

Танзила Хамзатовна Оздоева¹, Дмитрий Александрович Быков²,
Анна Анатольевна Чекал³, Сергей Борисович Петерсон⁴,
Алла Михайловна Ковригина⁵, Николай Николаевич Тупицын⁶,
Гаяне Сергеевна Тумян⁷, Ирина Владимировна Поддубная⁸,
Татьяна Тихоновна Кондратьева⁹, Пярвин Айдыновна Зейналова¹⁰,
Олег Александрович Коломейцев¹¹, Евгений Николаевич Сорокин¹²,
Джелил Шевкетович Османов¹³

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МАРКЕРОВ ГЕРМИНАЛЬНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ПРИ ДИФФУЗНОЙ В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЕ

¹Аспирант, кафедра онкологии ГОУ ВПО РГМУ (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

²Аспирант, кафедра онкологии ММА им. И. М. Сеченова (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

³Аспирант, НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН
(115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁴Профессор, г. м. н., заведующий, кафедра онкологии ГОУ ВПО РГМУ
(115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁵Д. б. н., ведущий научный сотрудник, отдел патологической анатомии НИИ клинической онкологии
РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁶Профессор, г. м. н., заведующий, лаборатория иммунологии гемопоэза НИИ клинической онкологии
РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁷Д. м. н., ведущий научный сотрудник, отделение химиотерапии
гемобластозов НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН
(115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁸Член-корреспондент РАМН, профессор, г. м. н., заведующая, кафедра онкологии ГОУ ДПО РМАПО
(115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

⁹Д. м. н., ведущий научный сотрудник, лаборатория клинической цитологии НИИ клинической
онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

¹⁰К. м. н., научный сотрудник, отделение химиотерапии гемобластозов НИИ клинической онкологии
РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

¹¹Врач-онкогематолог, отделение химиотерапии гемобластозов НИИ клинической онкологии
РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

¹²К. м. н., старший научный сотрудник, отделение химиотерапии гемобластозов НИИ клинической
онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

¹³Профессор, г. м. н., заведующий, отделение химиотерапии гемобластозов НИИ клинической
онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, г. 24)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН,
отделение химиотерапии гемобластозов НИИ клинической онкологии, Оздоева Танзила Хамзатовна;
e-mail: tanzila-o@yandex.ru

Целью настоящего исследования явилась оценка прогностического значения маркеров герминальной дифференцировки при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. В работе проведен комплексный морфоиммунологический анализ опухолевой ткани у 62 взрослых больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой в возрасте от 15 до 81 года (медиана 54 года). Иммуногистохимическое исследование проводили по стандартной методике, статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием программы SPSS на основе созданной базы данных. Кривые выживаемости построены с использованием методики Каплана—Мейера. Анализ экспрессии маркеров герминальной дифференцировки проведен в соответствии с иммуногистохимическим алгоритмом, предложенным в 2004 г. На основании изучения экспрессии антигена CD10, а также транскрипционных факторов BCL-6 и MuM1 выделены иммуногистохимические подгруппы диффузной В-крупноклеточной лимфомы:

герминального (GCB-тип) и негерминального (non-GCB-тип) происхождения. Клиническое значение результатов иммуногистохимического изучения опухолевой ткани с обязательным анализом маркеров герминальной дифференцировки оценено в комплексе с данными о морфологическом варианте и характере первичной локализации опухоли. Оказалось, что иммуногистохимический профиль диффузной В-крупноклеточной лимфомы не может быть определен морфологически. При выделении иммуногистохимических подгрупп диффузной В-крупноклеточной лимфомы с помощью иммуногистохимического алгоритма герминальное происхождение опухоли (GCB-тип) определено у 32% пациентов, non-GCB-тип — у 68%. Прогностически благоприятными параметрами опухоли являются центробластный морфологический вариант, герминальное происхождение и первичная нодальная локализация. При смешанноклеточном морфологическом варианте диффузной В-крупноклеточной лимфомы non-GCB-типа наиболее благоприятное течение болезни отмечено у больных с первичными экстранодными поражениями.

Ключевые слова: диффузная В-крупноклеточная лимфома, герминальная дифференцировка, антиген CD10, транскрипционные факторы BCL-6 и MuM1.

Среди всех вновь диагностированных иммуноморфологических вариантов неходжкинских лимфом взрослых диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВКЛ) составляет 30—40% и является наиболее распространенной во всем мире [1]. В соответствии с современными представлениями термин «диффузная В-крупноклеточная лимфома» объединяет целый спектр опухолей, различающихся по своим цитоморфологическим, гистологическим, иммунофенотипическим и молекулярно-биологическим характеристикам [2; 3]. Заболевание отличается чрезвычайно клиническим разнообразием [4]. Первичный очаг опухолевого роста может локализоваться как в лимфатических узлах (нодальные поражения), так и в любых других органах и тканях, т. е. экстранодально (40%) [2; 5].

ДВКЛ обычно возникает *de novo* (обозначается как первичная), но может развиваться в результате прогрессии или трансформации чаще всего фолликулярной лимфомы; в этом случае она характеризуется как вторичная [6; 7]. Редко ДВКЛ возникает у пациентов с хронической лимфоцитарной лейкемией /лимфоцитарной лимфомой и описывается как синдром Рихтера [8; 9]. Другие варианты периферических мелкоклеточных В-лимфом занимают промежуточное положение по частоте трансформации в крупноклеточную опухоль.

В силу чрезвычайной клинической и биологической гетерогенности многие наблюдения не укладываются в обозначенные в классификации ВОЗ (2008) нозологические формы. Такие случаи характеризуются как ДВКЛ неспецифицированная (NOS — *not otherwise specified*) [4; 10; 11].

На протяжении последних десятилетий основой лечения ДВКЛ независимо от морфологического варианта иммуногистохимического профиля и клинического подтипа опухоли остаются схема СНОР (циклофосфамид + доксорубин + винкристин + преднизолон) и различные ее модификации [1; 4; 12—14]. Главным достижением в последнее десятилетие, существенно улучшившим непосредственные и отдаленные результаты лечения пациентов, явилось добавление к схеме СНОР монокло-

нальных (анти-CD20) антител — ритуксимаба [15—19]. Этот исторический период характеризуется как «эра ритуксимаба» в лечении CD20-позитивных опухолей.

Несмотря на разработку принципов иммунохимиотерапии на основе применения схемы R-СНОР и ее модификаций, до настоящего времени остаются серьезные нерешенные проблемы: недостаточная эффективность первого лечения, первичная резистентность опухоли, непрерывно рецидивирующее течение болезни, недостаточная разработанность критериев рационального выбора адекватной по объему терапии и т. д. В ситуации, когда на протяжении многих лет отсутствуют инновационные предложения эффективных лечебных воздействий, способных кардинально изменить течение болезни, большое значение придается дальнейшему изучению различных клинических и биологических параметров опухоли в целях разработки новых прогностических моделей для выбора адекватной и наиболее эффективной терапии.

