

# НАБЛЮДЕНИЯ ИЗ ПРАКТИКИ

## Трудности диагностики лимфоидных неоплазий у больных с ревматоидным артритом

В.Р.Городецкий<sup>1</sup>, Н.А.Пробатова<sup>2</sup>, О.А.Логвиненко<sup>1</sup>, В.И.Васильев<sup>1</sup>, Ю.В.Сидорова<sup>3</sup>,  
Н.В.Рыжикова<sup>3</sup>, Н.А.Купрышина<sup>2</sup>, Т.Т.Кондратьева<sup>2</sup>, А.И.Павловская<sup>2</sup>, Е.Л.Насонов<sup>1</sup>  
1-НИИР РАМН, 2-ГУ РОИЦ им.Н.Н.Блохина РАМН, 3-ГУ ГИЦ РАМН

### Резюме

**Резюме.** В статье дано подробное описание двух редких случаев лимфоидной неоплазии ( $\alpha\beta$ T-клеточной лейкемии из больших гранулированных лимфоцитов и первичной  $\gamma\delta$ T-клеточной лимфомы селезенки) у больных с ревматоидным артритом (РА). На этих примерах продемонстрированы некоторые дифференциально-диагностические проблемы, которые возникают при постановке диагноза лимфоидных опухолей у больных с РА. Приведен литературный обзор.

**Ключевые слова:** ревматоидный артрит, лимфома селезенки, лейкемия из больших гранулированных лимфоцитов

Вероятность развития различных вариантов лимфоидных неоплазий у больных ревматоидным артритом (РА) возрастает в 1,5-8,7 раза по сравнению с общей популяцией [1-4]. Диагностика лимфоидных опухолей у этих больных может быть затруднена. Это связано с тем, что ряд клинических проявлений лимфоидных неоплазий и РА совпадают. Такие общие проявления РА, как слабость, потеря веса и лихорадка, наблюдаются у 40% пациентов [5-7]. Увеличение лимфатических узлов – частый признак активного РА. По данным С.А.Келли с соавт., реактивная гиперплазия лимфатических узлов наблюдается от 19% до 96% больных с РА [8]. Увеличение селезенки выявляют у 5-10% больных [9]. Анемия наблюдается у 27% больных РА [10]. Однако все вышеперечисленные симптомы характерны также и для различных лимфоидных опухолей. Таким образом, манифестация лимфоидной опухоли может быть неправильно трактована как проявление ревматического заболевания.

T-клеточная лейкемия из больших гранулированных лимфоцитов (T-cell large granular lymphocyte (LGL) leukemia) часто ассоциирована с РА [11,12]. Классификация ВОЗ опухолей гемопоэтических и лимфоидных тканей последнего пересмотра (2008г.) включает T-клеточную лейкемию из больших гра-

нулированных лимфоцитов в подгруппу зрелых периферических T-клеточных опухолей [13]. Эта нозологическая единица является редким лимфопролиферативным заболеванием. В литературе описано только около 400 случаев. Опухолевый субстрат представлен большими гранулированными лимфоцитами, которые имеют выраженную цитоплазму, нежные или грубые азурофильные гранулы и бобовидные или округлые ядра [14-16]. Мужчины и женщины заболевают с одинаковой частотой. Средний возраст пациентов на момент диагноза составляет 55-60 лет, но заболеванию подвержены все возрастные группы [17,18]. В целом, пациенты с T-LGL лейкемией имеют хроническое течение болезни. Медиана выживаемости составляет более 10 лет [17]. Клинические проявления T-LGL лейкемии неявные и обычно связаны с ассоциированными с болезнью нейтропенией и/или анемией [12]. У трети пациентов на момент постановки диагноза клиническая симптоматика отсутствует [16,19]. У остальных нейтропения и, как следствие, рецидивирующая бактериальная инфекция являются наиболее типичным проявлением. Слабость и B-симптомы (повышенная температура тела, ночная потливость, потеря веса) наблюдаются в 20-30% случаев. У 20-50% больных выявляют спленомегалию и у 10-20% пациентов – гепатомегалию [16]. Увеличение лимфатических узлов нехарактерно [16,20]. Более 60% пациентов на момент постановки диагноза имеют абсолютный лимфоцитоз. Опухолевая инфильтрация костного мозга

выявляется у 69-85% больных. Иногда инфильтрация костного мозга опухолевыми клетками может быть выявлена лишь при иммуногистохимическом исследовании [13,16]. В подавляющем большинстве случаев опухолевые клетки являются активированными цитотоксическими Т-лимфоцитами с иммунофенотипом: CD2<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>-</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD57<sup>+</sup>, CD94<sup>+</sup>, TCRαβ<sup>+</sup> (TCR, от англ. T-cell receptor). Опухолевые клетки также экспрессируют ряд компонентов цитоплазматических гранул: перфорин (perforin), гранзим В (granzyme B) и TIA-1 (T-cell intracellular antigen-1) [11,12,20,21].

