## Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

**ІНСТИТУТ ОЧНИХ ХВОРОБ І ТКАНИННОЇ ТЕРАПІЇ**

**ім. В.П. ФІЛАТОВА АМН УКРАЇНИ**

**ЯКОВЕНКО ТАРАС ОЛЕКСАНДРОВИЧ**

УДК 617.76+617.77+617.711]-006.44-006.44.03]-79

**ОптиМІЗАЦІЯ діагностики ЛІМФОПРОЛІФЕРАТИВНИХ новоутворень орбіти та придатків ока**

14.01.18 – Офтальмологія

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Одеса – 2008

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті очних хвороб і тканинної терапії

ім. В.П. Філатова АМН України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор

**Віт Валерій Вікторович**,

Інститут очних хвороб і тканинної

терапії ім. В.П. Філатова АМН України,

заступник директора з наукової роботи

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор

**Бездітко Павло Андрійович**,

Харківський державний медичний

університет МОЗ України,

завідувач кафедри офтальмології

доктор медичних наук, професор

**Салдан Йосип Романович**,

Вінницький національний медичний

університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України, завідувач кафедри очних хвороб

Захист відбудеться “21” березня 2008 р. о 1300 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 41.556.01 в Інституті очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова АМН України за адресою: 65061, Україна, м. Одеса, Французький бульвар, 49/51.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова АМН України (65061, Україна, м. Одеса, Французький бульвар, 49/51).

Автореферат розісланий “18”лютого 2008 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради,

доктор біологічних наук, професор **І. П. Метеліцина**

**ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Онкологічні захворювання були і залишаються однією з найбільш актуальних проблем в медицині (Черезов А.Н., 1997; Бровкина А.Ф., 2002; Chan J., 2000; Jaffe E., Harris N., Stein H., Vardiman J. et al., 2001). За даними центру статистики МОЗ України, відмічається стійка тенденція до збільшення злоякісних новоутворень. Щорічно в Україні захворюють до 160 тис. чоловік та вмирають біля 100 тис. (Шалимов С.А., 2001). Серед лімфопроліферативних новоутворень (ЛПН) орбіти та придатків ока реактивна лімфоїдна гіперплазія (РЛГ) становить 29% - 50%, а на лімфоми відповідно припадає 50% - 71% (Kostas V., 1984; Laucirica R., 1996; Polito E., Galieni P., Leccisotti A., 1996; Mannami T., Yoshino T., Oshima K. et al., 2001; Shields C., 2001; Ohtsuka K., Hashimoto M., Suzuki Y., 2004). Серед злоякісних новоутворень орбіти та придатків ока лімфоми становлять від 12 до 17% (Бровкина А.Ф., 2001). Кількість неходжкінських лімфом у загальній онкології за останні 25 років збільшилась майже вдвічі (Jemal A., 2005).

Лімфоїдні новоутворення орбіти та придатків ока мають поліморфну клінічну картину, що утруднює встановлення правильного діагнозу. Виділити патогномонічні ознаки РЛГ та лімфоми важко. З моменту виникнення перших клінічних симптомів лімфоми орбіти та придатків ока до встановлення остаточного діагнозу проходить від 3 міс. до 7 років і в середньому цей час становить 23 місяці (Galieni P., 1997). Вочевидь необхідність використання додаткових методів, а саме морфологічного, імуногістохімічного, цитогенетичного - для постановки правильного діагнозу (Knowles D., Halper J., Jakobiec F., 1982; Jakobiec F., Iwamoto T., Patell M., Knowles D., 1986; Xu Q., Xiao L., He Y. et al., 2004). Деталізація діагнозів і диференціація їх в кінцевому результаті дозволяє обрати індивідуальний підхід у подальшому обстеженні хворих з ЛПН орбіти і придатків ока та лікувальну тактику.

Вивчення гістологічної будови пухлини визначає походження новоутворення, характер патологічного процесу, особливості її структури (Пальцев М.А., Аничков Н.М., 2005). Різноманіття клітинних типів лімфом, а також в ряді випадків відсутність чітких критеріїв диференційної діагностики РЛГ та лімфом обмежує діагностичні можливості морфологічного методу. Імуногістохімічне дослідження дозволяє встановити імунофенотип пухлини, тим самим визначити її клітинний тип (Xu Q., 2004; Jaffe E., 2001). Відомі панелі діагностичних антитіл складаються з великої кількості препаратів і, в основному, орієнтовані на загальну онкологію. Вони включають наступні антитіла: CD3, CD5, CD10, CD20, CD23, CD43, bcl–2, bcl–6, CD79a, CD138, cyclin D1, kappa і lambda (Cahill M., Barnes C., Moriarty P. et al., 1999; Auw-Haedrich C., Coupland S., Kapp A. et al., 2001; Nola M., 2004; Coupland S., Hellmich M., Auw-Haedrich C. et al., 2005). Нажаль, при проведенні імуногістохімічних досліджень не враховуються в повній мірі структурні особливості ЛПН орбіти та придатків ока. Мала кількість біопсійного матеріалу (особливо у випадках кон’юнктивальної локалізації пухлини) ускладнює інтерпретацію результатів. Саме дослідження довготривале та дороге. Тому існує необхідність у застосуванні альтернативних методів дослідження, у визначенні їх раціональних комбінацій. Найбільш оптимальним в цьому плані є цитогенетичне дослідження, яке проводиться за допомогою лише світлової мікроскопії і на малій кількості біопсійного матеріалу. Таке дослідження ЛПН характеризує пухлину на підставі визначення кількості та особливості клітин, що знаходяться в М-фазі клітинного циклу (Akerman M., Brandt L., Johnson A., Olsson H., 1987; Donhuijsen K., 1987). Цитогенетичне дослідження може бути використане для проведення диференційної діагностики і встановлення ступеня злоякісності, на самперед, між CD5- та CD5+ лімфомами маргінальної зони (ЛЗМ), бо єдиної думки, щодо ступеня їх злоякісності не існує (Ferry J., Yang W., Zukerberg L. et al.,1996; Ballesteros E., Osborne B., Matsushima A., 1998; Coupland S., Hellmich M., Auw-Haedrich C. et al., 2004). Але не при всіх клітинних формах ЛПН, враховуючи мітотичну активність, а також типи мітозів, можна встановити правильний діагноз (Алов И.А. 1972). Крім того, не встановлена діагностична цінність окремих показників цитогенетичної характеристики ЛПН. Визначення показань до застосування цитогенетичного дослідження ЛПН орбіти та придатків ока надасть можливість спростити діагностику таких пухлин.

