомчої тематики «Виявлення маркерів злоякісної трансформації та ідентифікації ознак стовбурових клітин пухлинного пласту з метою ранньої діагностики та прогнозу перебігу хвороби» (шифр теми 2.2.5.392, № держреєстрації 0114U004390 від 26.04.14р.).
(найменування пропозиції щодо впровадження)
2. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, відділ онкогематології
Поштова адреса: 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45.
Керівник розробки - доктор медичних наук професор Д.Ф. Глузман
Відповідальні виконавці: д.м.н. пров. н.с. Л.М. Скляренко, к.б.н. ст.н.с. С.В. Коваль, к.б.н. н.с. Іванівська Т.С., інж. Поліщук А.С., інж. Швидка М.С.
(заклад-розробник, поштова адреса, ПІБ авторів)
3. Ионизирующая радиация и онкогематологические заболевания. Киев: ДИА, 2016. 284с. / Под. ред. акад. В.Ф. Чехуна, проф. Д.Ф. Глузмана
(назва, вид надання методичних рекомендацій, інформаційні листи, вихідні дані статті)
4. Впроваджено: відділення гематології обласної лікарні м. Миколаїв, 54058, вул. Київська, 1, тел. (0512) 41-79-79, тел. (0512) 41-79-7
(найменування ЛПУ та відділення, де проводилось впровадження)
5. Терміни впровадження: 01.01.2015 р. — 30.12.2017 р.
6. Загальна кількість спостережень - 81 хворий
7. Результат використання пропозицій (кількість спостережень):
позитивний _____ (100%) - 81 хворий
невизначений _____ -
негативний _____ -
8. Ефективність впровадження.
Уточнена, гістогенетично обумовлена діагностика дозволяє проводити лікування хворих на онкогематологічні захворювання за міжнародними стандартами з використанням сучасних терапевтичних схем і новітніх лікарських засобів.
9. Зауваження, пропозиції: Використання в межах діагностичних досліджень нових технологій, які базуються на новітніх досягненнях молекулярної біології та біотехнології, дозволяє підвищити до світового рівень діагностики і, відповідно, покращити результати лікування онкогематологічних захворювань і якість життя хворих, дякуючи застосуванню лікарських препаратів нового покоління.

“ 9 ” XI 2017 р.

Відповідальний за впровадження:

Зав. гематол. відділенням
Нікулін Станіслав Володимирович



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва розробки: «Комплексна уточнена діагностика гострих і хронічних лейкозів у хворих України» в рамках виконання НДР «Цитоморфологічна та імуноцитохімічна характеристика лейкозів у післячорнобильський період» (2015-2017pp.) в рамках виконання відомчої тематики «Виявлення маркерів злоякісної трансформації та ідентифікації ознак стовбурових клітин пухлинного пласту з метою ранньої діагностики та прогнозу перебігу хвороби» (шифр теми 2.2.5.392, № держреєстрації 0114U004390 від 26.04.14р.).
(найменування пропозицій щодо впровадження)
2. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, відділ онкогематології
Поштова адреса: 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45.
Керівник розробки - доктор медичних наук професор Д.Ф. Глузман
Відповідальні виконавці: д.м.н. пров. н.с. Л.М. Скіяренко, к.б.н. ст.н.с. С.В. Коваль, к.б.н. н.с. Іванівська Т.С., інж. Поліщук А.С., інж. Швидка М.С.
(заклад-розробник, поштова адреса, ПІБ авторів)
3. Ионизирующая радиация и онкогематологические заболевания. Киев: ДИА, 2016. 284с. / Под. ред. акад. В.Ф. Чехуна, проф. Д.Ф. Глузмана
(назва, вид надання методичних рекомендацій, інформаційні листи, вихідні дані статті/монографії)
4. Впроваджено: гематологічне відділення «Тернопільської Університетської лікарні», вул. Клінічна 1, м. Тернопіль, 46002, тел. (0352) 3 58 86, (0352) 7 33 04, (0352) 7 33 17, e-mail: terokkl@ukr.net
(найменування ЛПУ, адреса, відділення, де проводилось впровадження)
5. Терміни впровадження: 01.01.2015 р. — 31.12.2017 р.
6. Загальна кількість спостережень - 58 хворих
7. Результат використання пропозицій (кількість спостережень):
позитивний 58 (100%) - 58 хворих
невизначений -
негативний -
8. Ефективність впровадження.
Уточнена, гістогенетично обумовлена діагностика дозволяє проводити лікування хворих на онкогематологічні захворювання за міжнародними стандартами з використанням сучасних терапевтичних схем і новітніх лікарських засобів.
9. Зауваження, пропозиції: Використання в межах діагностичних досліджень нових технологій, які базуються на новітніх досягненнях молекулярної біології та біотехнології, дозволяє підвищити до світового рівень діагностики і, відповідно, покращити результати лікування онкогематологічних захворювань і якість життя хворих, дякуючи застосуванню лікарських препаратів нового покоління.

«10» XI 2017 р.