**Случай 1.**

Больная К.Т.Ю., 48лет (1960г.р.). В 1986г. установлен диагноз: ревматоидный артрит, серопозитивный, ст. IIА, синдром Шегрена. В течение многих лет ежедневно принимала глюкокортикоиды (ГК) (метилпреднизолон 8мг/сут). В сентябре 2007г. в анализе крови были впервые выявлены изменения: гемоглобин (Hb) -120г/л, эритроциты-3,49х10<sup>12</sup>/л, лейкоциты-8,7х10<sup>9</sup>/л, лимфоциты-73% (6.381кл/мкл в абсолютном количестве), нейтрофилы-18% (1.566кл/мкл в абсолютном количестве), моноциты-7%, базофилы-1%, эозинофилы-1%, тромбоциты-476х10<sup>9</sup>/л. В последующих серийных исследованиях крови на фоне нарастания лейкоцитоза (за счет лимфоцитоза) и тромбоцитоза отмечалось прогрессивное снижение уровня гемоглобина и эритроцитов. Больная была многократно консультирована в различных гематологических стационарах г.Москвы. Изменения в крови трактовались в рамках «основного заболевания». Больная поступила под наше наблюдение в апреле 2008г. При обследовании у пациентки наблюдались признаки анемического синдрома, ульнарная девиация кистей. При иммунологическом исследовании: РФ<9,5МЕ/мл (норма до 15МЕ/мл), АЦЦП>100Ед/мл (норма 0,0-5,0Ед/мл), hsCRP-39,2Мг/л (норма 0,0-5,0Мг/л), ANA(HeP-2)-1/1280h+sp (норма<1/160); Anti-SS-A(Ro), Anti-SS-B(La), антитела к dsDNA, anti-Sm, anti-RNP-70 – в пределах нормы. Рентгенологическое исследование кистей и стоп – эрозивный артрит IIIст. В анализе крови уровень гемоглобина составлял 63г/л, эритроциты-1,56х10<sup>12</sup>/л, ретикулоциты-2,5%, лейкоциты-16,48х10<sup>9</sup>/л, лимфоциты-86% (14.172 кл/мкл в абсолютном количестве), нейтрофилы- 8% (1.318 кл/мкл в абсолютном количестве), моноциты-3%, эозинофилы-2%, базофилы-1%, тромбоциты-647х10<sup>9</sup>/л. Увеличения лимфатических узлов, печени, селезенки не выявлено. Цитологическое исследование лимфоцитов периферической крови показало, что часть клеток имело атипичную морфологию. Наблюдались лимфоидные элементы с цитоплазматическими выростами, широкой цитоплазмой и мелкими азурофильными гранулами (фото 1). Иммунофенотипическое исследование лимфоцитов периферической крови выявило, что лимфоцитоз обусловлен увеличением числа Т-клеток с фенотипом CD3<sup>+</sup>, CD7<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>-</sup>, CD56<sup>-</sup>,

TCRαβ<sup>+</sup>. При цитологическом исследовании костного мозга отмечалось расширение эритроидного ростка и снижение числа сегментоядерных нейтрофилов в гранулоцитарном ростке. Дисплазии миелопоэза не отмечено. Количество лимфоцитов было немного увеличено и составляло – 16,6% (норма 4,3-13,7%). При гистологическом исследовании трепанобиоптата выявлена повышенная клеточность костного мозга, видны все ростки гемопоэза, представленные элементами на разных стадиях созревания. На срезах с парафинового блока было проведено иммуногистохимическое исследование костного мозга с использованием антител к CD2, CD3, CD4, CD5, CD8, CD10, CD20, CD38, CD43, CD56, CD138, TIA-1, Granzyme B, Perforin. Выявлена интерстициальная инфильтрация костного мозга лимфоцитами (фото 2), которые экспрессировали: CD3(фото 3), CD8, CD43, Granzyme B (фото 4), TIA-1 (фото 5). С остальными маркерами реакции в лимфоидных клетках были негативными. Наличие клональной перестройки (реарранжировки) Vγ9 гена Т-клеточного рецептора методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в крови подтвердило опухолевую природу Т-клеточной пролиферации (фото 6А). Таким образом, на основании вышеизложенных исследований у больной была диагностирована αβТ-клеточная лейкемия из больших гранулированных лимфоцитов.

Генез анемии рассматривался в рамках лейкемии. Учитывая прогрессирующее нарастание анемии, больной была начата терапия эноксаном (в дозе 100мг/сут per os) и далее малыми дозами метотрексата (10 мг/м<sup>2</sup> (17,5мг) per os 1 раз/нед). Через шесть месяцев терапии получена полная клинико-гематологическая ремиссия: Hb-124г/л, эритроциты-3,39х10<sup>12</sup>/л, лейкоциты-3,16х10<sup>9</sup>/л, лимфоциты-19%, нейтрофилы-76%, тромбоциты-235х10<sup>9</sup>/л). При иммунофенотипировании лимфоцитов периферической крови отмечалась нормализация содержания CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и соотношения CD4/CD8 лимфоцитов. Однако при контрольном исследовании клональности по реарранжировкам генов гамма-цепи Т-клеточного рецептора методом ПЦР в крови наблюдался резидуальный опухолевый клон (фото 6В).

Особенность данного случая заключалась в том, что доминирующим клиническим синдромом была нарастающая анемия, которая ошибочно трактовалась в рамках РА как «анемия хронического воспалительного заболевания». У пациентов с Т-LGL лейкемией в 20% случаев наблюдается анемия с уровнем гемоглобина менее 80г/л [11,12,20]. Патогенез ее различный. Кумбс-позитивная гемолитическая анемия наблюдается очень редко, несмотря на то, что у 12% пациентов с Т-LGL лейкемией выявляют положительную прямую пробу Кумбса [22,23]. Парциальная красноклеточная аплазия характеризуется анемией с низким уровнем ретикулоцитов и отсутствием зрелых предшественников эритро-

цитов в нормоцеллюлярном костном мозге. Она наблюдается у 8-19% пациентов с T-LGL лейкемией [11,24-27]. Однако в большинстве случаев генез анемии при T-LGL лейкемии остается неясным. Есть гипотеза, что опухолевые клетки T-LGL лейкемии могут подавлять рост или непосредственно лизировать предшественники эритроцитов в костном мозге [28]. Предшественники эритроцитов обычно теряют антигены HLA I класса в течение созревания. Т-клетки или NK-клетки экспрессируют KIR (от англ. killer immunoglobulin-like receptor), которые ингибируют цитотоксичность, если клетки-мишени экспрессируют специфические антигены HLA I класса. Потеря этих антигенов на созревающих эритроидных предшественниках делает их восприимчивыми к уничтожению клетками LGL лейкемии [28,29].