Зважаючи на окреслені проблеми доцільною є розробка оптимальної системи діагностичних заходів досліджень, а також послідовність та об’єм їх застосування в кожному конкретному випадку ЛПН орбіти та придатків ока.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота являлась фрагментом затвердженої АМН України НДР: „Визначити значення імуноморфологічних і імунологічних методів дослідження при проведенні диференційної діагностики і контролю ефективності органозберігаючого лікування новоутворень увеального тракту, орбіти і повік”, 2007-2009 рр. (№ держреєстрації 01070U002646) та НДР по лінії міжнародного науково-технічного співробітництва „Диференційна діагностика злоякісних лімфом ока, придатків та орбіти”, 2004-2006 рр., яка виконувалась згідно договору між Інститутом очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова АМН України і офтальмологічним центром університету м. Мансура, Єгипет. Пошукувач був співвиконавцем.

**Мета дослідження:** оптимізувати діагностику лімфопроліферативних новоутворень орбіти і придатків ока шляхом раціонального використання клінічних, морфологічних, імуногістохімічних і цитогенетичних методів дослідження.

**Задачі дослідження:**

1. Виявити частоту лімфопроліферативних новоутворень орбіти та придатків ока.
2. Встановити специфічний набір діагностичних антитіл для диференційної діагностики лімфопроліферативних новоутворень орбіти та придатків ока.
3. Встановити клітинні типи та імунофенотип лімфопроліферативних новоутворень орбіти та придатків ока згідно класифікації ВООЗ (2001) для визначення структурних особливостей лімфопроліферативних новоутворень орбіти та придатків ока.
4. Виявити значимі клінічні ознаки для проведення диференційної діагностики реактивних лімфоїдних гіперплазій і лімфом орбіти та придатків ока.
5. Визначити диференційно-діагностичну значимість цитогенетичної характеристики лімфом маргінальної зони і лімфом зони мантії.
6. Встановити оптимальну систему діагностичних заходів при лімфопроліферативних новоутвореннях орбіти та придатків ока на основі клінічних, морфологічних, імуногістохімічних і цитогенетичних даних.

*Об’єкт дослідження.*Лімфопроліферативні новоутворення орбіти та придатків ока.

*Предмет дослідження.* Клінічна картина лімфопроліферативних новоутворень орбіти та придатків ока; морфологічна картина клітинних типів лімфопроліферативних новоутворень орбіти та придатків ока; мітози лімфом маргінальної зони і лімфом зони мантії; імунофенотип лімфопроліферативних новоутворень орбіти та придатків ока.

*Методи дослідження.* Клінічні, рентгенологічні, морфологічні, імуногістохімічні, цитогенетичні та статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше встановлено, що значимою ознакою для проведення диференційної діагностики між CD5+ та CD5- лімфомами маргінальної зони орбіти і придатків ока є мітотичний індекс, для CD5+ лімфом маргінальної зони він становить більше 0,1%, а для CD5- – 0,1% і менше.

Доповнені наукові дані про те, що дифузні В-крупноклітинні лімфоми орбіти та придатків ока представлені лімфобластним варіантом.

Вперше запропоновано оптимальний спосіб, визначений в об’ємі та послідовності застосування, для діагностики мілкоклітинних лімфопроліферативних новоутворень орбіти та придатків ока, який проводиться у два етапи: проведення диференційної діагностики між реактивною лімфоїдною гіперплазією та лімфомою на першому етапі; в разі наявності В-клітинної лімфоми виконується другий етап по встановленню клітинного типу останньої.

**Практичне значення отриманих результатів.** Встановлено, що вірогідність наявності мілкоклітинної лімфоми, яка має мономорфну структуру у хворих віком більше 62 років, становить не менше 92,6%.

Запропонований комплекс заходів (клінічних, морфологічних, імуногістохімічних та цитогенетичних) дозволяє спростити діагностику лімфопроліферативних новоутворень орбіти та придатків ока шляхом відмови від застосування імуногістохімічного дослідження при пухлинах, що складаються із центробластів, і при мілкоклітинних новоутвореннях з мономорфною гістологічною структурою у хворих похилого віку.

**Впровадження в практику.** Розроблений спосіб диференційної діагностики лімфопроліферативних новоутворень орбіти та придатків ока впроваджений у лабораторії патоморфології та електронної мікроскопії Інституту очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П.Філатова АМН України.