В этом плане изучение различных биологических признаков опухолевой ткани, включая маркеры герминальной дифференцировки (CD10, BCL-6, MuM1), может иметь большое клиническое (прогностическое) значение. Поиск новых прогностических параметров и на этой основе совершенствование принципов дифференцированной терапии при ДВКЛ — чрезвычайно актуальная проблема практической онкогематологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучены клинические и иммуноморфологические особенности опухоли у 62 взрослых больных ДВКЛ. Среди них были 40 мужчин и 22 женщины в возрасте от 15 до 81 года (медиана 54 года), старше 60 лет — 25 (40%). Все пациенты находились на лечении в отделении химиотерапии гемобластозов НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН с 1996 по 2006 г. Медиана наблюдения составила 84 мес.

В период первичной диагностики ДВКЛ и в последующем у отдельных больных повторно производили биопсию опухолевой ткани — преимущественно лимфатических узлов, а также глоточного лимфоидного кольца, щитовидной железы, желудка, печени, яичек, костей и мягких тканей.

После фиксации в 10% нейтральном формалине материал заливали в парафин, гистологические срезы тол-

щиной 5—7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону, метиловым зеленым и пиронином по Браше. При наличии нескольких парафиновых блоков материала одной биопсии для детальной морфологической оценки выбирался наиболее репрезентативный гистологический препарат.

Иммуногистохимическое исследование проводили по стандартной методике. На первом этапе осуществляли депарафинирование серийных парафиновых срезов толщиной 3—4 мкм в ксилоле с последующей гидратацией в спиртах со снижающейся концентрацией. Блокирование эндогенной пероксидазы выполняли в 0,3% растворе перекиси водорода в течение 20 мин. Восстановление антигенных детерминант проводили в водяной бане (95 °С) в демаскировочных буферах с рН 6,0 в течение 20 мин (Target Retrieval solution, ДАКО) и рН 9,0 — 30 мин (EDTA-буфер) в зависимости от используемых первичных антител. Инкубацию с первичными антителами осуществляли во влажной камере в течение 30 мин при комнатной температуре. Для визуализации использовали высокочувствительную полимерную систему детекции BioGenex. Пероксидазную активность выявляли с помощью DAB+ (Dako). Ядра докрашивали гематоксилином.

Для лечения больных ДВКЛ использовали полихимиотерапию по схеме СНОР (без добавления или с добавлением ритуксимаба) независимо от морфологического варианта опухоли, ее иммуногистохимической подгруппы, характера первичного поражения и группы риска по IP1. Лечение проводили в режиме как СНОР-14, так и СНОР-21. Полихимиотерапия СНОР (без добавления ритуксимаба) использована у 37 (60%) больных, иммунохимиотерапия R-СНОР — у 18 (29%). В 7 случаях у пожилых больных при невозможности назначить антрациклиновые антибиотики из-за сопутствующих кардиологических заболеваний использовали программу СОР (циклофосамид + винкристин + преднизолон) ± R (ритуксимаб).

Непосредственные и отдаленные результаты терапии оценивали в соответствии с международными критериями ответа опухоли на лечение [20].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы SPSS на основе созданной базы данных. Оценка включала корреляционный анализ, сравнение средних, анализ по таблицам сопряженности признаков с применением критерия χ^2 . Построение кривых выживаемости осуществляли по методике Каплана—Майера [21].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведен комплексный морфоиммунологический анализ опухолевой ткани у всех 62 больных ДВКЛ. У 28 (45%) из них определен центробластный морфологический вариант опухоли, а у 8 (13%) — иммунобластный. При центробластной ДВКЛ > 90% опухолевой популяции составляли центробласты и клетки с многодольчатыми ядрами. При иммунобластном морфологическом варианте в субстрате опухоли преобладали иммунобласты (> 90%). У 26 (42%) больных опухолевый инфильтрат был представлен центробластами, иммунобластами и многодольчатыми клетками в разных количественных

соотношениях. Эти наблюдения охарактеризованы нами как смешанно-клеточный морфологический вариант ДВКЛ.

Молекулярный профиль опухолевой ткани изучали с помощью «суррогатных» иммуногистохимических маркеров. На срезах с парафиновых блоков проводили иммуногистохимическое исследование с использованием широкой панели моноклональных антител с обязательным включением маркеров герминальной дифференцировки — CD10, BCL-6 и MuM1. Необходимо отметить, что, в отличие от антигена CD10 и транскрипционного фактора BCL-6, маркер MuM1 характеризует поздние этапы герминальной и постгерминальной дифференцировки В-клеток. Положительными считали случаи, когда экспрессия антигена CD10 обнаруживалась более чем на 30% опухолевых клеток, BCL-6 — более чем на 50%, а MuM1 — более чем на 70%. Антиген CD10 обнаружен у 19% больных, BCL-6 — у 55%, MuM1 — у 68%.

Анализ экспрессии маркеров герминальной дифференцировки проведен в соответствии с иммуногистохимическим алгоритмом, разработанным и предложенным С. F. Hans и соавт. в 2004 г. [22]. В наших наблюдениях CD10-позитивными оказались 12 больных, и все они безоговорочно включены в группу с опухолью герминального происхождения (GCB-типа), т. е. из клеток, подобных В-клеткам фолликулярного центра.

В отсутствие экспрессии CD10 (50 больных) изучали маркер BCL-6. Наблюдения CD10⁻ и BCL-6⁻ (22 больных) охарактеризованы как ДВКЛ с иммунофенотипом В-клеток негерминального происхождения (non-GCB-тип). У больных, негативных по антигену CD10, при положительной иммуногистохимической реакции на BCL-6 анализировали сведения об экспрессии маркера MuM1. Опухоль с фенотипом CD10⁻, BCL-6⁺, MuM1⁺ (20 больных) классифицирована как ДВКЛ non-GCB-типа, а с фенотипом CD10⁻, BCL-6⁺, MuM1⁻ (8 больных) — как ДВКЛ герминального происхождения (GCB-типа). В общем виде результаты собственных исследований, отражающих иммуногистохимический профиль опухоли, представлены на рис. 1.

ОБСУЖДЕНИЕ

Выделение морфологических вариантов ДВКЛ имеет важное клиническое и в первую очередь самостоятельное прогностическое значение при оценке результатов лечения. В наших наблюдениях, хотя частота полных ремиссий оказалась приблизительно одинаковой (около 65%) в группах больных с центробластным и со смешанно-клеточным морфологическими вариантами ДВКЛ, выявлены статистически значимые ($p < 0,05$) различия их продолжительности. Так, 3-летняя безрецидивная выживаемость при центробластной опухоли оказалась значительно выше (83%, медиана не достигнута), чем при смешанно-клеточном морфологическом варианте (59%, медиана продолжительности жизни 52 мес; рис. 2).