В нашем случае данных за парциальную красноклеточную аплазию не было. Наоборот, при исследовании костного мозга наблюдалась умеренная гиперплазия эритроидного ростка. По данным миелограммы, сумма клеток эритроидного ряда составляла 31,8 (норма 14,5-26,5). Увеличение уровня эритроидных предшественников в костном мозге у пациентов с T-LGL лейкемией отмечают довольно часто [16]. Нормальные уровни неконъюгированного билирубина и лактатдегидрогеназы, а также отрицательная прямая и непрямая проба Кумбса противоречили диагнозу аутоиммунной гемолитической анемии. Принимая во внимание, что анемия была нормоцитарной, нормохромной, уровни сывороточного железа и ферритина были в пределах нормы, железодефицитный генез анемии также был исключен. Безусловно, полностью исключить компонент «анемии хронического воспалительного заболевания» у нашей пациентки не представляется возможным. Однако, принимая во внимание быстрое снижение уровня гемоглобина с 120г/л до 60г/л за семь месяцев на фоне манифестации T-LGL лейкемии, мы трактовали ее генез в рамках T-LGL лейкемии.

Необходимо обратить внимание на то, что, несмотря на нормализацию на фоне терапии формулы крови и содержания CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов (260кл/мкл) (норма 300-800кл/мкл), при молекулярном исследовании был обнаружен опухолевый клон. В прошлом необходимым условием для постановки диагноза T-LGL лейкемии было наличие лимфоцитоза из больших гранулированных Т-лимфоцитов свыше 2,0x10<sup>9</sup>/л (т.е. 2000 кл/мкл) длительностью более шести месяцев. В соответствии с принятыми в настоящее время критериями постановки диагноза, наличие клональности T-LGL, а не абсолютное количество больших гранулированных лимфоцитов, необходимо для постановки диагноза [14, 30-32].

Увеличение селезенки у пациентов с системными ревматическими заболеваниями и, в частности, с РА требует проведения дифференциального

диагноза с рядом гематологических и инфекционных заболеваний, а также реактивной гиперплазией селезенки в рамках активности аутоиммунного процесса. Для постановки правильного диагноза часто требуется интеграция клинических данных, иммунологических и молекулярных методов исследования.

#### Случай 2.

Больная Р.Е.И., 70лет (1938г.р.). В 1991г. установлен диагноз РА, серопозитивный. Иммуносупрессивной терапии не получала. С марта 2007г. стала отмечать снижение веса при сохраненном аппетите. В мае 2007г. выявлено увеличение селезенки (+2см от края реберной дуги), лейкопения с абсолютной нейтропенией. Больная наблюдалась в различных гематологических учреждениях г.Москвы. Увеличение селезенки и нейтропения трактовались в рамках синдрома Фелти. Пациентка поступила под наше наблюдение в сентябре 2008г. К этому времени потеря веса составила более 15кг. При осмотре отмечалась ульнарная девиация кистей, выраженная спленомегалия (нижний полюс селезенки спускался в малый таз), гепатомегалия, периферические лимфатические узлы не пальпировались. Определялась IV Rø-стадия РА. В анализе крови Нв—85г/л, эритроциты—1,92x10<sup>12</sup>/л, лейкоциты — 1,1x10<sup>9</sup>/л, палочкоядерные нейтрофилы—12%, сегментоядерные нейтрофилы—4%, базофилы—2%, моноциты—32%, лимфоциты—50%, тромбоциты—139x10<sup>9</sup>/л. Биохимический анализ крови — без особенностей. Вирусы гепатитов В и С не выявлены.

При морфологическом, цитохимическом, иммунологическом и молекулярном (ПЦР анализ клональности по реарранжировкам генов гамма-цепи Т-клеточного) исследованиях крови и костного мозга данных за миелопролиферативное, лимфо-пролиферативное и инфекционное заболевание не получено. По данным миелограммы в гранулоцитарном ряду отмечалась задержка созревания на стадии миелоцитов. При иммунохимическом исследовании белков сыворотки и крови выявлена поликлональная гипергаммаглобулинемия с повышением уровня иммуноглобулинов G и A; увеличение количества циркулирующих иммунных комплексов; признаки воспалительной диспротеинемии с повышением уровня СРБ; повышено содержание β2-микроглобулина. Патологической секреции не обнаружено. По данным компьютерной томографии лимфатические узлы брюшной полости и забрюшинного пространства не увеличены, печень увеличена в размерах, нижний край ее правой доли на 5 см выступает из-под края реберной дуги, уплотнена, гомогенной структуры. Размеры печени — 15,5x16,2x18,2см. Расширение воротной вены до 2,5см. Селезенка значительно увеличена в размерах — 15,4x9,7x25,2см, нижний полюс ее расположен на 6,5см ниже крыла подвздошной кости, гомогенной структуры.

Клиническая картина (быстрое увеличение раз-

меров селезенки в отсутствии других экстраартикулярных проявлений РА, гигантские размеры селезенки) послужила основанием для предположительного диагноза лимфома селезенки (без уточнения нозологической формы). В октябре 2008г с диагностической и лечебной целью была выполнена спленэктомия.