**Особистий внесок здобувача в розробку наукових результатів.** Ідея наукового дослідження належить науковому керівнику, д.мед.н., проф. Віту В.В. Пошукувачем спільно з науковим керівником проведена постановка задач дослідження і визначена методологія роботи. Особисто автором проводився аналіз вітчизняної та іноземної літератури за обраною темою, що дало змогу розробити програму виконання дисертаційної роботи. Проведено аналіз одержаних даних, наукове обґрунтування та інтерпретація здобутих результатів, підготовка їх до публікації. Також автор особисто виконував клінічне обстеження 17 хворих, провів 73 морфологічних та імуногістохімічних досліджень. Цитогенетичне дослідження пошукувач особисто провів 31 пацієнту. Визначення імунофенотипу ЛПН пошукувач виконував спільно із співробітниками відділу механізмів протипухлинної терапії на базі Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Е. Кавецького НАН України. Статистичний аналіз проводився при консультативній допомозі наукового співробітника Драгомірецької О.І. В наукових роботах, що опубліковані по темі дисертації у співавторстві, головна роль у постановці задач дослідження, аналізі результатів, визначенні їх значимості належить пошукувачу.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення та результати дослідження доповідалися і обговорювалися на науково-практичній конференції молодих вчених України (Харків, 2006); 4-й Міжнародній конференції офтальмологів країн Причорномор’я (Анапа, 2006); ювілейній науково-практичній конференції “Федоровские чтения – 2007” (Москва, 2007), 105 конгресі товариства німецьких офтальмологів (Берлін, 2007), вченій раді Інституту очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова АМН України (Одеса, 2007)

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 7 наукових робіт, в тому числі 3 статті в наукових журналах і збірниках наукових праць, рекомендованих ВАК України, 4 - в тезах конференцій, отриман 1 патент України на винахід.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертація написана українською мовою, викладена на 135 сторінках тексту. Складається з вступу, 6 розділів, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел. Робота ілюстрована 41 рисунком та 6 таблицями, які займають 4 окремі сторінки. Список використаних літературних джерел містить 203 найменування і займає 22 сторінки.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріал і методи дослідження.** Було досліджено 402 хворих ЛПН орбіти та придатків, віком від 16 до 89 років. Чоловіків було 209 (52%), а жінок – 193 (48%). Серед гістологічного матеріалу, що досліджувався, ЛПН орбіти склали 67% (269 випадків), кон’юнктиви – 26% (104 випадка), повіки – 7% (29 випадків). 246 хворим був встановлений раніше діагноз лімфома, що склало 61%, а 156 пацієнтам – РЛГ (39%).

Клінічна картина у 73 хворих з ЛПН враховувалася за 8 ознаками: стать, вік, локалізація ЛПН, наявність білатерального ураження, проростання тарзоорбітальної фасції, ураження стінки орбіти, ступінь екзофтальму, обмеження рухомості ока. Отримана частина якісних ознак була формалізована.

Морфологічна характеристика пухлин 73 препаратів включала: розмір клітин, особливості розташування ядра, однорідність структури тканин, формування особливих структур, що дало можливість виділити чотири морфологічні групи. При імуногістохімічному дослідженні визначався тип ЛПН (РЛГ, лімфома маргінальної зони (ЛМЗ), ЛЗМ, дифузна В-крупноклітинна лімфома (ДБКЛ), фолікулярна лімфома (ФЛ), лімфоцитарна лімфома (ЛЦЛ), плазмоцитома). З цією метою використовувалася система візуалізації EnVision+ (DAKO), запропонований набір моноклональних антитіл (СD3, CD5, CD20, CD23, Cyclin D1, kappa, lambda (DAKO)), хромоген-субстрат АЕС+ (DAKO).

Цитогенетичне дослідження виконано на 31 гістологічному препараті у випадках діагнозу ЛЗМ або ЛМЗ. Враховувались наступні показники: мітотичний індекс, кількість патологічних, фізіологічних мітозів, а також тих, що важко диференціювати, і кількість мітозів, які знаходяться на початкових стадіях.

На основі клінічних, морфологічних, імуногістохімічних і цитогенетичних показників, які отримані в результаті дослідження хворих, була сформована база даних. Статистичну обробку проводили за допомогою електронного пакету прикладних програм Statistica 6.0 для Windows, MedCalc version 9.0.1.1. (Demo). Застосовувався діагностичний тест на основі цитогенетичного показника мітотичної активності з побудовою ROC-кривої. Остання відображала чутливість від вірогідності хибнопозитивних результатів, тобто специфічності. Інформативність діагностичного тесту визначається тим, наскільки високо лежить його характеристична крива від діагоналі (Власов В.В., 1988; Файнзильберг Л.С., 2003). Для оцінки розбіжностей у двух групах використовувався критерій Ст’юдента з попередньою оцінкою нормальності розподілення за критерієм Колмогорова-Смірнова. При дослідженні груп по якісним показникам проводився аналіз таблиць, що містили розрахунок χі-квадрат статистики Пірсона. Основними статистичними параметрами були: середнє арифметичне значення кожного ряду (М), стандартне відхилення (SD), стандартна помилка (SE), рівень значимості (p), що визначає статистично значимі розбіжності (Власов В.В., 2001; Реброва О.Ю., 2002).