Відповідальний за впровадження:

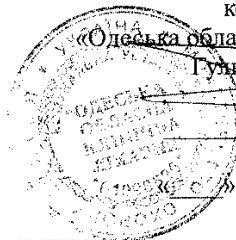
Зав.гематологічним відділенням
Кміта Галина Григорівна

ЗАТВЕРДЖУЮ

Головний лікар
комунальної установи

«Одеська обласна клінічна лікарня»

Гульченко Юрій Іванович



2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва розробки: «Комплексна уточнена діагностика гострих і хронічних лейкозів у хворих України» в рамках виконання НДР «Цитоморфологічна та імуноцитохімічна характеристика лейкозів у післячорнобильський період» (2015-2017рр.) в рамках виконання відомчої тематики «Виявлення маркерів злоякісної трансформації та ідентифікації ознак стовбурових клітин пухлинного пласту з метою ранньої діагностики та прогнозу перебігу хвороби» (шифр теми 2.2.5.392, № держреєстрації 0114U004390 від 26.04.14р.).
(найменування пропозиції щодо впровадження)
2. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, відділ онкогематології
Поштова адреса: 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45.
Керівник розробки - доктор медичних наук професор Д.Ф. Глузман
Відповідальні виконавці: д.м.н. пров. н.с. Л.М. Скляренко, к.б.н. ст.н.с. С.В. Коваль, к.б.н. н.с. Іванівська Т.С., інж. Поліщук А.С., інж. Швидка М.С.
(заклад-розробник, поштова адреса, ПІБ авторів)
3. Ионизирующая радиация и онкогематологические заболевания. Киев: ДИА, 2016. 284с. / Под. ред. акад. В.Ф. Чехуна, проф. Д.Ф. Глузмана
(назва, вид надання методичних рекомендацій, інформаційні листи, вихідні дані статті)
4. Впроваджено: гематологічне відділення Одеської обласної клінічної лікарні, 65000, м. Одеса, ул. Ак. Заболотного, 26, тел.: +38 (048) 755-01-01, факс: (0482) 755-83-52, e-mail: Odessa_rh@yahoo.com
(найменування ЛПУ та відділення, де проводилось впровадження)
5. Терміни впровадження: 01.01.2015 р. — 30.12.2017 р.
6. Загальна кількість спостережень - 103 хворих
7. Результат використання пропозицій (кількість спостережень):
позитивний _____ (100%) - 103 хворих
невизначений _____ -
негативний _____ -
8. Ефективність впровадження.
Уточнена, гістогенетично обумовлена діагностика дозволяє проводити лікування хворих на онкогематологічні захворювання за міжнародними стандартами з використанням сучасних терапевтичних схем і новітніх лікарських засобів.
9. Зауваження, пропозиції: Використання в межах діагностичних досліджень нових технологій, які базуються на новітніх досягненнях молекулярної біології та біотехнології, дозволяє підвищити до світового рівень діагностики і, відповідно, покращити результати лікування онкогематологічних захворювань і якість життя хворих, дякуючи застосуванню лікарських препаратів нового покоління.

« 13 » 11 2017р.

Відповідальний за впровадження:

Зав. гематол. відділенням
Козлов Віктор Петрович

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Головний лікар
Київської міської клінічної лікарні № 9
Валіок Михайло Дмитрович



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва розробки: «Вдосконалення імуноцитохімічних методів діагностики гострих мієлоїдних і лімфоїдних лейкозів, надання фенотипової характеристики субстратних клітин при "гострих лейкозах невизначеного походження" з використанням розроблених панелей моноклональних антитіл» (НТР «Розроблення та впровадження в клінічну практику новітніх імуноцитохімічних і молекулярно-генетичних технологій діагностики пухлин кровотворної і лімфоїдної тканини» за договором ДЗ/43-2015 від 30.10.2015р.)
(найменування пропозиції щодо впровадження)
2. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім.Р.Є.Кавецького НАН України, відділ онкогематології.
Поштова адреса: 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45.
Керівник розробки - доктор медичних наук професор Глузман Д.Ф.
Відповідальні виконавці: ст.н.с, д.м.н. Склярєнко Л.М., ст.н.с., к.б.н. Коваль С.В., н.с., к.б.н. Іванівська Т.С., асп. Поліщук А.С.
(заклад-розробник, поштова адреса, ПІБ авторів)
3. Джерело інформації: Д.Ф. Глузман, Л.М. Склярєнко, Г.Д. Телегєєв, М.В. Дибков, С.В. Коваль, Т.С. Іванівська, М.П. Завєлєвич, Н.І. Українська, А.С. Поліщук, М.С. Швидка. Діагностика мієлоїдних новоутворень і гострих лейкозів. Науково-методичний посібник. Київ: ДІА, 2016. 124с.
(назва, вид надання методичних рекомендацій, інформаційні листи, вихідні дані статті)
4. Впроваджено: гематологічне відділення №2 Київської міської клінічної лікарні № 9, вул. Ризька, 1, м. Київ, 04112, тел.: (044) 440-11-44
(найменування ЛПУ, адреса, відділення, де проводилось впровадження)
5. Терміни впровадження: 01.01.2018 р. — 31.12.2018 р.
6. Загальна кількість спостережень - 38 хворих
7. Результат використання пропозицій (кількість спостережень):
позитивний (100%) - 38 хворих
невизначений - -
негативний - -
8. Ефективність впровадження.
Комплексна діагностика дозволяє проводити лікування хворих на онкогематологічні захворювання за міжнародними стандартами з використанням сучасних терапевтичних схем і новітніх лікарських засобів.
9. Зауваження, пропозиції.
Використання в межах стандартних діагностичних досліджень нових технологій, які базуються на досягненнях молекулярної біології, дозволяє підвищити до світового рівень діагностики і, відповідно, покращити результати лікування онкогематологічних захворювань і якість життя хворих завдяки застосуванню лікарських препаратів нового покоління.

«14» 03 2019 р.