При гистологическом исследовании селезенки белая пульпа представлена фолликулами преимущественно со светлыми центрами размножения. Красная пульпа полнокровна, тяжи красной пульпы инфильтрированы небольшими лимфоидными клетками с округло-неправильными ядрами, среди которых встречаются более крупные клетки. Инfiltrат не «плотный», выражен умеренно (фото 7;8). В красной пульпе встречались небольшие очаговые скопления плазматических клеток. На срезах с парафиновых блоков проведено иммуногистохимическое исследование с использованием антител к: CD2, CD3, CD4, CD5, CD8, CD10, CD16, CD20, CD23, CD38, CD43, CD56, CD57, CD79a, CD138, BCL-2, IgM, IgD, легким цепям kappa(κ) и lambda(λ), TIA-1, Granzyme B, Perforin, TCRαβ, Ki67. Клетки фолликулов экспрессировали CD20, CD79a. Клетки реактивных центров экспрессировали CD10, не экспрессировали BCL-2, характеризовались высокой пролиферативной активностью (по Ki67). Клетки зоны мантии экспрессировали CD5, BCL-2, IgM, IgD. Лимфоидные элементы, инфильтрировавшие тяжи красной пульпы, экспрессировали CD2, CD3 (фото 9), CD16, CD43, TIA-1 (фото10). Единичные CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> лимфоидные клетки располагались дискретно. CD138<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup> плазматические клетки экспрессировали κ- и λ- легкие цепи почти в равных соотношениях. Эндотелий синусов селезенки экспрессировал CD8 (фото11).

Исследование клональности по реарранжировкам генов гамма-цепи Т-клеточного рецептора методом ПЦР в селезенке установило биаллельную клональную реарранжировку в генах Vγ2-8 и Vγ10 (фото12).

Гистологическое исследование интраоперационного биоптата печени выявило ткань печени обычного строения с сохранением дольковой и трабекулярной гистоархитектоники. В просвете капилляров наряду с гранулоцитами имелись и мелкие лимфоидные клетки.

Таким образом, на основании вышеизложенных исследований больной была диагностирована Т-клеточная лимфома селезенки.

Следует отметить, что уже через несколько дней после спленэктомии картина периферической крови практически полностью нормализовалась: Нв -116г/л, эритроциты-4,3x10<sup>12</sup>/л, лейкоциты-8,5x10<sup>9</sup>/л, палочкоядерные нейтрофилы-7%, сегментоядерные нейтрофилы-58%, лимфоциты-22%, моноциты-11%, эозинофилы-2%, тромбоциты-336x10<sup>9</sup>/л. Больная стала постепенно набирать вес

(за 3 месяца – 3кг). Однако вскоре после удаления селезенки у пациентки появился выраженный болевой синдром, покраснение, отечность и утренняя скованность мелких суставов кистей, чего не наблюдалось с момента выявления спленомегалии (май 2007г.). При иммунологическом исследовании: РФ-120,2МЕ/мл (норма до 15МЕ/мл), АЦЦП>100Ед/мл (норма 0,0-5,0Ед/мл), Anti-SS-A(Ro), Anti-SS-B(La), ANA(Нep-2), С3с, С4 – в пределах нормы. Состояние расценено как активация РА. С декабря 2008г больной были назначены малые дозы метотрексата (15мг/нед per os) и нестероидные противовоспалительные препараты.

Синдром Фелти характеризуется сочетанием РА, спленомегалии и нейтропении. Гистологическое исследование селезенки при синдроме Фелти выявляет неспецифические изменения, связанные главным образом с гиперспленизмом [33]. Хотя с формальной точки зрения наша пациентка удовлетворяла критериям синдрома Фелти, однако отсутствие клинической активности РА наряду с быстрым нарастанием размеров селезенки, ее плотность и гигантские размеры (нижний полюс находился в малом тазу) свидетельствовали скорее в пользу поражения селезенки опухолевым процессом. Спленомегалия является доминирующим клиническим симптомом некоторых миелоидных и лимфоидных опухолей, которые отличаются между собой по прогнозу и лечению. Исследование периферической крови и костного мозга позволило исключить миелоидную природу опухоли. Однако отсутствие морфологического субстрата при исследовании периферической крови и костного мозга не позволяло исключить лимфоидную опухоль и корректно установить диагноз у нашей больной до спленэктомии. Морфоиммуногистохимическое исследование селезенки выявило инфильтрацию красной пульпы цитотоксическими (TIA-1<sup>+</sup>), CD4<sup>-</sup>, CD8<sup>-</sup>, TCRαβ<sup>-</sup> Т-лимфоцитами. Установление клональности по реарранжировкам генов γ-цепи Т-клеточного рецептора при молекулярном исследовании ткани селезенки подтвердило опухолевый характер пролиферации.

Спленомегалия является ключевой клинической чертой трех Т-клеточных лимфоидных опухолей: гепатоспленической Т-клеточной лимфомы, Т-клеточной пролимфоцитарной лейкемии и Т-клеточной лейкемии из больших гранулированных лимфоцитов [34,35].