**Результати дослідження та їх обговорення**

**Клінічні прояви лімфопроліферативних новоутворень орбіти і придатків ока та можливість їх використання в діагностиці новоутворень лімфоїдного генезу.** Аналіз 402 історій хвороб офтальмоонкологічного відділення Інституту очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова АМН України з 1982 по 2006 роки виявив, що частота виникнення ЛПН орбіти та придатків ока в останні 5 років зросла у 2,6 разів порівняно із 1982 по 1986 рр.

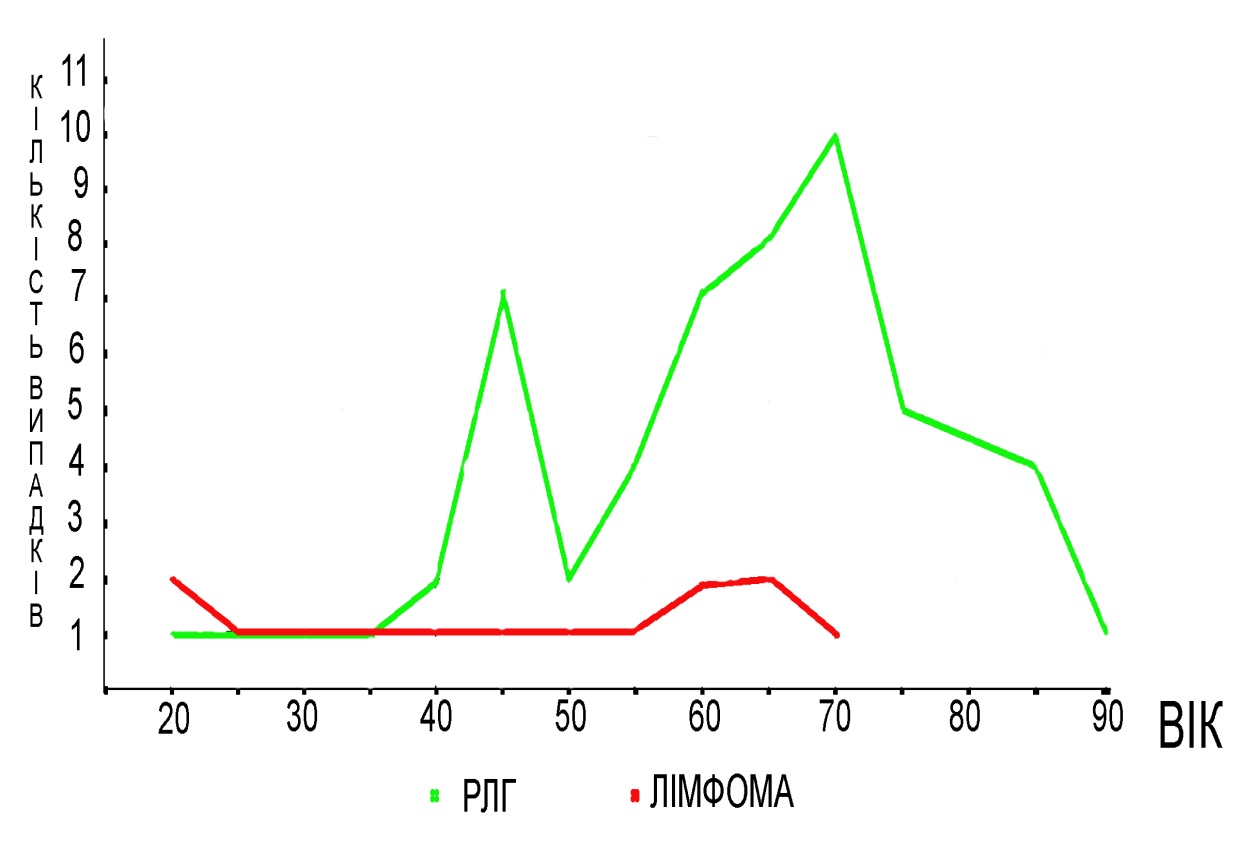
При визначенні локалізації пухлин з’ясувалося, що переважали пацієнти з новоутвореннями орбіти – 269 осіб (67%), з кон’юнктивальною локалізацією було 104 особи (26%), а на повіках - лише 29 осіб (7%).

При аналізі встановлених діагнозів ЛПН орбіти, кон’юнктиви та повік на основі клінічних і морфологічних даних виявлено, що із 46 новоутворень орбіти правильних діагнозів було встановлено 45 (97,8%), а при локалізації новоутворення у кон’юнктиві та повіках діагноз співпав у 15 (56%) випадках із 27.

Виявлена статистично значима різниця між віком хворих із різними типами ЛПН (РЛГ, лімфомою) (рис. 1).

Середній вік хворих РЛГ на 13,7 років менший у порівнянні із хворими лімфомою. Для проведення диференційної діагностики між РЛГ та лімфомою був застосований ROC-аналіз.

“Точкою перегину” є вік 62 роки. Вище цієї точки специфічність складає 92,9%, а чутливість – 51,9%. Це свідчить про те, що у людини віком більше 62 років з ЛПН, вірогідність наявності РЛГ становить 7,1%. Вік хворого повинен враховуватися тільки в комплексі додаткових даних (орбітальна локалізація, наявність мономорфної гістологічної картини).



**2**

**1**

**2**

**1**

1. Рис. 1. Кількість хворих ЛПН залежно від вікової групи.