С учетом большой роли первоисточника опухолевого роста при злокачественных лимфопролиферативных заболеваниях был проведен анализ сроков ремиссий и жизни в группах больных с различными морфологическим вариантом и характером первичного поражения (нодальные или экстранодальные).

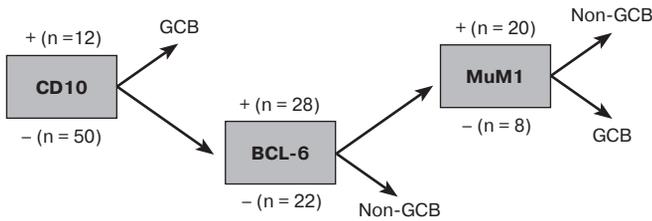


Рисунок 1. Иммуногистохимический профиль ДВКЛ. GCB-тип, n = 20 (32%); non-GCB-тип, n = 42 (68%).

При смешанно-клеточном морфологическом варианте ДВКЛ медианы бессобытийной (БСВ) и общей выживаемости, а также 2-летняя БСВ и общая выживаемость оказались значительно выше у больных с первичной экстранодальной локализацией опухоли. Различия оказались статистически значимыми ($p < 0,05$) при расчете БСВ (рис. 3). При центробластной ДВКЛ выявлены обратные соотношения: отдаленные результаты лечения в 2—4 раза выше у больных с первичными нодальными поражениями ($p > 0,05$).

Внедрение молекулярных методов в онкогематологию, в частности технологии ДНК-биологических микрочипов, позволяет исследовать профиль экспрессии генов (GEP — Gene Expression Profiling) при различных вариантах неходжкинских лимфом [23—27]. Результаты этих исследований отражают функциональные характеристики генов (транскрипцию, трансляцию мРНК) и белковые взаимодействия при них.

На основе кластерирования генов были выделены 2 подгруппы диффузной В-крупноклеточной лимфомы

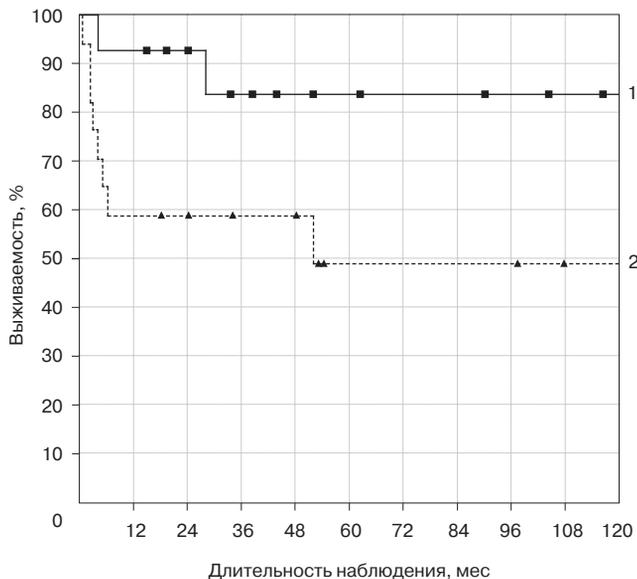


Рисунок 2. Безрецидивная выживаемость при ДВКЛ в зависимости от морфологического варианта.

1 — центробластный вариант (n = 14; медиана продолжительности жизни не достигнута; 3-летняя безрецидивная выживаемость 83%); 2 — смешанно-клеточный вариант (n = 17; медиана продолжительности жизни 52 мес; 3-летняя безрецидивная выживаемость 59%).

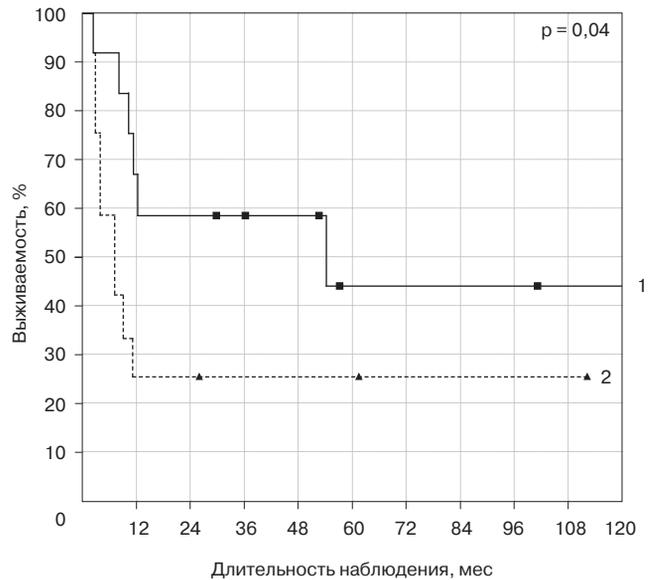


Рисунок 3. БСВ при смешанно-клеточном варианте ДВКЛ в зависимости от характера поражений.

1 — экстранодальные поражения (n = 14; медиана продолжительности жизни 54 мес; 2-летняя БСВ 59%); 2 — нодальные поражения (n = 12; медиана продолжительности жизни 7 мес; 2-летняя БСВ 25%).

с различной 5-летней продолжительностью жизни больных [28; 29]. Однако безусловно точный метод биологических микрочипов имеет ограничения: для молекулярного исследования используется свежий или замороженный в азоте ($-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$) материал биопсии. Кроме того, исследование профиля экспрессии генов с помощью биологических микрочипов — слишком дорогостоящий метод.

Сложность технологии и дороговизна исследования обусловили необходимость поиска так называемых суррогатных маркеров, коррелирующих с результатами GEP. Для идентификации 2 молекулярных подгрупп ДВКЛ на основании изучения иммуногистохимического профиля опухолевой ткани были предложены 3 гена, характеризующих GCB- и ABC-типы и соответствующие им белки: антиген CD10, а также В-клеточные транскрипционные факторы — BCL-6 и MuM1 [30]. В 2004 г. была также опубликована работа С. Р. Hans и соавт., в которой изложен иммуногистохимический алгоритм, позволяющий идентифицировать ДВКЛ GCB- и non-GCB-типов с помощью антител к CD10, BCL-6 и MuM1. (Использованные в алгоритме С. Р. Hans и соавт. 3 ключевых маркера, как уже указывалось, характеризуют различные этапы В-клеточной дифференцировки [22].) Согласно данным С. Р. Hans и соавт. (2004), расхождение между молекулярными и иммуногистохимическими данными с использованием 3 маркеров составляет около 20% [22]. Несмотря на это, в классификации ВОЗ опухолей гематопозитической и лимфоидной тканей (2008) выделены молекулярные и соответствующие им иммуногистохимические подгруппы диффузной В-крупноклеточной лимфомы — GCB и non-GCB-типов [4].