Т-клеточная пролимфоцитарная лейкемия (Т-PLL от англ. T-cell prolymphocytic leukemia) является агрессивным заболеванием с медианой общей выживаемости равной семи месяцам [36]. Диагноз основывается на выявлении в крови и костном мозге мелких и среднего размера лимфоидных клеток. Эти клетки имеют базофильную цитоплазму (без грануляций) и круглое, овальное или с неровными контурами ядро с выраженной нуклеолой. У большинства пациентов уровень лимфоцитов в перифе-

рической крови превышает  $100 \times 10^9/\text{л}$  ( $100.000/\text{мкл}$ ). У пациентов с T-PLL наблюдаются спленомегалия (в 75% случаев), лимфаденопатия (в 50% случаев), кожные инфильтраты (у 25% больных) и в 15% случаев – выпот в плевральной полости [13,19,36]. Инфильтрация костного мозга является универсальной чертой T-PLL [37,38]. Иммунофенотип опухолевых клеток соответствует зрелым пост-тимическим T-лимфоцитам: CD2<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>, CD5<sup>+</sup>, CD7<sup>+</sup>, TdT<sup>-</sup>, CD1a<sup>-</sup>. Около 60% случаев являются CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>, в 25% случаев клетки ко-экспрессируют CD4 и CD8 и в 15% случаев – опухолевые клетки CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> [13,36]. Опухолевые клетки не экспрессируют протеины цитотоксических гранул (TIA-1, перфорин, гранзимы) и NK-клеточные маркеры. Гистологическая картина селезенки при T-PLL демонстрирует инфильтрацию пролимфоцитами красной пульпы с инвазией опухолевых клеток в белую пульпу, селезеночные сосуды и в капсулу [34]. Однако гистологическое исследование селезенки обычно не требуется для постановки диагноза. В большинстве случаев для диагностики T-PLL достаточно исследования периферической крови, которое показывает значительное увеличение уровня лимфоцитов с типичной морфологией и иммунофенотипом.

Данные, необходимые для диагноза T-PLL, в нашем случае отсутствовали. В периферической крови наблюдалась лимфопения. Пролимфоциты в периферической крови и костном мозге отсутствовали. Гистологическое исследование селезенки демонстрировало инфильтрацию красной пульпы небольшими T-лимфоидными клетками с конденсированным хроматином и без видимых нуклеол. Клетки не проникали в селезеночные сосуды и белую пульпу. Иммунофенотип опухолевых клеток отличался от иммунофенотипа опухолевых клеток при T-PLL. В нашем случае T-клетки были CD4<sup>-</sup>, CD8<sup>-</sup>, TCRαβ<sup>-</sup> и экспрессировали NK-клеточный маркер CD16 и белок цитотоксических гранул TIA-1.

Большинство T-клеточных опухолей экспрессируют αβT-клеточный рецептор. Лишь в редких случаях опухолевые T-лимфоциты экспрессируют γδT-клеточный рецептор. К сожалению, в нашем случае мы не имели возможности непосредственного исследования экспрессии γδTCR на свежемороженом материале для прямого подтверждения γδT-клеточной природы опухоли. Однако отсутствие экспрессии T-лимфоцитами αβTCR может косвенно свидетельствовать в пользу γδT-клеточной природы опухоли у нашей пациентки [39]. Большинство нормальных T-лимфоцитов, которые экспрессируют γδTCR, являются также CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup> [35,40,41]. Отсутствие экспрессии опухолевыми лимфоцитами CD4 и CD8 в нашем случае также может служить дополнительным аргументом в пользу γδT-клеточной природы опухоли. Необходимо, однако, отметить, что сама по себе реарранжировка генов γ-цепи TCR не является

достаточным условием для установления экспрессии T-лимфоцитами γδT-клеточного рецептора. Реарранжировка генов γ-цепи TCR наблюдается во всех случаях T-клеточной лейкемии из больших гранулированных лимфоцитов, вне зависимости от типа экспрессируемых рецепторов (αβ или γδ) [13]. Аналогично, реарранжировку генов γ-цепи TCR выявляют в 75% случаев αβT-клеточной гепатоспленической лимфомы [42].

Другой лимфоидной опухолью, с которой необходимо проведение дифференциального диагноза в нашем случае, является гепатоспленическая T-клеточная лимфома. Эта форма лимфомы поражает преимущественно молодых мужчин (средний возраст 35 лет) и имеет агрессивное течение (медиана выживаемости менее одного года). Лимфома характеризуется выраженной спленомегалией, обычно с гепатомегалией и системными симптомами. Увеличение лимфатических узлов не характерно. Тромбоцитопения является характерной чертой гепатоспленической T-клеточной лимфомы. Тромбоцитопения связана с активностью болезни и наблюдается даже у пациентов после спленэктомии. Наличие опухолевых клеток в периферической крови во время постановки диагноза нехарактерно. Поражение костного мозга (преимущественно интрасинуоидальное) наблюдается практически во всех случаях. При морфологическом и иммуногистохимическом исследовании селезенки выявляют инфильтрацию опухолевыми клетками синусоидов и тяжелой красной пульпы со значительной редукцией или полной атрофией белой пульпы. Опухолевые клетки в большинстве случаев имеют иммунофенотип цитотоксических γδT-лимфоцитов: CD2<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>, CD5<sup>-</sup>, CD7<sup>+</sup>, CD16<sup>+/-</sup>, TCRγδ<sup>+</sup>, TCRαβ<sup>-</sup>, CD56<sup>+/-</sup>, CD4<sup>-</sup>, CD8<sup>+/-</sup>, TIA-1<sup>+</sup> [13,35,39,43,44,45,46,47]. Они обычно не экспрессируют эффекторные цитотоксические протеины гранзим В и перфорин, то есть являются функционально незрелыми [45,48]. До 20% случаев гепатоспленических T-клеточных лимфом возникает у пациентов с хронической иммуносупрессией (наиболее часто в связи с длительным приемом иммуносупрессивных препаратов) или пролонгированной антигенной стимуляцией [13].