Аналіз клінічних ознак ЛПН (екзофтальм, порушення рухомості ока, двобічна локалізація, ураження кісткової стінки) не виявив патогномонічних ознак. Поліморфізм клінічних проявів не дає змогу визначитися із клітинним типом ЛПН. Проведені комп’ютерна томографія (КТ) і магнітно-резонансна томографія (МРТ) встановлюють лише факт наявності новоутворення та його анатомо-топографічне розташування відносно оточуючих тканин. Тому для встановлення кінцевого діагнозу необхідно застосувати морфологічне та імуногістохімічне дослідження.

**Морфологічні та імуногістохімічні особливості лімфопроліфе-ративних новоутворень орбіти та придатків ока.** Результатом морфологічного дослідження ЛПН (РЛГ і лімфом) орбіти та придатків ока стало виділення чотирьох груп новоутворень за особливостями клітинної структури:

1-а група (60 препаратів) – пухлини із мілких лімфоцитів, ядра яких розташовані центрально. В них відсутні фолікулярні структури, але можлива наявність домішку інших клітин гемопоетичного походження;

2-а група (7 препаратів) – пухлини з великими клітинами, що нагадували центробласти;

3-я група (1 препарат) – пухлина, що складалася виключно з плазмоцитарних клітин, розміри яких більші за нормальний лімфоцит з ексцентрично розташованим ядром, фолікулярні структури відсутні;

4-а група (5 препаратів) – пухлини з мілкими лімфоцитами і поодинокими лімфобластними клітинами, визначалися фолікулярні структури (рис. 2).

1. Рис. 2. Розподіл ЛПН орбіти та придатків ока залежно від особливостей структури новоутворень.

Серед 73 ЛПН орбіти та придатків ока переважали новоутворення, що складалися виключно з мілких клітин – 82% (60 препаратів), більшість з останніх мали мономорфну гістологічну будову – 55% (33 препарати). Для визначення цінності морфологічного дослідження було проведено імуногістохімічне дослідження. З цією метою був запропонований та впроваджений оптимальний набір антитіл (kappa, lambda, CD3, CD5, CD20, CD23, Cyclin D1) для визначення типів ЛПН орбіти та придатків ока (Пат. № 26436 Україна МПК G01N 33/53).

Імуногістохімічне дослідження цих груп пухлин орбіти та придатків ока показало, що злоякісні пухлини становили 57 (78%) випадків, а доброякісні - 16 (22%). Тобто лімфоми орбіти та придатків ока зустрічаються у три рази частіше за РЛГ. Серед лімфом цієї локалізації переважають ЛМЗ (69%).

До пухлин першої групи відносились РЛГ, ЛЦЛ, ЛМЗ, ЛЗМ.

РЛГ – мілкоклітинні новоутворення з поліморфною гістологічною структурою, співвідношення kappa:lambda менше, ніж 6:1 та lambda:kappa менше, ніж 4:1. Т-клітин більше 20%, але менше 70%.

ЛМЗ – мілкоклітинна пухлина з мономорфною чи поліморфною гістологічною картиною. Співвідношення kappa:lambda більше, ніж 6:1 та lambda:kappa більше, ніж 4:1. В-лімфоцитів не менше 80%. Мінливий імунофенотип щодо CD5 антигену.

ЛЦЛ – мілкоклітинна пухлина з мономорфною гістологічною будовою. Співвідношення ланцюгів kappa:lambda становлять більше, ніж 6:1 та lambda:kappa більше, ніж 4:1, при чому В-лімфоцитів не менше 80%. Присутні CD5 та CD23 антигени.

ЛЗМ – мілкоклітинна пухлина з мономорфною гістологічною будовою, в якій виявляється характерний антиген для цього типу пухлин – Cyclin D1.

Другу групу пухлин складають ДБКЛ. Підтвердженням цього є наявність CD 20 антигену та крупних клітин в усіх 7 випадках.

Третя група пухлин представлена плазмоцитомою, оскільки не виявляються CD3, CD20, CD5, CD23, Cyclin D1 антигени, а співвідношення kappa до lambda було 5:1.

До пухлин четвертої групи відноситься ФЛ. Складається з мілких клітин, співвідношення ланцюгів kappa:lambda становлять більше, ніж 6:1 та lambda: kappa більше, ніж 4:1, при чому В-лімфоцитів не менше 80%. Крім того наявні поодинокі бластні форми лімфоцитів та фолікулоподібні структури. Про це свідчить наявність CD20, CD23 антигенів. Встановлення діагнозу ДБКЛ, ФЛ можливо без виконання імуногістохімії, що скорочує тривалість дослідження, не знижує точність діагностики.

Найбільш частим клітинним типом лімфом є ЛМЗ – 69%, при чому серед них 16% становлять CD5+ ЛМЗ (рис. 3).

1. Рис. 3. Розподіл лімфом орбіти та придатків ока за клітинним типом.

В результаті імуногістохімічного дослідження уточнення діагнозу відбулось у 18% випадків. Найбільш важкою в діагностиці ЛПН орбіти і придатків ока є кон’юнктивальна локалізація пухлини в силу особливостей морфологічної будови, а також невеликої кількості біопсійного матеріалу, який можливо взяти для дослідження. Це обумовлює необхідність проведення цитогенетичного дослідження.

**Цитогенетичні критерії діагностики лімфопроліферативних новоутворень орбіти та придатків ока.** Для визначення диференційно-діагностичного значення цитогенетичної характеристики ЛМЗ, ЛЗМ враховувалися наступні показники: мітотичний індекс, кількість патологічних, фізіологічних, а також мітозів, що важко диференціювати, кількість мітозів, що знаходяться на початкових стадіях поділу клітини. Єдиним показником із статистично значимими розбіжностями між типами ЛМЗ був мітотичний індекс (МІ) (табл.).