Відповідальний за впровадження:

Зав.гематол.відділенням №2 Зінченко В.Н.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Головний лікар
Київської міської клінічної лікарні № 9
Василь Дмитрович



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Назва розробки: «Розробка і впровадження алгоритмів імунцитохімічної і молекулярно-генетичної діагностики хронічного мієлолейкозу, форм мієлопроліферативних новоутворень та мієлодиспластичних синдромів» (НТР «Розроблення та впровадження в клінічну практику новітніх імунцитохімічних і молекулярно-генетичних технологій діагностики пухлин кровотворної і лімфоїдної тканини за договором ДЗ/43-2015 від 30.10.2015р.)
(найменування пропозицій щодо впровадження)
- Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, відділ онкогематології
Поштова адреса: 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45
Керівник розробки - доктор медичних наук професор Глузман Д.Ф.
Відповідальні виконавці: ст.н.с., д.м.н. Скляренко Л.М., ст.н.с., к.б.н. Коваль С.В., н.с., к.б.н. Іванівська Т.С., асп. Поліщук А.С.
(заклад-розробник, поштова адреса, ПІБ авторів)
- Джерело інформації: Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, Г.Д. Телегесв, М.В. Дибков, С.В. Коваль, Т.С. Іванівська, М.П. Завелевич, Н.І. Українська, А.С. Поліщук, М.С. Швидка. Діагностика мієлоїдних новоутворень і гострих лейкозів. Науково-методичний посібник. Київ: ДІА, 2016. 124с.
(назва, вид надання методичних рекомендацій, інформаційні листи, вихідні дані статті/монографії)
- Впроваджено: гематологічне відділення №2 Київської міської клінічної лікарні № 9, вул. Ризька, 1, м. Київ, 04112, тел.: (044) 440-11-44
(найменування ЛПУ, адреса, відділення, де проводилось впровадження)
- Терміни впровадження: 01.01.2018 р. — 31.12.2018 р.
- Загальна кількість спостережень - 58 хворих
- Результат використання пропозицій (кількість спостережень):
позитивний (100%) - 58 хворих
невизначений - -
негативний - -
- Ефективність впровадження.
Комплексна діагностика дозволяє проводити лікування хворих на онкогематологічні захворювання за міжнародними стандартами з використанням сучасних терапевтичних схем і новітніх лікарських засобів.
- Зауваження, пропозиції.
Використання в межах стандартних діагностичних досліджень нових технологій, які базуються на досягненнях молекулярної біології, дозволяє підвищити до світового рівень діагностики і, відповідно, покращити результати лікування онкогематологічних захворювань і якість життя хворих завдяки застосуванню лікарських препаратів нового покоління.

«11» 03 2019 р.

Відповідальний за впровадження:

Зав.гематол.відділенням №2 Зінченко В.Н.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Директор Київського міського
 Гематологічного центру
 Київської міської клінічної лікарні № 9
 Сівкович Світлана Олексіївна

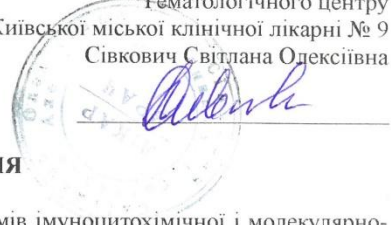


АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва розробки: «Вдосконалення імуноцитохімічних методів діагностики гострих мієлоїдних і лімфоїдних лейкозів, надання фенотипової характеристики субстратних клітин при «гострих лейкозах невизначеного походження» з використанням розроблених панелей моноклональних антитіл» (НТР «Розроблення та впровадження в клінічну практику новітніх імуноцитохімічних і молекулярно-генетичних технологій діагностики пухлин кровотворної і лімфоїдної тканин» за договором ДЗ/43-2015 від 30.10.2015р.)
 (найменування пропозиції щодо впровадження)
2. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім.Р.Є.Кавецького НАН України, відділ онкогематології.
 Поштова адреса: 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45.
 Керівник розробки - доктор медичних наук професор Глузман Д.Ф.
 Відповідальні виконавці: ст.н.с, д.м.н. Склярєнко Л.М., ст.н.с., к.б.н. Коваль С.В., н.с., к.б.н. Іванівська Т.С., асп. Поліщук А.С.
 (заклад-розробник, поштова адреса, ПІБ авторів)
3. Джерело інформації: Д.Ф. Глузман, Л.М. Склярєнко, Г.Д. Телегєєв, М.В. Дибков, С.В. Коваль, Т.С. Іванівська, М.П. Завєлєвич, Н.І. Українська, А.С. Поліщук, М.С. Швидка. Діагностика мієлоїдних новоутворень і гострих лейкозів. Науково-методичний посібник. Київ: ДІА, 2016. 124с.
 (назва, вид надання методичних рекомендацій, інформаційні листи, вихідні дані статті)
4. Впроваджено: Київський міський Гематологічний центр, вул. Ризька, 1, м. Київ, 04112, тел.: (044) 458-01-09
 (найменування ЛПУ, адреса, відділення, де проводилось впровадження)
5. Терміни впровадження: 01.01.2017 р. — 31.12.2017 р.
6. Загальна кількість спостережень - 27 хворих
7. Результат використання пропозицій (кількість спостережень):
 позитивний (100%) - 27 хворих
 невизначений - -
 негативний - -
8. Ефективність впровадження.
 Комплексна діагностика дозволяє проводити лікування хворих на онкогематологічні захворювання за міжнародними стандартами з використанням сучасних терапевтичних схем і новітніх лікарських засобів.
9. Зауваження, пропозиції.
 Використання в межах стандартних діагностичних досліджень нових технологій, які базуються на досягненнях молекулярної біології, дозволяє підвищити до світового рівень діагностики і, відповідно, покращити результати лікування онкогематологічних захворювань і якість життя хворих завдяки застосуванню лікарських препаратів нового покоління.