Массивность спленомегалии у нашей больной, γδT-клеточный иммунофенотип и функциональная незрелость опухолевых цитотоксических клеток (лимфоциты экспрессировали TIA-1, но реакции на перфорин и гранзим В были отрицательными) – все это могло быть трактовано в пользу диагноза гепатоспленической γδT-клеточной лимфомы. Однако достаточно доброкачественное течение лимфоидной опухоли, возраст, пол, отсутствие тромбоцитопении и вовлечения костного мозга в опухолевый процесс – противоречат этому диагнозу. Кроме того, в отличие от картины поражения селезенки при гепатоспленической T-клеточной лимфоме, в нашем случае опухолевая инфильтрация наблюда-

лась преимущественно в тяжах красной пульпы, а синусоиды практически не содержали опухолевых клеток (фото 11). Белая пульпа селезенки была интактна и в ней наблюдались фолликулы с центрами размножения (фото 7), что также нехарактерно для гепатоспленической Т-клеточной лимфомы.

В литературе описано менее 70 случаев  $\gamma\delta$ Т-клеточной лейкемии из больших гранулированных лимфоцитов [39,49-51]. Гамма-дельта Т-LGL лейкемия не имеет характерных клинических отличий от  $\alpha\beta$ Т-LGL лейкемии, за исключением того, что при  $\gamma\delta$ Т-клеточном варианте лейкемии чаще встречаются опухолевые лимфоциты с отсутствием грануляции [16,35,39]. Иммунофенотип опухолевых клеток при  $\gamma\delta$ Т-клеточном варианте Т-LGL лейкемии несколько отличается от иммунофенотипа опухолевых клеток при  $\alpha\beta$ Т-LGL лейкемии. В 40% случаев опухолевые клетки  $\gamma\delta$ Т-LGL лейкемии имеют фенотип CD4-CD8- [13,51]. В классическом варианте опухолевые клетки лейкемии из больших гранулированных лимфоцитов являются функционально зрелыми, активированными цитотоксическими клетками. То есть, помимо белка TIA-1, они экспрессируют также перфорин и гранзим В. В нашем же случае опухолевые клетки экспрессировали только белок TIA-1, то есть являлись функционально незрелыми. В литературе редко приводится описание экспрессии белков цитотоксических гранул в клетках  $\gamma\delta$ Т-LGL лейкемии. F.Vega с соавт. приводят описание двух случаев  $\gamma\delta$ Т-LGL лейкемии, опухолевые клетки которых экспрессировали TIA-1, но не экспрессировали гранзим В [39]. Таким образом, можно предположить, что в ряде случаев опухолевые клетки  $\gamma\delta$ Т-LGL лейкемии являются функционально неактивными. Гистологическая картина поражения селезенки у пациентов с Т-LGL лейкемией характеризуется преимущественным вовлечением тяжелой (по сравнению с синусоидами) красной пульпы и сохранностью белой пульпы селезенки, часто с наличием в ней реактивных фолликулов [16,34]. Таким образом, гистологическая картина поражения селезенки, иммунофенотип опухолевых клеток, связь с аутоиммунным заболеванием — все это позволяет классифицировать наш случай в рамках  $\gamma\delta$ Т-LGL

лейкемии. Однако необходимо отметить некоторые особенности, наблюдавшиеся у нашей пациентки. Несмотря на использование различных методов исследования (в том числе и ПЦР), опухолевые лимфоциты ни в крови, ни в костном мозге выявить не удалось, что нехарактерно для Т-LGL лейкемии. Таким образом, использование термина «лейкемия» в данном случае представляется неоправданным. Кроме того, хотя при Т-LGL лейкемии у 50% больных наблюдается увеличение селезенки, оно обычно умеренное и не достигает таких размеров, как у нашей больной [13,52]. При Т-LGL лейкемии нейтропения в первую очередь является следствием подавления продукции нейтрофилов в костном мозге в результате Fas/Fas-лиганд взаимодействия и вызванного им апоптоза предшественников нейтрофилов и не корректируется удалением селезенки [16,53,54]. У нашей пациентки генез нейтропении наиболее вероятно был связан с гиперспленизмом и/или выработкой антинейтрофильных антител.

Таким образом, лимфоидную опухоль в нашем случае трудно однозначно классифицировать. Формально ее можно отнести к категории периферических Т-клеточных лимфом, неспецифицированных. Эта группа зрелоклеточных лимфоидных неоплазий является крайне разнородной. По существу, туда попадают зрелоклеточные Т-клеточные лимфомы, которые не удовлетворяют критериям других выделенных и хорошо охарактеризованных вариантов периферических зрелоклеточных лимфом. Однако нам представляется оправданным введение и использование термина «первичная  $\gamma\delta$ Т-клеточная лимфома селезенки» для описанной нами формы. Дальнейшее накопление материала позволит более точно охарактеризовать эту лимфоидную опухоль и оценить ее нозологическую самостоятельность.