Методические особенности иммуногистохимического исследования — использование различных режи-

мов фиксации материала биопсии, различных клонов антител, разведений, условий демаскировки — делают невозможной единую трактовку полученных результатов. Это особенно важно при проведении клинко-морфоиммунологических и молекулярно-иммуногистохимических сопоставлений. Следует отметить, что в ряде крупных работ [22; 31; 32] сообщалось о полной корреляции результатов иммуногистохимического изучения опухолевой ткани при использовании «суррогатных» маркеров с профилем экспрессии генов, кодирующих CD10, BCL-6, MuM1, CD138, FOXP1, а также BCL-2 и циклин D2. В то же время в исследовании L. Colomo и соавт. (2003) и H. Veelken и соавт. (2007) отчетливой корреляции между иммуногистохимическим алгоритмом и профилем экспрессии генов ключевых маркеров не получено [33; 34].

Наше внимание привлекла одна из последних работ, в которой представлены результаты анализа 105 больных ДВКЛ, получавших лечение на основе схемы СНОР [35]. Отдаленные результаты лечения больных разных иммуногистохимических подгрупп ДВКЛ (GCB — non-GCB) и с различным характером первичной локализации опухоли (нодальные — экстранодальные) практически не различались. Согласно выводу авторов, только IPI сохраняет свою прогностическую ценность и коррелирует с общей выживаемостью. Вместе с тем необходимо подчеркнуть, что для каждого из 3 маркеров (CD10, BCL-6 и MuM1) результат иммуногистохимического исследования авторами считался положительным при содержании позитивных опухолевых клеток > 30%. Подчеркнем, что в нашей работе использовались более «жесткие» критерии, позволяющие более достоверно идентифицировать иммуногистохимические подгруппы ДВКЛ: CD10 > 30%, BCL-6 > 50% и MuM1 > 70% позитивных опухолевых клеток.

Для выявления возможных причин различной трактовки результатов иммуногистохимических исследований в 2003 г. создана Европейско-Американская группа по изучению биомаркеров при лимфомах (LLBC — Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium) [36; 37]. Для стандартизации иммуногистохимических исследований был предложен и стал использоваться метод тканевой технологии (ТМА — tissue micro array), который, по всей вероятности, позволит уменьшить степень расхождения результатов иммуногистохимических и молекулярно-биологических исследований.

В наших наблюдениях GCB-тип ДВКЛ установлен у 20 (32%) больных, а non-GCB-тип — у 42 (68%).

При анализе непосредственных результатов лечения оказалось, что частота полных ремиссий у больных ДВКЛ герминального происхождения составила 65% (13 из 20). При опухоли non-GCB-типа этот показатель оказался равным 55%, т. е. полные ремиссии достигнуты у 23 из 42 первичных больных. Продолжительность достигнутых полных ремиссий существенно различалась, хотя медианы не достигнуты в обеих иммуногистохимических подгруппах. На срок 3 года безрецидивная выживаемость (БРВ) составила 82% при ДВКЛ герминального происхождения и 58% при опухоли non-GCB-типа ($p = 0,09$; рис. 4). Аналогичные результаты обнаружены при анализе БСВ и общей выживаемости.

Выделение с помощью «суррогатных» маркеров 2 иммуногистохимических подгрупп ДВКЛ имеет клиническое значение, поскольку длительность полной ремиссии при ее достижении и общая продолжительность жизни больных с опухолью герминального происхождения значительно выше, чем при ДВКЛ non-GCB-типа. Отсутствие статистически значимых различий ($p > 0,05$), по всей вероятности, можно объяснить небольшим числом клинических наблюдений в сравниваемых группах. В целом выявленные нами тенденции представляются отчетливыми и убедительными.

У 70% больных ДВКЛ герминального происхождения диагностирован центробластный вариант опухоли. При ДВКЛ non-GCB-типа приблизительно у 70% больных определены смешанно-клеточный и иммунобластный морфологические варианты. Вместе с тем у 50% больных с прогностически благоприятным центробластным вариантом ДВКЛ имелся иммунологический фенотип опухолевых клеток, подобный В-клеткам негерминального происхождения (non-GCB-типа). Таким образом, на основании морфологической картины не удается прогнозировать или установить иммуногистохимическую подгруппу ДВКЛ.

В работе проведен анализ прогностического значения характера первичного поражения при ДВКЛ герминального и негерминального происхождения. В обеих иммуногистохимических подгруппах преобладали больные с первичными нодальными поражениями (70 и 59% соответственно). Герминальное происхождение опухоли имело достоверное положительное прогностическое значение. Так, у больных с первичными нодальными поражениями медиана бессобытийной продолжительности жизни при опухоли GCB-типа составила 64 мес, а non-

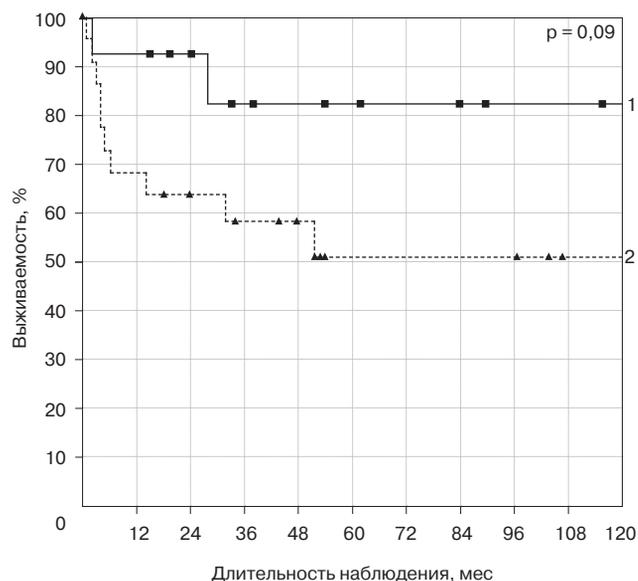


Рисунок 4. Безрецидивная выживаемость при ДВКЛ в зависимости от типа.

1 — GCB-тип ($n = 13$; медиана продолжительности жизни не достигнута; 3-летняя безрецидивная выживаемость 82%); 2 — non-GCB-тип ($n = 23$; медиана продолжительности жизни не достигнута; 3-летняя безрецидивная выживаемость 58%).

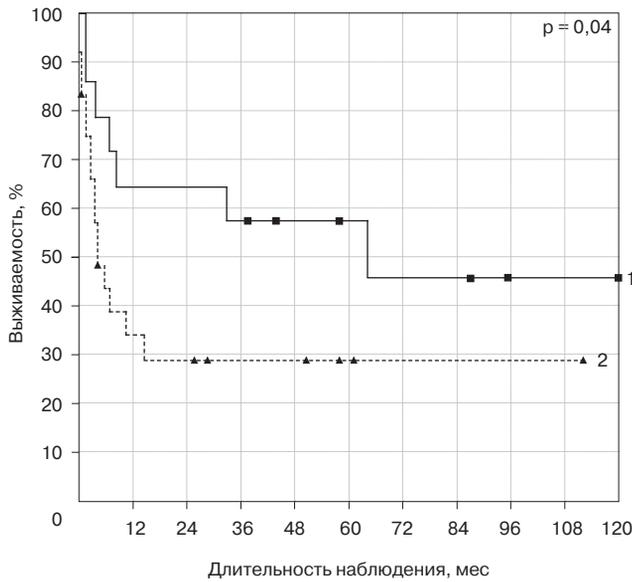


Рисунок 5. БСВ при ДВКЛ с первичными нодальными поражениями в зависимости от типа.