«28» листопада 2018 р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Директор Київського міського
 Гематологічного центру
 Київської міської клінічної лікарні № 9
 Сівкович Світлана Олександрівна



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва розробки: «Розробка і впровадження алгоритмів імуноцитохімічної і молекулярно-генетичної діагностики хронічного мієлолейкозу, форм мієлопроліферативних новоутворень та мієлодиспластичних синдромів» (НТР «Розроблення та впровадження в клінічну практику новітніх імуноцитохімічних і молекулярно-генетичних технологій діагностики пухлин кровотворної і лімфоїдної тканин за договором ДЗ/43-2015 від 30.10.2015р.)
 (найменування пропозиції щодо впровадження)
2. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, відділ онкогематології.
 Поштова адреса: 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45
 Керівник розробки - доктор медичних наук професор Глузман Д.Ф.
 Відповідальні виконавці: ст.н.с. д.м.н. Складенко Л.М., ст.н.с., к.б.н. Коваль С.В., н.с., к.б.н. Іванівська Т.С., асп. Поліщук А.С.
 (заклад-розробник, поштова адреса, ІПБ авторів)
3. Джерело інформації: Д.Ф. Глузман, Л.М. Складенко, Г.Д. Телегеев, М.В. Дибков, С.В. Коваль, Т.С. Іванівська, М.П. Завелевич, Н.І. Українська, А.С. Поліщук, М.С. Швидка. Діагностика мієлоїдних новоутворень і гострих лейкозів. Науково-методичний посібник. Київ: ДІА, 2016. 124с.
 (назва, вид надання методичних рекомендацій, інформаційні листи, вихідні дані статті/монографії)
4. Впроваджено: Київський міський Гематологічний центр, вул. Ризька, 1, м. Київ, 04112, тел.: (044) 458-01-09
 (найменування ЛПІУ, адреса, відділення, де проводилось впровадження)
5. Терміни впровадження: 01.01.2017 р. — 31.12.2017 р.
6. Загальна кількість спостережень - 23 хворих
7. Результат використання пропозицій (кількість спостережень):
 позитивний (100%) - 23 хворих
 невизначений - -
 негативний - -
8. Ефективність впровадження.
 Комплексна діагностика дозволяє проводити лікування хворих на онкогематологічні захворювання за міжнародними стандартами з використанням сучасних терапевтичних схем і новітніх лікарських засобів.
9. Зауваження, пропозиції.
 Використання в межах стандартних діагностичних досліджень нових технологій, які базуються на досягненнях молекулярної біології, дозволяє підвищити до світового рівень діагностики і, відповідно, покращити результати лікування онкогематологічних захворювань і якість життя хворих завдяки застосуванню лікарських препаратів нового покоління.

“28” лютого 2018 р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Головний лікар
 Київської міської клінічної лікарні № 9
 Валюк Михайло Дмитрович



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва розробки: «Вдосконалення імуноцитохімічних методів діагностики гострих мієлоїдних і лімфоїдних лейкозів, надання фенотипової характеристики субстратних клітин при "гострих лейкозах невизначеного походження" з використанням розроблених панелей моноклональних антитіл» (НТР «Розроблення та впровадження в клінічну практику новітніх імуноцитохімічних і молекулярно-генетичних технологій діагностики пухлин кровотворної і лімфоїдної тканини» за договором ДЗ/43-2015 від 30.10.2015р.)
 (найменування пропозиції щодо впровадження)
2. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім.Р.Є.Кавецького НАН України, відділ онкогематології.
 Поштова адреса: 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45.
 Керівник розробки - доктор медичних наук професор Глузман Д.Ф.
 Відповідальні виконавці: ст.н.с., д.м.н. Скляренко Л.М., ст.н.с., к.б.н. Коваль С.В., н.с., к.б.н. Іванівська Т.С., асп. Поліщук А.С.
 (заклад-розробник, поштова адреса, ПІБ авторів)
3. Джерело інформації: Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, Г.Д. Телегеев, М.В. Дибков, С.В. Коваль, Т.С. Іванівська, М.П. Завелевич, Н.І. Українська, А.С. Поліщук, М.С. Швидка. Діагностика мієлоїдних новоутворень і гострих лейкозів. Науково-методичний посібник. Київ: ДІА, 2016. 124с.
 (назва, вид надання методичних рекомендацій, інформаційні листи, вихідні дані статті)
4. Впроваджено: гематологічне відділення №2 Київської міської клінічної лікарні № 9, вул. Ризька, 1, м. Київ, 04112, тел.: (044) 440-11-44
 (найменування ЛПУ, адреса, відділення, де проводилось впровадження)
5. Терміни впровадження: 01.01.2017 р. — 31.12.2017 р.
6. Загальна кількість спостережень - 85 хворих
7. Результат використання пропозицій (кількість спостережень):
 позитивний (100%) - 85 хворих
 невизначений - - -
 негативний - - -
8. Ефективність впровадження.
 Комплексна діагностика дозволяє проводити лікування хворих на онкогематологічні захворювання за міжнародними стандартами з використанням сучасних терапевтичних схем і новітніх лікарських засобів.
9. Зауваження, пропозиції.
 Використання в межах стандартних діагностичних досліджень нових технологій, які базуються на досягненнях молекулярної біології, дозволяє підвищити до світового рівень діагностики і, відповідно, покращити результати лікування онкогематологічних захворювань і якість життя хворих завдяки застосуванню лікарських препаратів нового покоління.

“26” 02 2018 р.