*Таблиця*

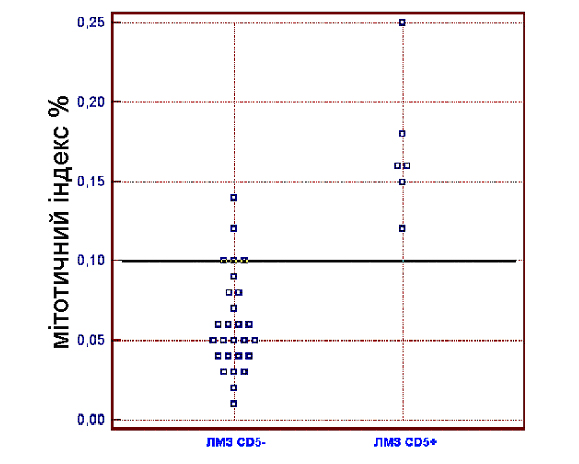
1. **Цитогенетична характеристика лімфом маргінальної та мантійної зони (M±SD, %)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Цитогенетична характеристика | Клітинний тип | | |
| ЛМЗ CD5– (n=27) | ЛМЗ CD5+ (n=6) | ЛЗМ (n=2) |
| Мітотичний індекс | 0,08±0,031 | 0,17±0,04 | 1,08±0,34 |
| р<0,05 | |
| Кількість патологічних мітозів | 59,4±15,2 | 55,8±6,7 | 52,25±20,9 |
| р>0,05 | |
| Кількість фізіологічних мітозів | 32,63±14,2 | 34,4±11,3 | 35,0±25,5 |
| р>0,05 | |
| Кількість мітозів, що важко встановити | 9,8±7,4 | 9,9±7 | 12,75±4,6 |
| Кількість мітозів, що знаходились на початкових стадіях поділу | 59,3±14,2 | 61,8±13,8 | 74±12,7 |
| р>0,05 | |

Примітка. Рівень значимості (р) визначався між ЛМЗ CD5– та ЛМЗ CD5+.

Для визначення практичного значення використання МІ при диференціації CD5+ і CD5– ЛМЗ застосували ROC-аналіз з побудовою ROC-кривої. Ці дані наочно представлені на точковій діаграмі (рис. 4.).

„Оптимальна точка розподілу” склала 0,1%. При цьому „чутливість” діагностичного тесту становила 100%, а „специфічність” – 92,6%. Тобто, якщо в пухлині МІ вище 0,1%, то вірогідність того, що це CD5– ЛМЗ становить 7,4%. Якщо в пухлині МІ дорівнює 0,1% і менше, то вірогідність, що це CD5– ЛМЗ складає 100%.



1. Рис. 4. Точкова діаграма, «точка перегину» на рівні МІ 0,1%.

Цитогенетичне дослідження доцільно використовувати тільки при лімфоїдних новоутвореннях, що складаються з мілких клітин, при чому це повинні бути лімфоми.

**Система діагностичних заходів при лімфопроліферативних новоутвореннях орбіти та придатків ока.** На основі отриманих клінічних, морфологічних, імуногістохімічних та цитогенетичних даних запропонована система діагностичних заходів, визначених у послідовності та об’ємі проведення.

Запропонована схема діагностики ЛПН орбіти та придатків ока наступна у разі:

ДБКЛ – морфологічне дослідження (виявлення крупних клітин);

ФЛ – морфологічне дослідження (виявлення мілких клітин з поодинокими бластними формами лімфоцитів);

ЛМЗ (1 варіант) - морфологічне дослідження (визначення мілких клітин, мономорфна структура), клінічні ознаки (хворому більше 62 років, пухлина локалізована в орбіті) – цитогенетичне дослідження (визначення МІ вище 0,1% – CD5+ ЛМЗ, менший 0,1% – CD5– ЛМЗ); ЛМЗ (2 варіант) - морфологічне дослідження (виявлення мілких клітин, поліморфна структура), імуногістохімічне дослідження (перший етап – kappa, lambda, CD3, CD20); другий етап – CD5, CD23, Cyclin D); ЛМЗ (3 варіант) - морфологічне дослідження (виявлення мілких клітин, мономорфна структура), клінічні ознаки (проростання тарзоорбітальної фасції), цитогенетичне дослідження (МІ: вище 0,1% – CD5+ ЛМЗ, менший 0,1% – CD5– ЛМЗ); ЛМЗ (4 варіант) - морфологічне дослідження (виявлення мілких клітин, мономорфна структура), клінічні ознаки (хворому 62 або менше років, орбітальна локалізація або придатків ока), імуногістохімічне дослідження (перший етап – kappa, lambda, CD3, CD20; другий етап – CD5, CD23, Cyclin D1).

ЛЗМ (1 варіант) - морфологічне дослідження (визначення мілких клітин, мономорфна структура), клінічні ознаки (хворому більше 62 років, пухлина локалізована в орбіті) – цитогенетичне дослідження (високий МІ вище 0,4%); ЛЗМ (2 варіант) - морфологічне дослідження (визначення мілких клітин, поліморфна структура), імуногістохімічне дослідження (перший етап – kappa, lambda, CD3, CD20; другий етап – CD5, CD23, Cyclin D1); ЛЗМ (3 варіант) - морфологічне дослідження (визначення мілких клітин, мономорфна структура), клінічні ознаки (хворому менше 62 років, або пухлина не локалізована в орбіті), імуногістохімічне дослідження (перший етап – kappa, lambda, CD3, CD20; другий етап – CD5, CD23, Cyclin D1).