1 — GCB-тип (n = 14; медиана продолжительности жизни 64 мес; 2-летняя БСВ 64%); 2 — non-GCB-тип (n = 25; медиана продолжительности жизни 5 мес; 2-летняя БСВ 29%).

GCB-типа — 5 мес; 2-летняя выживаемость — 64 и 29% соответственно (p < 0,05; рис. 5).

Аналогичные данные получены и при анализе общей выживаемости в сравниваемых группах больных. В пределах опухоли non-GCB-типа более высокие медианы и показатели 2-летней БСВ и общей выживаемости полу-

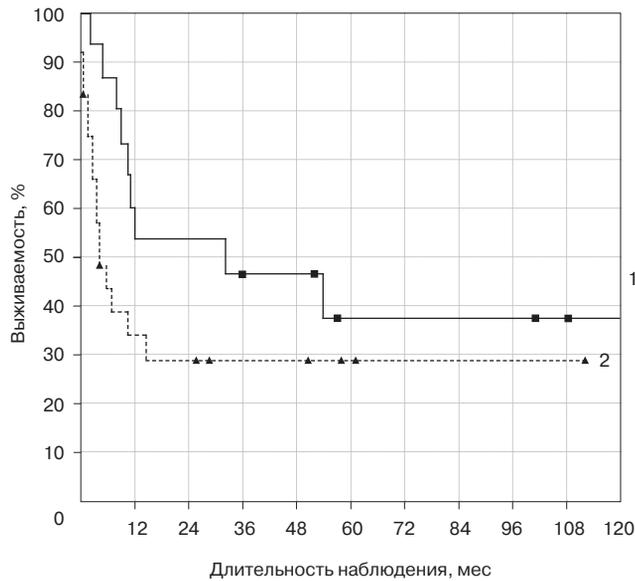


Рисунок 6. БСВ при ДВКЛ non-GCB-типа в зависимости от характера поражений.

1 — первичные экстранодальные поражения (n = 17; медиана продолжительности жизни 32 мес; 2-летняя БСВ 54%); 2 — первичные нодальные поражения (n = 25; медиана продолжительности жизни 5 мес; 2-летняя БСВ 29%).

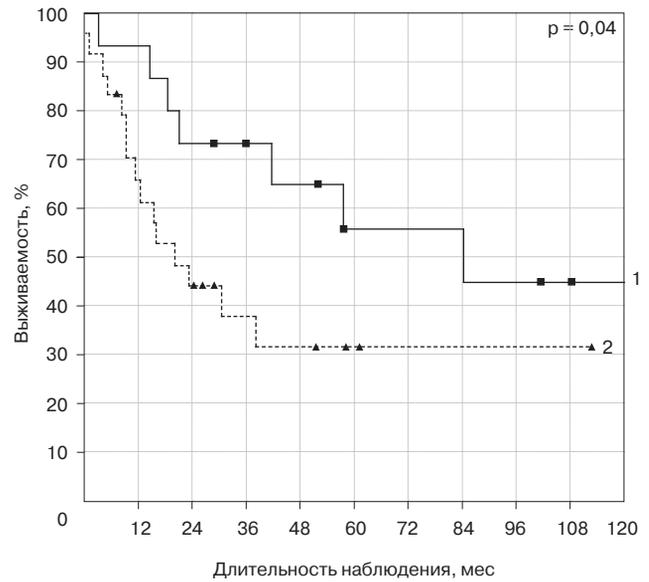


Рисунок 7. Общая выживаемость при ДВКЛ non-GCB-типа в зависимости от характера поражений.

1 — первичные экстранодальные поражения (n = 17; медиана продолжительности жизни 84 мес; 2-летняя общая выживаемость 74%); 2 — первичные нодальные поражения (n = 25; медиана продолжительности жизни 20 мес; 2-летняя общая выживаемость 44%).

чены у больных с первичными экстранодальными поражениями (p < 0,05; рис. 6, 7).

Особый интерес представил анализ прогностического значения морфологического варианта и первичной

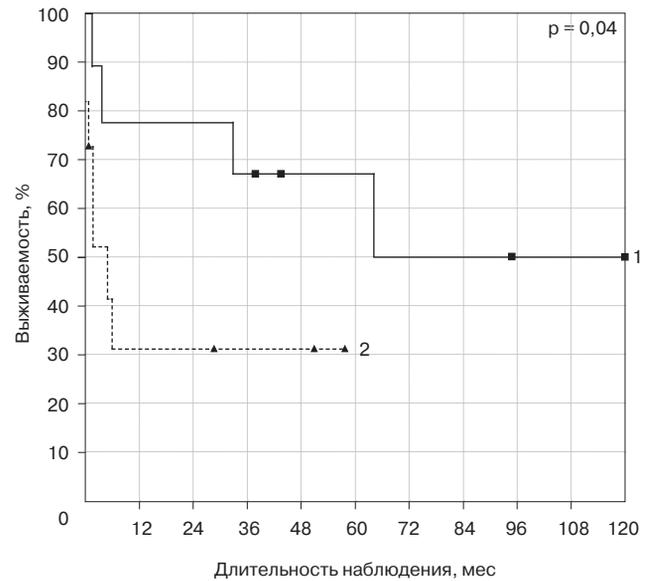


Рисунок 8. БСВ при центробластном варианте ДВКЛ с первичными нодальными поражениями в зависимости от типа опухоли.

1 — GCB-тип (n = 9; медиана продолжительности жизни 64 мес; 2-летняя БСВ 78%); 2 — non-GCB-тип (n = 11; медиана продолжительности жизни 5 мес; 2-летняя БСВ 31%).

локализации ДВКЛ с учетом иммуногистохимического профиля опухоли.

При сравнении 2 групп больных с центробластным вариантом ДВКЛ и первичными нодальными поражениями, статистически значимо различающихся по иммуногистохимическому профилю опухоли ($p < 0,05$). Медиана бессобытийной выживаемости при нодальной центробластной ДВКЛ герминального происхождения составила 64 мес (2-летняя БСВ 78%), а негерминального — 5 мес (2-летняя БСВ 31%; $p < 0,05$; рис. 8). При расчете показателей общей выживаемости получены аналогичные результаты.