Відповідальний за впровадження:

Зав.гематол.відділенням №2 Зінченко В.Н.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар
Київської міської клінічної лікарні №9
Валюк Михайло Дмитрович



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Назва розробки: «Розробка і впровадження алгоритмів імуноцитохімічної і молекулярно-генетичної діагностики хронічного мієлолейкозу, форм мієлопроліферативних новоутворень та мієлодиспластичних синдромів» (НТР «Розроблення та впровадження в клінічну практику новітніх імуноцитохімічних і молекулярно-генетичних технологій діагностики пухлин кровотворної і лімфоїдної тканин за договором ДЗ/43-2015 від 30.10.2015р.)
(найменування пропозиції щодо впровадження)
- Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України, відділ онкогематології
Поштова адреса: 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45
Керівник розробки - доктор медичних наук професор Глузман Д.Ф.
Відповідальні виконавці: ст.н.с., д.м.н. Складенко Л.М., ст.н.с., к.б.н. Коваль С.В., н.с., к.б.н. Іванівська Т.С., асп. Поліщук А.С.
(заклад-розробник, поштова адреса, ПІБ авторів)
- Джерело інформації: Д.Ф. Глузман, Л.М. Складенко, Г.Д. Телегесєв, М.В. Дибков, С.В. Коваль, Т.С. Іванівська, М.П. Завелевич, Н.І. Українська, А.С. Поліщук, М.С. Швидка. Діагностика мієлоїдних новоутворень і гострих лейкозів. Науково-методичний посібник. Київ: ДІА, 2016. 124с.
(назва, вид надання методичних рекомендацій, інформаційні листи, вихідні дані статті/монографії)
- Впроваджено: гематологічне відділення №2 Київської міської клінічної лікарні №9, вул. Ризька, 1, м. Київ, 04112, тел.: (044) 440-11-44
(найменування ЛПУ, адреса, відділення, де проводилось впровадження)
- Терміни впровадження: 01.01.2017 р. — 31.12.2017 р.
- Загальна кількість спостережень - 35 хворих
- Результат використання пропозицій (кількість спостережень):
позитивний (100%) - 35 хворих
невизначений - -
негативний - -
- Ефективність впровадження.
Комплексна діагностика дозволяє проводити лікування хворих на онкогематологічні захворювання за міжнародними стандартами з використанням сучасних терапевтичних схем і новітніх лікарських засобів.
- Зауваження, пропозиції.
Використання в межах стандартних діагностичних досліджень нових технологій, які базуються на досягненнях молекулярної біології, дозволяє підвищити до світового рівень діагностики і, відповідно, покращити результати лікування онкогематологічних захворювань і якість життя хворих завдяки застосуванню лікарських препаратів нового покоління.

“26” 02 2018 р.

Відповідальний за впровадження:

Зав.гематол.відділенням №2 Зінченко В.Н.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва розробки: «Дослідження коекспресії деяких мієлоїдних антигенів при гострому лімфобластному лейкозі» (виконання теми «Вивчення ензимоцитохімічних та імуноцитологічних особливостей кровотворних клітин-попередників при різних формах гемобластозів» в рамках цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України «Молекулярні та клітинні біотехнології для потреб медицини, промисловості та сільського господарства»).
- (найменування пропозиції щодо впровадження)
2. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім.Р.Є.Кавецького НАН України, відділ онкогематології.
Поштова адреса: 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45.
Керівник розробки - доктор медичних наук професор Глузман Д.Ф.
Відповідальні виконавці: ст.н.с., к.б.н. Коваль С.В., ст.н.с., к.б.н. Іванівська Т.С., асп. Поліщук А.С.
- (заклад-розробник, поштова адреса, ПІБ авторів)
3. Джерело інформації: Дифференцировочные антигены клеток человека. Кратное справочное пособие. Киев: Ліра-К, 2019. 248с.
- (назва, вид надання методичних рекомендацій, інформаційні листи, вихідні дані статті)
4. Впроваджено: гематологічне відділення «Дніпропетровської міської багатопрофільної клінічної лікарні №4», м. Дніпро, вул. Ближня 31, індекс 49102, тел. (056)-756-01-52, тел.(056)-756-01-57, pkaplan@ukr.net
- (найменування ЛПУ, адреса, відділення, де проводилось впровадження)
5. Терміни впровадження: 01.01.2019 р. — 31.12.2019 р.
6. Загальна кількість спостережень - 40 хворих
7. Результат використання пропозицій (кількість спостережень):
позитивний (100%) - 6 хворих
невизначений - -
негативний - -
8. Ефективність впровадження.
Комплексна діагностика дозволяє проводити лікування хворих на онкогематологічні захворювання за міжнародними стандартами з використанням сучасних терапевтичних схем і новітніх лікарських засобів.
9. Зауваження, пропозиції.
Використання в межах стандартних діагностичних досліджень нових технологій, які базуються на досягненнях молекулярної біології, дозволяє підвищити до світового рівень діагностики і, відповідно, покращити результати лікування онкогематологічних захворювань і якість життя хворих завдяки застосуванню лікарських препаратів нового покоління.

«11» листопада 2019 р.