Плазмоцитома – морфологічне дослідження (виявлення клітин з ексцентричним ядром), імуногістохімічне дослідження (використання антитіл kappa, lambda).

РЛГ – морфологічне дослідження (виявлення мілких клітин, поліморфна картина), імуногістохімічне дослідження (використання kappa, lambda).

Використання запропонованих діагностичних заходів дозволяє спростити проведення диференційної діагностики ЛПН орбіти та придатків ока; виключити застосування імуногістохімічного дослідження на 39%, зменшити використання антитіл на 50%. Цитогенетичне дослідження у поєднанні з морфологічними та клінічними дослідженнями дозволяє встановити діагноз ЛМЗ або ЛЗМ.

Запропонована схема діагностичних заходів для диференційної діагностики між клітинними типами ЛПН орбіти та придатків ока, який заключається у етапному та послідовному застосуванні клінічних, морфологічних, цитогенетичних, імуногістохімічних досліджень, при зменшенні об’єму діагностичних заходів та спрощенні їх проведення, дозволяє з вірогідністю 96% встановлювати діагноз.

Можлива діагностична похибка складає 4%, що обумовлено відсутністю вираховування лімфом ЛЦЛ. Цей тип лімфом при застосуванні запропонованого алгоритму буде діагностовано як ЛМЗ. Підхід у лікуванні хворих з ЛМЗ і ЛЦЛ на сьогодні не відрізняється і прогноз щодо життя майже однаковий.

**ВИСНОВКИ**

1. Серед злоякісних новоутворень орбіти та придатків ока лімфоми становлять біля 15%. Відсутня єдина думка щодо ступеня злоякісності CD5+ та CD5- лімфом маргінальної зони орбіти та придатків ока. Поліморфність клінічної картини та схожість гістологічної структури утруднює проведення диференційної діагностики між лімфопроліферативними новоутвореннями орбіти та придатків ока, що викликає необхідність у розробці діагностичних заходів, які б враховували структурні особливості пухлин цієї області.
2. Модифікований спосіб діагностики мілкоклітинних лімфопроліферативних новоутворень у клінічній офтальмоонкології необхідно проводити у два етапи: проведення диференційної діагностики між реактивною лімфоїдною гіперплазією та лімфомою на першому етапі; в разі наявності В-клітинної лімфоми проводиться другий етап по встановленню клітинного типу останньої. Це дозволяє зменшити використання кількості антитіл до 7 (kappa, lambda, CD3, CD5, CD20, CD23, Cyclin D1).
3. Серед лімфом орбіти та придатків ока превалюють лімфоми маргінальної зони (69%), CD5- тип становить 84% від всіх лімфом маргінальної зони.
4. Встановлено, що вірогідність наявності мілкоклітинної лімфоми, яка має мономорфну структуру у хворого віком більше 62 років становить не менше 92,6%.
5. Доповнені наукові дані про те, що дифузні В-крупноклітинні лімфоми орбіти та придатків ока представлені лімфобластним варіантом.
6. Встановлено, що значимою ознакою для проведення диференційної діагностики між CD5+ та CD5- лімфомами маргінальної зони орбіти і придатків ока є мітотичний індекс, для CD5+ лімфом маргінальної зони він становить більше 0,1%.
7. Запропонований комплекс заходів дозволяє спростити діагностику лімфопроліферативних новоутворень орбіти та придатків ока шляхом відмови від застосування складного імуногістохімічного дослідження при пухлинах, що складаються із центробластів, і при мілкоклітинних новоутвореннях з мономорфною гістологічною структурою у хворих похилого віку.

**СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

* + - 1. Яковенко Т.О., Віт В.В. Структура лімфопроліферативних новоутворень орбіти та придатків органа зору згідно класифікації ВООЗ // Офтальмол. журн. – 2006. – № 3 – С. 253–255.
      2. Яковенко Т.О. Роль цитогенетичного дослідження в диференційній діагностиці лімфом маргінальної зони і зони мантії при ураженнях орбіти та придатків ока // Офтальмол. журн. – 2007. – № 2 – С. 57–60.
      3. Яковенко Т.О. Комплекс діагностичних заходів для диференціальної діагностики різних типів лімфопроліферативних новоутворень орбіти та придатків ока // Офтальмол. журн. – 2007. – № 3 – С. 46–49.
      4. Пат. № 26436 Україна МПК G01N 33/53 Спосіб диференційної діагностики лімфопроліферативних новоутворень орбіти та придатків ока / Т.О. Яковенко – U 2007 03408; Заявл. 29.03.2007; Опубл. 25.09.2007, Бюл. №15. – С. 5.66.
      5. Яковенко Т.А., Вит В.В. Иммуноморфологическая и цитогенетическая характеристика лимфом орбиты и придатков глаза // Сб. научных трудов научно-практической конференции “ Офтальмология стран Причерноморья BSOS-IV”. - Краснодар, 2006. – С. 99–100.
      6. Яковенко Т.О. Структура лімфопроліферативних новоутворень орбіти та придатків органа зору // Тези І науково-практичної конференції молодих вчених-офтальмологів України „Сучасні аспекти судинних і дистрофічних захворювань органа зору”. – Харків, 2006. – С. 128–129.
      7. Яковенко Т.А. Использование характеристической кривой (ROC-кривая) для поиска оптимального значения митотического индекса в дифференциальной диагностике лимфом орбиты и придатков глаза // Сб. тезисов юбилейной научно-практической конференции „Федоровские чтения – 2007”. – М., 2007. – С. 310.
      8. Vit V.V., Iakovenko T.O., Zborovska O.V. The structure of lymphoproliferative neoplasms and role of cytogenetic investigation in differential diagnosis of marginal-zone lymphomas in patients with orbital and ocular adnexa lesions / 105. DOG-Kongress. 150 jahre wissenschaftsaustausch und innovation in der augenheikunde 2007. – 1 електрон. опт. диск (CD-ROM): кол. 12 см. – Систем. вимоги: Windows 95/98/ME/NT4/2000/XP. Acrobat Reader.- Заголовок з титул. екрану.