При сравнительном анализе продолжительности жизни 2 групп больных со смешанно-клеточным морфологическим вариантом ДВКЛ non-GCB-типа, различающихся по характеру первичной локализации опухоли (нодальные — экстранодальные), выявлены следующие данные: медиана БСВ при смешанно-клеточном морфологическом варианте ДВКЛ с первичными экстранодальными поражениями составила 54 мес (2-летняя БСВ 55%), а с первичными нодальными — 7 мес (2-летняя БСВ 33%; $p > 0,05$). При расчете показателей общей выживаемости получены аналогичные результаты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Имуногистохимическое изучение экспрессии 3 ключевых маркеров герминальной дифференцировки — CD10, VCL-6 и MuM1 — позволяет в клинике с определенной долей достоверности определить молекулярный профиль опухоли при ДВКЛ. С помощью специального алгоритма, учитывающего экспрессию антигена CD10, а также транскрипционных факторов VCL-6 и MuM1, возможна идентификация 2 иммуногистохимических подгрупп ДВКЛ: герминального (GCB-тип) и негерминального (non-GCB-тип) происхождения.

Исходные клинические данные, прежде всего сведения о топографо-анатомической локализации первичной опухоли, а также ее морфологическом варианте и иммуногистохимической подгруппе, являются важными клинико-прогностическими параметрами ДВКЛ.

Каждый из 3 клинико-морфоиммунологических параметров (первичная локализация, морфологический вариант, иммуногистохимическая подгруппа) в отдельности имеет самостоятельное прогностическое значение. При комплексной их оценке прогностическое значение каждого параметра возрастает.

При центробластном варианте ДВКЛ с первичными нодальными поражениями наиболее благоприятное течение болезни отмечается у больных с опухолью герминального происхождения. В структуре смешанно-клеточного морфологического варианта ДВКЛ прогностически наиболее благоприятными оказались опухоли non-GCB-типа с первичными экстранодальными поражениями.

В целом можно отметить, что при ДВКЛ иммуногистохимический профиль не может быть определен морфологически. В наших наблюдениях с помощью иммуногистохимического алгоритма герминальное происхождение опухоли (GCB-тип) определено у 32% больных, non-GCB-тип — у 68%. При ДВКЛ прогностически благоприятными параметрами опухоли являются центро-

бластный морфологический вариант, герминальное происхождение и первичная нодальная локализация. При смешанно-клеточном морфологическом варианте ДВКЛ non-GCB-типа наиболее благоприятное течение болезни отмечалось у больных с первичными экстранодальными поражениями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Armitage J. O. // How I patients with diffuse large B-cell lymphoma // *Blood*. — 2007. — Vol. 110, N 1. — P. 29—36.
2. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group / Harris N. L., Jaffe E. S., Stein H., Banks P. M., Chan J. K., Cleary M. L., Delsol G., De Wolf-Peters C., Falini B., Gatter K. C. // *Blood*. — 1994. — Vol. 84, N 5. — P. 1361—1392.
3. Pathology and Genetics of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues / Jaffe E., Harris N., Stein H., Wardiman J. W. // *World Health Organization Classification of Tumors*. — Lyon: IARC-Press, 2001. — P. 175—177.
4. WHO Classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues / Swerdlow S., Campo E., Harris N. L., Jaffe E. S., Pileri S. A., Stein H., Thiele J., Wardiman J. W. — Lyon: IARC-Press, 2008. — P. 233—237.
5. Non-Hodgkin's lymphoma: case control epidemiological study in Yorkshire / Cartwright R. A., McKinney P. A., O'Brien C., Richards I. D., Roberts B., Luder I., Darwin C. M., Bernard S. M., Bird C. C. // *Leuk. Res.* — 1988. — Vol. 12, N 1. — P. 81—88.
6. An autopsy study of histologic progression in of non-Hodgkin's lymphomas: 192 cases from the National Cancer Institute / Garvin A. J., Simon R. M., Osborne C. K., Merrill J., Young R. C., Berard C. W. // *Cancer*. — 1983. — Vol. 52, N 3. — P. 393—398.
7. Montoto S., Lister T. A. Secondary central nervous system lymphoma: risk factors and prophylaxis // *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.* — 2005. — Vol. 19, N 4. — P. 751—763.
8. Richter M. Generalized reticular cell sarcoma of lymph nodes associated with lymphocytic leukemia // *Am. J. Pathol.* — 1928. — Vol. 4, N 4. — P. 285—292.
9. Yee K. M., O'Brien S. M., Giles F. J. Richter's syndrome biology and therapy // *Cancer J.* — 2005. — Vol. 11, N 3. — P. 161—174.
10. Anon A. Clinical evaluation of the international Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma / The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project // *Blood*. — 1997. — Vol. 89, N 11. — P. 3909—3918.
11. Armitage J. O., Weisenburger D. D. New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes / Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project // *J. Clin. Oncol.* — 1998. — Vol. 16, N 8. — P. 2780—2795.
12. Hydroxydaunomycin (adriamycin) combination chemotherapy in malignant lymphoma / McKelvey E. M., Gottlieb J. A., Wilson H. E., Haut A., Talley R. W., Stephens R., Lane M., Gamble J. F., Jones S. E., Grozea P. N., Gutterman J., Coltman C., Moon T. E. // *Cancer*. — 1976. — Vol. 38, N 4. — P. 1484—1493.
13. Comparison of standard regimes (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkins lymphoma / Fisher R. I., Gaynor E. R., Dahlberg S., Oken M. M., Grogan T. M., Mize E. M., Glick J. H., Coltman C. A., Miller T. P. // *N. Engl. J. Med.* — 1993. — Vol. 328, N 14. — P. 1002—1006.
14. Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of elderly patients with aggressive lymphomas: results of the NHL-B2 trial of the DSHNHL / Pfreundschuh M., Trümper L., Kloess M., Schmits R., Feller A. C., Rudolph C., Reiser M., Hossfeld D. K., Metzner B., Hasenclever D., Schmitz N., Glass B., Rübke C., Loeffler M. // *Blood*. — 2004. — Vol. 104, N 3. — P. 626—633.
15. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma / Coiffier B., Lepage E., Briere J., Herbrecht R., Tilly H., Bouabdallah R., Morel P., Van Den Neste E., Salles G., Gaulard P., Reyes F., Lederlin P., Gisselbrecht C. // *N. Engl. J. Med.* — 2002. — Vol. 346, N 4. — P. 235—242.
16. Long-term results of the R-CHOP study in the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte / Feugier P., Van Hoof A., Sebban C., Solal-Celigny P., Bouabdallah R., Fermé C., Christian B., Le-

page E., Tilly H., Morschhauser F., Gaulard P., Salles G., Bosly A., Gisselbrecht C., Reyes F., Coiffier B. // *J. Clin. Oncol.* — 2005. — Vol. 23, N 18. — P. 4117—4126.