Відповідальний за впровадження:

В.О. Сесенко
Зав. гематологічним відділенням

Зав.гематол.відділенням № 2 Зінченко В.Н. Г.Зінченко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Головний лікар
 Київської міської клінічної лікарні № 9
 Валюк Михайло Дмитрович



2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва розробки: «Комплексна уточнена діагностика онкогематологічних захворювань в групах населення України, постраждалих від наслідків аварії на ЧАЕС» в рамках виконання НДР «Дослідження структури гемобластозів у післячорнобильський період в групах населення України, постраждалих внаслідок дії іонізуючої радіації» (2018-2020рр.) в рамках виконання відомчої тематики «Виявлення маркерів злоякісної трансформації та ідентифікації ознак стовбурових клітин пухлинного пласту з метою ранньої діагностики та прогнозу перебігу хвороби» (№ 2.2.5.415, № держреєстрації 0117u004978 від 09.11.17р).
- (найменування пропозиції щодо впровадження)
 2. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України, відділ онкогематології
 Поштова адреса: 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45
 Керівник розробки - доктор медичних наук професор Д.Ф. Глузман
 Відповідальні виконавці: к.б.н. ст.н.с. С.В. Коваль, к.б.н. ст.н.с. Завелевич М.П., к.б.н. ст.н.с. Фільченков О.О., інж. Поліщук А.С.
- (заклад-розробник, поштова адреса, ПІБ авторів)
 3. Джерело інформації: Hematological malignancies in Ukraine in post-Chernobyl era: sources of data and their preliminary analysis. Annals of Hematology. <https://doi.org/10.1007/s00277-020-04076-5>.
- (назва, вид надання методичних рекомендацій, інформаційні листи, вихідні дані статті, монографії)
 4. Впроваджено: гематологічне відділення №2 КМКЛ №9, вул. Ризька, 1, м. Київ, 04112, тел. (044) 440 11 44
- (найменування ЛПУ та відділення, де проводилось впровадження)
 5. Терміни впровадження: 01.01.2018р. — 30.12.2020р.
6. Загальна кількість спостережень — 386 хворих
7. Результат використання пропозицій (кількість спостережень):
 позитивний (100%) 386
 невизначений —
 негативний —
8. Ефективність впровадження.
 Уточнена, гістогенетично обумовлена діагностика дозволяє проводити лікування хворих на онкогематологічні захворювання за міжнародними стандартами з використанням сучасних терапевтичних схем і новітніх лікарських засобів.
9. Зауваження, пропозиції: Використання в межах діагностичних досліджень нових технологій, які базуються на новітніх досягненнях молекулярної біології та біотехнології, дозволяє підвищити до світового рівень діагностики і, відповідно, покращити результати лікування онкогематологічних захворювань і якість життя хворих, застосовуючи лікарські препарати нового покоління.

«10» 11 2020 р.

Відповідальний за впровадження:

Зав. гематологічним відділенням №2
 Зінченко Валентина Назарівна

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Головний лікар
Комунального закладу Дніпропетровської міської ради
"Дніпропетровська міська багатопрофільна клінічна лікарня №4"



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва розробки: «Комплексна уточнена діагностика онкогематологічних захворювань в групах населення України, постраждалих від наслідків аварії на ЧАЕС» в рамках виконання НДР «Дослідження структури гемобластозів у післячорнобильський період в групах населення України, постраждалих внаслідок дії іонізуючої радіації» (2018-2020рр.) в рамках виконання відомчої тематики «Виявлення маркерів злоякісної трансформації та ідентифікації ознак стовбурових клітин пухлинного пласту з метою ранньої діагностики та прогнозу перебігу хвороби» (2.2.5.415, № держреєстрації 0117u004978 від 09.11.17р.)
(найменування пропозиції щодо впровадження)
2. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України, відділ онкогематології
Поштова адреса: 03022 м. Київ, вул. Васильківська, 45.
Керівник розробки - доктор медичних наук професор Д.Ф. Глузман
Відповідальні виконавці: к.б.н. ст.н.с. С.В. Коваль, к.б.н. ст.н.с. Завелевич М.П., к.б.н. ст.н.с. Фільченков О.О., інж. Поліщук А.С.
(заклад-розробник, поштова адреса, ПІБ авторів)
3. Джерело інформації: Hematological malignancies in Ukraine in post-Chernobyl era: sources of data and their preliminary analysis. Annals of Hematology. <https://doi.org/10.1007/s00277-020-04076-5>.
(назва, вид надання методичних рекомендацій, інформаційні листи, вихідні дані статті)
4. Впроваджено: гематологічне відділення "Дніпропетровської міської багатопрофільної клінічної лікарні №4", м. Дніпро, вул. Близня 31, індекс 49102, тел. (056)-756-01-52, тел.(056)-756-01-57, pkaplan@ukr.net
(найменування ЛПУ, адреса, відділення, де проводилось впровадження)
5. Терміни впровадження: 01.01.2018 р. — 31.12.2020 р.
6. Загальна кількість спостережень — 214 хворих
7. Результат використання пропозицій (кількість спостережень):
позитивний (100%) - 214 хворих
невизначений - -
негативний - -
8. Ефективність впровадження.
Комплексна діагностика дозволяє проводити лікування хворих на онкогематологічні захворювання за міжнародними стандартами з використанням сучасних терапевтичних схем і новітніх лікарських засобів.
9. Зауваження, пропозиції.
Використання в межах стандартних діагностичних досліджень нових технологій, які базуються на досягненнях молекулярної біології, дозволяє підвищити до світового рівень діагностики і, відповідно, покращити результати лікування онкогематологічних захворювань і якість життя хворих завдяки застосуванню лікарських препаратів нового покоління.

« 25 » 11 2020 р.