С клинической точки зрения интересным является антагонизм между развитием лимфомы и клинической активностью ревматоидного артрита в случае №2. Механизмы лежащие в основе взаимодействия лимфоидной опухоли и системных ревматологических заболеваний, остаются во многом малоизученными и требуют дальнейшего исследования.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Gridley G, McLaughlin JK, Ekblom A, et al. Incidence of cancer among patients with rheumatoid arthritis. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1993, 17, 85, 307-11.
2. Mellemkjaer L, Linet MS, Gridley G, et al. Rheumatoid arthritis and cancer risk. *Eur. J. Cancer.*, 1996, 32A, 1753-57.
3. Matteson JL, Hickey AR, Maquire L, et al. Occurrence of neoplasia in patients with rheumatoid arthritis enrolled in a DMARD registry. *J. Rheumatol.*, 1991, 18, 809-14.
4. Prior P. Cancer and rheumatoid arthritis: Epidemiologic considerations. *Am. J. Med.*, 1985, 78 (S1A), 15-21.
5. Turesson C, Fallon WM, Crowson CS, et al. Incidence of extraarticular disease manifestations in a population based cohort of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2000, 43 (9S), S152.
6. Turesson C, Fallon WM, Crowson CS, et al. Occurrence of extraarticular disease manifestations is associated with excess mortality in a community based cohort of patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*,

- 2002, 29(1), 62-7.
7. Turesson C, Jacobsson L, Bergstrom U. Extraarticular rheumatoid arthritis: prevalence and mortality. *Rheumatology (Oxford)*, 1999, 38(7), 668-74.
  8. Kelly CA, Malcolm AJ, Griffiths I. Lymphadenopathy in rheumatic patients. *Ann. Rheum. Dis.*, 1987, 46(3), 224-7.
  9. Isomaki H, Koivisto O, Kiviniitty K. Splenomegaly in rheumatoid arthritis. *Acta Rheum. Scand.*, 1971, 17(1), 23-6.
  10. Baer AN, Dessypris EN, Krantz SB. The pathogenesis of anemia in rheumatoid arthritis: a clinical and laboratory analysis. *Semin. Arthritis Rheum.*, 1990, 19(4), 209-23.
  11. Lamy T, Loughran TP Jr. Current concepts: large granular lymphocyte leukemia. *Blood Rev.*, 1999, 13, 230-40.
  12. Loughran TP Jr. Clonal diseases of large granular lymphocytes. *Blood*, 1993, 82, 1-4.
  13. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Ed. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. 4<sup>th</sup> Edition. International agency for research on cancer. Lyon, 2008.
  14. Loughran TP Jr, Starkebaum G. Clinical features in large granular lymphocytic leukemia [letter]. *Blood*, 1987, 69, 1786.
  15. McKenna RW, Parkin J, Kersey JH, et al. Chronic lymphoproliferative disorder with unusual clinical, morphologic, ultrastructural and membrane surface marker characteristics. *Am. J. Med.*, 1977, 62, 588-96.
  16. Lamy T, Loughran TP Jr. Clinical features of large granular lymphocyte leukemia. *Semin. Hematology*, 2003, 40(3), 185-95.
  17. Rose MG, Berliner N. T-cell large granular lymphocyte leukemia and related disorders. *Oncologist*, 2004, 9, 247-58.
  18. Miranda EG, Loughran TP Jr. Chronic T-cell and NK-cell leukemias. In Cheson BD, ed. *Chronic Lymphoid Leukemias*. New York, NY: Marcel Dekker, 2001, 543-65.
  19. Ravandi F, O'Brien S. Chronic lymphoid leukemias other than chronic lymphocytic leukemia: diagnosis and treatment. *Mayo Clin. Proc.*, 2005, 80(12), 1660-74.
  20. Dhodapkar MV, Li CY, Lust JA, et al. Clinical spectrum of clonal proliferations of T- large granular lymphocytes: a T-cell clonopathy of undetermined significance? *Blood*, 1994, 84, 1620-7.
  21. Oshimi K, Shinkai Y, Okumura K, et al. Perforin gene expression in granular lymphocyte proliferative disorders. *Blood*, 1990, 75, 704-8.
  22. Bassan R, Pronesti M, Buzzetti M, et al. Autoimmunity and B-cell dysfunction in chronic proliferative disorders of large granular lymphocytes/natural killer cells. *Cancer*, 1989, 63, 90-5.
  23. Gentile TC, Loughran TP. Resolution of autoimmune hemolytic anemia following splenectomy in CD3+ large granular lymphocyte leukemia. *Leuk. Lymphoma*, 1996, 23, 365-70.
  24. Kouides PA, Rowe JM. Large granular lymphocyte leukemia presenting with both amegakaryocytic thrombocytopenic purpura and pure red cell aplasia. *Am. J. Hematol.*, 1995, 49, 232-6.
  25. Go RS, Lust JA, Phyllyk RL. Aplastic anemia and pure red cell aplasia associated with large granular lymphocyte leukemia. *Semin. Hematology*, 2003, 40(3), 196-200.
  26. Kwong YL, Wong KF. Association of pure red cell aplasia with T large granular lymphocyte leukemia. *J. Clin. Pathol.*, 1998, 51, 672-5.
  27. Go RS, Li CY, Tefferi A, et al. Acquired red cell aplasia associated with lymphoproliferative disease of granular T lymphocytes. *Blood*, 2001, 98, 483-5.
  28. Fisch P, Handgretinger R, Schaefer HE. Pure red cell aplasia. *Br. J. Haematol.*, 2000, 111, 1010-22.
  29. Nadeau L, Meyerson H, Warren G, et al. A sustained response to low dose interferon-alpha in case of refractory pure red cell aplasia. *Eur. J. Haematol.*, 2004, 73, 300-3.
  30. Semenzato G, Zambello R, Starkebaum G, et al. The lymphoproliferative disease of granular lymphocytes: update criteria for diagnosis. *Blood*, 1977, 89, 256-60.
  31. Semenzato G, Pandolfi F, Chisesi, et al. The lymphoproliferative disease of granular lymphocytes: a heterogeneous disorder ranging from indolent to aggressive conditions. *Cancer*, 1987, 60, 2971-8.
  32. Oshimi K. Granular lymphocyte proliferative disorders: report of 12 cases and review of the literature. *Leukemia*, 1988, 2, 617-27.
  33. Wilkins BS, Wright DH. *Illustrated pathology of the spleen*. Cambridge. University press., 2000, 56-7.
  34. Osuji N, Matutes E, Catovsky D, et al. Histopathology of the spleen in T-large granular lymphocyte leukemia and T-cell prolymphocytic leukemia. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2005, 29, 935-41.
  35. Gaulard P, Belhadj K, Reyes F.  $\gamma\delta$ T-cell lymphomas. *Semin. Hematology*, 2003, 40, 233-43.
  36. Matutes E, Brito-Babapulle V, Swansbury J, et al. Clinical and laboratory features of 78 cases of T-prolymphocytic leukemia. *Blood*, 1991, 78, 3269-74.
  37. Nieto LH, Lampert IA, Catovsky D. Bone marrow histological patterns in B-cell and T-cell prolymphocytic leukemia. *Hematologic Pathology*, 1989, 3, 79-84.
  38. Hoyer JD, Ross CW, Li CY, et al. True T-cell chronic lymphocytic leukemia: a morphologic and immunophenotypic study 25 cases. *Blood*, 1995, 86, 1163-9.
  39. Vega F, Medeiros LJ, Gaulard P. Hepatosplenic and other  $\gamma\delta$  T-cell lymphomas. *Am. J. Clin. Pathol.*, 2007, 127, 869-80.
  40. Wolf-Peeters CDe, Achten R.  $\gamma\delta$  T-cell lymphomas: a homogeneous entity? *Histopathology*, 2000, 36, 294-305.
  41. Hayday AC.  $\gamma\delta$  cell: a right time and right place for a conserved third way of protection. *Ann. Rev. Immunol.*,