17. Introduction of combined CHOP plus rituximab therapy dramatically improved outcome of diffuse large B-cell lymphoma in British Columbia / Sehn L. H., Donaldson J., Chhanabhai M., Fitzgerald C., Gill K., Klasa R., MacPherson N., O'Reilly S., Spinelli J. J., Sutherland J., Wilson K. S., Gascoyne R. D., Connors J. M. // *J. Clin. Oncol.* — 2005. — Vol. 23, N 22. — P. 5027—5033.

18. Rituximab-CHOP versus CHOP alone or with maintenance rituximab in older patients with diffuse B-cell large lymphoma / Habermann T. M., Weller E. A., Morrison V. A., Gascoyne R. D., Cassileth P. A., Cohn J. B., Dakhil S. R., Woda B., Fisher R. I., Peterson B. A., Horning S. J. // *J. Clin. Oncol.* — 2006. — Vol. 24, N 19. — P. 3121—3127.

19. CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomised controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group / Pfreundschuh M., Trümper L., Osterborg A., Pettengell R., Trneny M., Imrie K., Ma D., Gill D., Walewski J., Zinzani P. L., Stahl E., Kvaloy S., Shpilberg O., Jaeger U., Hansen M., Lehtinen T., López-Guillermo A., Corrado C., Scheliga A., Milpied N., Mendila M., Rashford M., Kuhnt E., Loeffler M. // *Lancet Oncol.* — 2006. — Vol. 7, N 5. — P. 379—391.

20. Report of an International Workshop to Standardize Response Criteria for Non-Hodgkin's lymphomas / Cheson B. D., Horning S. J., Coiffier B., Shipp M. A., Fisher R. I., Connors J. M., Lister T. A., Vose J., Grillo-López A., Hagenbeek A., Cabanillas F., Klippenstein D., Hidde-mann W., Castellino R., Harris N. L., Armitage J. O., Carter W., Hoppe R., Canellos G. P. // *J. Clin. Oncol.* — 1999. — Vol. 17, N 4. — P. 1244—1253.

21. Kaplan E., Meier P. / Nonparametric estimation from incomplete observations // *J. Am. Stat. Assoc.* — 1958. — Vol. 53, N 5. — P. 457—4814.

22. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray / Hans C. P., Weisenburger D. D., Greiner T. C., Gascoyne R. D., Delabie J., Ott G., Müller-Hermelink H. K., Campo E., Brazier L. M., Jaffe E. S., Pan Z., Farinha P., Smith L. M., Falini B., Banham A. H., Rosenwald A., Staudt L. M., Connors J. M., Armitage J. O., Chan W. C. // *Blood.* — 2004. — Vol. 103, N 1. — P. 275—282.

23. The lymphochip: a specialized c DNA microarray for the genomic-scale analysis expression in normal and malignant lymphocytes / Alizadeh A., Eisen M., Davis R. E., Ma C., Sabet H., Tran T., Powell J. I., Yang L., Marti G. E., Moore D. T., Hudson J. R., Chan W. C., Greiner T., Weisenburger D., Armitage J. O., Lossos I., Levy R., Botstein D., Brown P. O., Staudt L. M. // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* — 1999. — Vol. 64. — P. 71—78.

24. Identification of gene expression profiles that segregate patients with childhood leukemia / Moos P. J., Raetz E. A., Carlson M. A., Szabo A., Smith F. E., Willman C., Wei Q., Hunger S. P., Carroll W. L. // *Clin. Cancer Res.* — 2002. — Vol. 8, N 10. — P. 3118—3130.

25. Global gene expression profiling of multiple myeloma, monoclonal gammopathy of undetermined significance, and normal bone marrow plasma cells / Zhan F., Hardin J., Kordsmeier B., Bumm K., Zheng M., Tian E., Sanderson R., Yang Y., Wilson C., Zangari M., Anaisie E., Morris C., Muwalla F., Van Rhee F., Fassas A., Crowley J., Tricot G., Barlogie B., Shaughnessy J. // *Blood.* — 2002. — Vol. 99, N 5. — P. 1745—1757.

26. The molecular signature of mantle cell lymphoma reveals multiple signals favoring cell survival / Martínez N., Camacho F. I., Algara P., Rodríguez A., Dopazo A., Ruiz-Ballesteros E., Martín P., Martínez-Climent J. A., García-Conde J., Menárguez J., Solano F., Mollejo M., Piris M. A. // *Cancer Res.* — 2003. — Vol. 63, N 23. — P. 8226—8232.

27. Gene expression profiling in follicular lymphoma to assess clinical aggressiveness and to guide the choice of treatment / Glas A. M., Kersten M. J., Delahaye L. J., Witteveen A. T., Kibbelaar R. E., Velds A., Wessels L. F., Joosten P., Kerkhoven R. M., Bernards R., Van Krieken J. H., Kluijn P. M., Van't Veer L. J., De Jong D. // *Blood.* — 2005. — Vol. 105, N 1. — P. 301—307.

28. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling / Alizadeh A. A., Eisen M. B., Davis R. E., Ma C., Lossos I. S., Rosenwald A., Boldrick J. C., Sabet H., Tran T., Yu X., Powell J. I., Yang L., Marti G. E., Moore T., Hudson J., Lu L., Lewis D. B., Tibshirani R., Sherlock G., Chan W. C., Greiner T. C., Weisenburger D. D., Armitage J. O., Warnke R., Levy R., Wilson W., Grever M. R., Byrd J. C., Botstein D., Brown P. O., Staudt L. M. // *Nature.* — 2000. — Vol. 403, N 6769. — P. 503—511.

29. The use of molecular profiling to predict of survival after chemotherapy for diffuse large B-cell lymphoma / Rosenwald A., Wright G., Chan W. C., Connors J. M., Campo E., Fisher R. I., Gascoyne R. D., Müller-Hermelink H. K., Smeland E. B., Giltnane J. M., Hurt E. M., Zhao H., Averett L., Yang L., Wilson W. H., Jaffe E. S., Simon R., Klausner R. D., Powell J., Duffey P. L., Longo D. L., Greiner T. C., Weisenburger D. D., Sanger W. G., Dave B. J., Lynch J. C., Vose J., Armitage J. O., Montserrat E., López-Guillermo A., Grogan T. M., Miller T. P., LeBlanc M., Ott G., Kvaloy S., Delabie J., Holte H., Krajci P., Stokke T., Staudt L. M. // *New. Engl. J. Med.* — 2002. — Vol. 346, N 25. — P. 1937—1947.

30. Immunohistochemical expression patterns of germinal center and activation B-cell markers correlate with prognosis in diffuse large B-cell lymphoma / Chang C. C., McClintock S., Cleveland R. P., Trzruc T., Vesole D. H., Logan B., Kajdacsy-Balla A., Perkins S. L. // *Am. J. Surg. Pathol.* — 2004. — Vol. 28, N 4. — P. 464—470.

31. Germinal center phenotype and bcl-2 expression combined with the International Prognostic Index improves patient risk stratification in diffuse large B-cell lymphoma / Barrans S. L., Carter I., Owen R. G., Davies F. E., Patmore R. D., Haynes A. P., Morgan G. J., Jack A. S. // *Blood.* — 2002. — Vol. 99, N 4. — P. 1136—1143.