Відповідальний за впровадження:

Зав. гематологічним відділенням

Додаток Б

Список публікацій здобувача

1. A.S. Polishchuk, M.P. Zavelevich, D.F. Gluzman / Villous lymphocytes in blood and bone marrow in some forms of B-cell lymphoid malignancies // Eureka Life Sciences – 2020. № 5. – p. 29-33. *(Дисертантом проведено аналіз результатів власних досліджень щодо визначення особливостей ідентифікаційної діагностики В-клітинних лімфопроліферативних захворювань субстратними клітинами яких є ворсинчаті лімфоцити, виділення мононуклеарів з периферичної крові та кісткового мозку та постановка імуноцитохімічних реакцій, участь у написанні та оформленні статті).*

2. Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, С.В. Коваль, Т.С. Иванивская, Н.К. Родионова, М.П. Завелевич, Н.И. Украинская, А.С. Полищук, М.С. Швыдка / Хронический лимфолейкоз и острые миелоидные лейкозы в структуре онкогематологических заболеваний у населения Украины в постчернобыльский период // Онкология. – 2017. –Т.19, № 1. – с. 33-40. *(Дисертантом проведено аналіз літературних джерел та результатів власних досліджень щодо визначення особливостей діагностики гемобластозів, виділення мононуклеарів з периферичної крові та кісткового мозку та постановки імуноцитохімічних реакцій, участь у написанні та оформленні статті).*

3. Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, Т.С. Иванивская, А.С. Полищук / Имуноцитохимические маркеры выявления микрометастазов опухолей // Онкология. – 2018 -Т.20 № 4. –с. 287-294. *(Дисертантом проведено аналіз результатів власних досліджень щодо визначення особливостей ідентифікаційної діагностики мікрометастазів пухлин, виділення мононуклеарів з периферичної крові та кісткового мозку та постановка імуноцитохімічних реакцій, участь у написанні та оформленні статті).*

4. T.S. Ivanivska, L.M. Sklyarenko, M.P., Zavelevich, A.A. Philchenkov, S.V. Koval, A.S. Polishchuk, D.F. Gluzman / Immunophenotypic features of leukemic stem cells and bulk of blasts in acute myeloid leukemia // Exp Oncol. – 2019. – V.41, № 3. – p. 207-209. *(Дисертантом проведено аналіз літературних джерел та результатів власних досліджень щодо визначення особливостей ідентифікаційної діагностики різних форм гемобластозів, виділення моноклеарів з периферичної крові та кісткового мозку та постановка імуноцитохімічних реакцій, участь у написанні та оформленні статті).*

5. Современная классификация и диагностика миелодиспластических синдромов. Научно-методическое пособие / Д.Ф. Глузман, Л.М.Скляренко, С.В. Коваль, Т.С. Ивановская, М.П. Завелевич, А.А. Фильченков, А.С. Полищук, Н.К. Родионова. // Киев: ТОВ “НВП “Інтерсервіс”, 2018.– 144 с. *(Дисертантом проведено аналіз літературних джерел та результатів власних досліджень щодо визначення особливостей діагностики онкогематологічних захворювань, постановка імуноцитохімічних реакцій у зразках кісткового мозку, участь у написанні та оформленні посібника).*

6. Современные международные классификации опухолей лимфоидной и кроветворной тканей / Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, С.В. Коваль, Т.С. Иванивская, М.П. Завелевич, Н.И. Украинская, А.С. Полищук, М.С. Швыдка., Л.Н. Гуслицер // Киев: ДИА, 2016.– 48 с. *(Дисертантом проведено аналіз літературних джерел та результатів власних досліджень щодо визначення особливостей диференційної діагностики пухлин лімфоїдної тканини, виділення моноклеарів з периферичної крові та кісткового мозку та постановка імуноцитохімічних реакцій, участь у написанні та оформленні посібника).*

7. Диагностика опухолей кроветворной и лимфоидной тканей (по материалам классификации ВОЗ 2016г.) / Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, С.В. Коваль, Т.С. Иванивская, М.П. Завелевич, Н.И. Украинская, А.С.

Полищук, М.С. Швидка // Київ: ДІА, 2017.– 64 с. *(Дисертантом проведено аналіз літературних джерел та результатів власних досліджень щодо визначення особливостей диференційної діагностики пухлин кровотворної тканини, постановка імуноцитохімічних реакцій у мононуклеарах периферичної крові та кісткового мозку, участь у написанні та оформленні посібника).*

8. Патент № 124850 України на користувача модель, МПК: G01N 33/50 (2006.01). Спосіб ідентифікації неопластичних клітин у спинномозковій рідині / Глузман Д.Ф., Склярєнко Л.М., Іванівська Т.С., Завелевич М.П., Коваль С.В., Поліщук А.С., Швидка М.С.; заявник і власник Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького Національної академії наук України. – u 2017 10912, заявл. 08.11.2017р.; опубл. 25.04.2018р. Бюл. № 8. *(Дисертантом проведено аналіз результатів власних досліджень щодо особливостей ідентифікаційної діагностики неопластичних клітин у спинномозковій рідині, виділення клітин зі спинномозкової рідини, узагальнення отриманих результатів, участь у написанні та оформленні патенту).*

9. Патент № 139194 України на користувача модель, МПК: G01N 33/48 (2006.01). Спосіб ідентифікаційної діагностики бластоїдного варіанту лімфоми з клітин мантії / Глузман Д.Ф., Склярєнко Л.М., Іванівська Т.С., Завелевич М.П., Коваль С.В., Поліщук А.С.; заявник і власник Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького Національної академії наук України. - u 2019 06340, заявл. 06.06.2019р.; опубл. 26.12.2019р. Бюл. № 24. *(Дисертантом проведено аналіз результатів власних досліджень щодо особливостей ідентифікаційної діагностики бластоїдного варіанту лімфоми клітин мантії, виділення мононуклеарів з периферичної крові та кісткового мозку, проведення постановки імуноцитохімічних реакцій, узагальнення отриманих результатів, участь у написанні та оформленні патенту).*