- 2000, 18, 975-1026.
42. Macon WR, Levy NB, Kurtin PJ, et al. Hepatosplenic alphabeta T-cell lymphomas: a report of 14 cases and comparison with hepatosplenic gammadelta T-cell lymphomas. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2001, 25, 285-96.
  43. Dogan A, Morice WG. Bone marrow histopathology in peripheral T-cell lymphomas. *Br. J. Haematol.*, 2004, 127, 140-54.
  44. Farcet JP, Gaulard P, Marolleau JP, et al. Hepatosplenic T-cell lymphoma: sinusal/sinusoidal localization of malignant cells expressing the T-cell receptor gamma delta. *Blood*, 1990, 75, 2213-19.
  45. Cooke CB, Krenacs L, Stetler-Stevenson M, et al. Hepatosplenic T-cell lymphoma: a distinct clinicopathologic entity of cytotoxic gamma delta T-cell origin. *Blood*, 1996, 88, 4265-74.
  46. Weidmann E. Hepatosplenic T-cell lymphoma. A review on 45 cases since the first report describing the disease as a distinct lymphoma entity in 1990. *Leukemia*, 2000, 14, 991-7.
  47. Belhadj K, Reyes F, Farcet JP, et al. Hepatosplenic gammadelta T-cell lymphoma is a rare clinicopathologic entity with poor outcome: report on a series of 21 patients. *Blood*, 2003, 102, 4261-9.
  48. Boulland ML, Kanavaros P, Wechsler J, et al. Cytotoxic protein expression in natural killer cell lymphomas and in  $\alpha\beta$  and  $\gamma\delta$  peripheral T-cell lymphomas. *J. Pathol.*, 1997, 183, 432-9.
  49. Shichishima T, Kawaguchi M, Ono N, et al.  $\gamma\delta$  T-cell large granular lymphocyte (LGL) leukemia with spontaneous remission. *Am. J. Hematol.*, 2004, 75, 168-72.
  50. Zenibayashi M, Saigo K, Chayahara N, et al. Gamma/delta T-cell receptor type granular lymphocyte proliferative disorder associated with rheumatoid arthritis. *J. Inter. Med. Research*, 2005, 33, 583-9.
  51. Sandberg Y, Almeida J, Gonzalez M, et al. TCR $\gamma\delta^+$  large granular lymphocyte leukemias reflect the spectrum of normal antigen-selected TCR $\gamma\delta^+$  T-cells. *Leukemia*, 2006, 20, 505-13.
  52. O Malley DP. T-cell large granular leukemia and related proliferations. *Am. J. Clin. Pathol.*, 2007, 127, 850-9.
  53. Liu JH, Wei S, Lamy T, et al. Chronic neutropenia mediated by Fas-ligand. *Blood*, 2000, 95, 3219-22.
  54. Burks EJ, Loughran TP. Pathogenesis of neutropenia in large granular lymphocyte leukemia and Felty syndrome. *Blood Rev.*, 2006, 20, 245-66.

Поступила 03.02.09

#### Abstract

**V.R. Gorodetsky, N.A. Probatova, O.A. Logvinenko, V.I. Vasiljev, Y.V. Sidorova, N.V. Ryzikova, N.A. Kupryshina, T.T. Kondratjeva, A.I. Pavlovskaya, E.L. Nasonov**

**Difficulties of lymphoid neoplasia diagnosis in patients with rheumatoid arthritis**

**Summary.** In the article is presented a detailed description of two rare cases of lymphoid neoplasia ( $\alpha\beta$ T-cell large granular lymphocyte leukaemia and primary  $\gamma\delta$ T-cell lymphoma of the spleen) in patients with rheumatoid arthritis. These examples illustrate several diagnostic problems we often face while searching for lymphoid tumors in patients with rheumatoid arthritis. A literature review is attached.

**Ключевые слова:** *rheumatoid arthritis, large granular lymphocyte leukaemia, lymphoma of the spleen*