32. Identification of outcome predictors in diffuse large B-cell lymphoma. Immunohistochemical profiling of homogeneously treated de novo tumors with nodal presentation on tissue micro-arrays / Zinzani P. L., Dirnhofer S., Sabattini E., Alinari L., Piccaluga P. P., Stefoni V., Tani M., Musuraca G., Marchi E., Falini B., Baccarani M., Pileri S. A. // *Haematologica.* — 2005. — Vol. 90, N 3. — P. 341—347.

33. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma / Colombo L., López-Guillermo A., Perales M., Rives S., Martínez A., Bosch F., Colomer D., Falini B., Montserrat E., Campo E. // *Blood.* — 2003. — Vol. 101, N 1. — P. 78—84.

34. Immunophenotype as prognostic factor for diffuse large B-cell lymphoma in patients undergoing clinical risk-adapted therapy / Veelken H., Vik Dannheim S., Schulte Moenting J., Martens U. M., Finke J., Schmitt-Graeff A. // *Ann. Oncol.* — 2007. — Vol. 18, N 5. — P. 931—939.

35. Tissue microarray in diffuse large B-cell lymphomas Are They Really Able to Identify Distinct Prognostic Groups in Lymphomas of Both Nodal and Extranodal Origin? / Laszlo D., Pruneri G., Andreola G., Radice D., Calabrese L., Rafaniello P. R., Nassi L., Sammassimo S., Alietti A., Agazzi A., Vanazzi A., Martinelli G. // *Int. J. Surg. Pathol.* — 2009. — Vol. 20, N 20. — P. 1—8.

36. Immunohistochemical prognostic markers in diffuse large B-cell lymphoma: validation of tissue microarray as a prerequisite for broad clinical applications — a study from the Lunenburg lymphoma biomarker consortium / De Jong D., Rosenwald A., Chhanabhai M., Gaulard P., Klapper W., Lee A., Sander B., Thorns C., Campo E., Molina T., Hagenbeek A., Horning S., Lister A., Raemaekers J., Gascoyne R. D., Salles G., Weller E. // *J. Clin. Oncol.* — 2007. — Vol. 25, N 7. — P. 805—812.

37. Immunohistochemical prognostic factors in diffuse B-cell large lymphoma (a study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium) / De Jong D., Xie W., Rosenwald A., Chhanabhai M., Gaulard P., Klapper W., Lee A., Sander B., Thorns C., Campo E., Molina T., Hagenbeek A., Horning S., Lister A., Raemaekers J., Salles G., Gascoyne R. D., Weller E. // *J. Clin. Pathol.* — 2009. — Vol. 62, N 2. — P. 128—138.

Поступила 29.12.2009

*Tanzila Khamzatovna Ozdoyeva¹, Dmitry Alexandrovich Bykov²,
Anna Anatolievna Chekan³, Sergey Borisovich Peterson⁴,
Alla Mikhailovna Kovrigina⁵, Nikolay Nikoilyevich Tupitsyn⁶,
Gayane Sergeyevna Tumyan⁷, Irina Vladimirovna Poddubnaya⁸,
Tatiana Tikhonovna Kondratyeva⁹, Pyarvin Aydynovna Zeinalova¹⁰,
Oleg Alexandrovich Kolomeytsev¹¹, Eugeny Nikolayevich Sorokin¹²,
Dzhelil Shevketovich Osmanov¹³*

PROGNOSTIC VALUE OF GERMINAL CENTER DIFFERENTIATION MARKERS IN DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA

¹ Post-Graduate Student, Chair of Oncology, RSMU (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, Russian Federation)

² Post-Graduate Student, Chair of Oncology, MMA (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, Russian Federation)

³ Post-Graduate Student, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS
(24, Kashirskoye sh., Moscow 115478, Russian Federation)

⁴ MD, PhD, Professor, Head, Chair of Oncology, RSMU (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, Russian Federation)

⁵ DSc, PhD, Leading Researcher, Human Tumor Pathologic Anatomy Department, Clinical Oncology Research
Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow 115478, Russian Federation)

⁶ MD, PhD, Professor, Head, Hemopoiesis Immunology Laboratory, Clinical Oncology Research Institute,
N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow 115478, Russian Federation)

⁷ MD, PhD, Leading Researcher, Hematology Malignancy Chemotherapy Department, Clinical Oncology
Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow 115478, Russian Federation)

⁸ MD, PhD, Associate Member of RAMS, Professor, Head, Chair of Oncology, RMAPE
(24, Kashirskoye sh., Moscow 115478, Russian Federation)

⁹ MD, PhD, Leading Researcher, Clinical Cytology Laboratory, Clinical Oncology Research Institute,
N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow 115478, Russian Federation)

¹⁰ MD, PhD, Researcher, Hematology Malignancy Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research
Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow 115478, Russian Federation)

¹¹ Hematology Oncologist, Hematology Malignancy Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research
Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow 115478, Russian Federation)

¹² MD, PhD, Senior Researcher, Hematology Malignancy Chemotherapy Department, Clinical Oncology
Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow 115478, Russian Federation)

¹³ MD, PhD, Professor, Head, Hematology Malignancy Chemotherapy Department, Clinical Oncology Research
Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow 115478, Russian Federation)

Address for correspondence: Ozdoyeva Tanzila Khamzatovna, Hematology Malignancy Chemotherapy
Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS, 24, Kashirskoye sh., Moscow
115478, Russian Federation; e-mail: tanzila-o@yandex.ru

The purpose of this study was to evaluate prognostic value of germinal center differentiation markers in diffuse large B-cell lymphoma. Sixty-two adult patients with diffuse large B-cell lymphoma aged 15 to 81 years (median 54 years) were included in the study. Immunohistochemistry was made by standard methodology, statistical analysis of data was done using SPSS software. Gene expression analysis of germinal center differentiation markers was carried out in accordance with the 2004 immunohistochemical algorithm. Basing on expression of CD10 and transcription factors BCL-6 and MuM1 all cases of diffuse large B-cell lymphomas were divided into germinal center (GCB) and non-germinal (non-GCB) center subtypes. Clinical significance of tumor tissue immunohistochemical study with mandatory analysis of germinal center differentiation markers was assessed together with primary tumor morphology data. Diffuse large B-cell lymphoma immunohistochemical profile appeared not identifiable by morphology. Identification of diffuse large B-cell lymphoma subtypes by immunohistochemical algorithms discovered GCB-type in 32% and non-GCB-type in 68% of cases. Factors of good prognosis included centroblastic morphology, germinal center origin and nodal primary disease. Patients with extranodal primary disease had the best prognosis among cases with diffuse large B-cell lymphoma of mixed morphology.

Key words: diffuse large B-cell lymphoma, germinal center differentiation, CD10, BCL-6, MuM1.