10. Л.М. Скляренко, А.С. Поліщук, Т.С. Іванівська, В.Н. Зінченко, О.О. Підгорна, Д.Ф. Глузман / Імунофенотипова характеристика бластоїдного варіанту лімфоми з клітин мантиї // Онкологія. – 2019. –Т.21, № 2. – с. 113-116. *(Дисертантом проведено аналіз результатів власних досліджень щодо визначення особливостей ідентифікаційної діагностики бластоїдного варіанту лімфоми клітин мантиї, виділення моноклеарів з периферичної крові та кісткового мозку та постановка імуноцитохімічних реакцій, участь у написанні та оформленні статті).*

11. Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, С.В. Коваль, Т.С. Иванивская, М.П. Завелевич, Н.И. Украинская, А.С. Полищук, М.С. Швыдка, Л.Н. Гуслицер / Современные международные классификации опухолей лимфоидной и кроветворной тканей // Лаб. Диагностика. – 2016. –№ 4. – с. 44-49. *(Дисертантом проведено аналіз літературних джерел та результатів власних досліджень щодо визначення особливостей диференційної діагностики пухлин лімфоїдної та кровотворної тканини, виділення моноклеарів з периферичної крові та кісткового мозку та постановки імуноцитохімічних реакцій, участь у написанні та оформленні статті).*

12. А.С. Полищук, Д.Ф. Глузман, Л.М. Скляренко, М.С. Швыдка, Т.С. Иванивская, Н.И. Украинская / Цитоморфологическая и иммуноцитохимическая характеристика В-клеточных неходжкинских лимфом в свете новой классификации ВОЗ (2016 г.) // Тези доповідей I з'їзду Української Асоціації Цитопатологів «Актуальні питання сучасної цитологічної діагностики в Україні», 3-4 квітня 2017. м. Київ. –2017. - с.91.

13. А.С. Поліщук, Л.М. Скляренко / Імуноцитохімічна характеристика клітин при хронічному лімфолейкозі/лімфомі із малих лімфоцитів і моноклональному В-лімфоцитозі // Тези доповідей XIV міжнародної наукової конференції студентів і молодих вчених «Шевченківська весна: Досягнення біологічної науки» 28-31 березня 2018, м. Київ. – 2018. – с.51-52.

14. А.С. Поліщук / Цитоморфологічна та імуноцитохімічна характеристика клітин крові та кісткового мозку при В-клітинній лімфомі маргінальної зони селезінки // Тези доповідей X International Students and Young Scientists Seminar dedicated to the world cancer day. 31 January- 1 February 2019, Kyiv. -2019. – p.91-92.

15. А.С Поліщук, Л.М Скляренко, Т.С Іванівська / Morphology and immunophenotype of lymphoid cells with hairy-like projections of cytoplasm in B-cell lymphoproliferative diseases // Тези доповідей наукова-практичної конференції молодих вчених «Фундаментальна медицина: інтегральні підходи до терапії хворих з онкопатологією» 4-5 лютого 2019, м. Київ. – 2019. – с.79.

16. А.С. Поліщук, Л.М. Скляренко, Т.С. Іванівська / Морфологічна та імунофенотипова характеристика лімфоїдних клітин бластоїдного варіанту лімфоми з клітин мантиї // Тези науково-практичної конференції «Інноваційні технології скринінгу, діагностики та персоніфікованої терапії» 3–4 жовтня 2019, м. Київ. -2019. – с.263

17. А.С. Поліщук / Імунофенотипові маркери клітин кісткового мозку та периферичної крові хворих на В-клітинні неходжкінські лімфоми в фазі лейкоїзації // Науково-практичний семінар для лікарів-гематологів, онкологів і спеціалістів лабораторної медицини «Інноваційні технології лабораторної діагностики в онкогематології» 7–8 жовтня 2019, м. Київ. -2019.

18. А.С. Поліщук / Імунофенотипові маркери клітин периферичної крові та кісткового мозку хворих на В-клітинні неходжкінські лімфоми в фазі лейкоїзації // Науково-практична конференція, з міжнародною участю «Ефективність, якість та доступність сучасної лабораторної медицини в Україні» 23-25 вересня 2020, м. Київ-2020.

Відомості про апробацію результатів дисертації

1. I з'їзд Української Асоціації Цитопатологів «Актуальні питання сучасної цитологічної діагностики в Україні» (Київ, 2017) – усна доповідь, тези.
2. XIV Міжнародна наукова конференція студентів і молодих вчених «Шевченківська весна: Досягнення біологічної науки» (Київ, 2018) – усна доповідь, тези.
3. X International Students and Young Scientists Seminar dedicated to the world cancer day (Київ, 2019) – усна доповідь, тези.
4. Науково-практична конференція молодих вчених «Фундаментальна медицина: інтегральні підходи до терапії хворих з онкопатологією» (Київ, 2019) – усна доповідь, тези.
5. Науково-практична конференція «Інноваційні технології скринінгу, діагностики та персоніфікованої терапії» (Київ, 2019) – тези.
6. Науково-практичний семінар для лікарів-гематологів, онкологів і спеціалістів лабораторної медицини «Інноваційні технології лабораторної діагностики в онкогематології» (Київ, 2019) – усна доповідь.
7. Науково-практична конференція, з міжнародною участю «Ефективність, якість та доступність сучасної лабораторної медицини в Україні» (Київ, 2020) – усна доповідь.