**АНОТАЦІЯ**

**Яковенко Т.О. Оптимізація діагностики лімфопроліферативних новоутворень орбіти та придатків ока.** – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.18 – офтальмологія. – Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова АМН України, Одеса, 2008.

Дисертація присвячена розробці оптимальної схеми діагностики при лімфопроліферативних новоутвореннях орбіти та придатків ока. Діагностику лімфопроліферативних новоутворень у клінічній офтальмоонкології необхідно проводити у два етапи: проведення диференційної діагностики між реактивною лімфоїдною гіперплазією та лімфомою на першому етапі; в разі наявності В-клітинної лімфоми проводиться другий етап по встановленню клітинного типу останньої. Це дозволяє зменшити використання кількості антитіл до 7 (kappa, lambda, CD3, CD5, CD20, CD23, Cyclin D1). Серед лімфом орбіти та придатків ока превалюють лімфоми маргінальної зони (69%), CD5- тип становить 84% від всіх лімфом маргінальної зони. Наявність мілкоклітинної лімфоми, яка має мономорфну структуру, у хворого віком більше 62 років становить не менше 92,6%. Дифузні В-крупноклітинні лімфоми орбіти та придатків ока представлені лімфобластним варіантом. Значимою ознакою для проведення диференційної діагностики між CD5+ та CD5- лімфомами маргінальної зони орбіти і придатків ока є мітотичний індекс, для CD5+ лімфом маргінальної зони він становить більше 0,1%.

**Ключові слова:** лімфопроліферативні новоутворення, лімфома, реактивна лімфоїдна гіперплазія, імуногістохімія, морфологія.

**АННОТАЦИЯ**

**Яковенко Т.А. Оптимизация диагностики лимфопролиферативных новообразований орбиты и придатков глаза.** – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.18 – офтальмология. – Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова АМН Украины, Одесса, 2008.

Диссертация посвящена разработке оптимального диагностического алгоритма при лимфопролиферативных новообразованиях орбиты и придатков глаза.

Среди злокачественных новообразований орбиты и придатков глаза лимфомы составляют около 15%. Отсутствует единое мнение относительно степени злокачественности CD5+ и CD5- лимфом маргинальной зоны орбиты и придатков глаза. Полиморфность клинической картины и сходство гистологической структуры усложняет проведение дифференциальной диагностики между лимфопролиферативными новообразованиями орбиты и придатков глаза, что, в свою очередь, вызывает необходимость разработки диагностических мероприятий, которые учитывали бы структурные особенности опухолей этой области.

Модифицированный нами способ диагностики мелкоклеточных лимфопролиферативных новообразований в клинической офтальмоонкологии необходимо проводить в два этапа: проведение дифференциальной диагностики между реактивной лимфоидной гиперплазией и лимфомой на первом этапе; в случае наличия В-клеточной лимфомы проводится второй этап по установлению клеточного типа последней. Это позволяет уменьшить использование количества антител до 7 (kappa, lambda, CD3, CD5, CD20, CD23, Cyclin D1).

При иммуногистохимическом исследовании определялся тип лимфопролиферативных новообразований (реактивная лимфоидная гиперплазия, лимфома маргинальной зоны, лимфома зоны мантии, диффузная В-крупноклеточная лимфома, фолликулярная лимфома, лимфоцитарная лимфома, плазмоцитома). Всего проведено 73 исследования. В результате было установлено, что доброкачественные новообразования составляют 22%, а злокачественные – 78%. Среди лимфом орбиты и придатков глаза преобладают лимфомы маргинальной зоны (69%), CD5- тип составляет 84% от всех лимфом маргинальной зоны.

При проведении клинического исследования учитывалось 8 клинических признаков у 73 больных: пол, возраст, локализация лимфопролиферативних новообразований, наличие билатерального поражения, прорастания тарзоорбитальной фасции, поражения стенки орбиты, степень экзофтальма, ограничения подвижности глаза. Установлено, что только возраст имеет статистически значимые различия у больных реактивной лимфоидной гиперплазией и лимфомой (p<0,05). Вероятность наличия мелкоклеточной лимфомы, которая имеет мономорфную структуру, у больного старше 62 лет составляет не менее 92,6%.

Морфологическое исследование выполнено на 73 гистологических препаратах. Установлено, что среди лимфопролиферативных новообразований преобладают опухоли, состоящие из мелких лимфоцитов с центрально расположенным ядром (82%). В этих опухолях отсутствуют фолликулярные структуры.

Дополнены научные данные о том, что диффузные В-крупноклеточные лимфомы орбиты и придатков глаза представлены лимфобластным вариантом. Также установлено, что диагноз диффузная В-крупноклеточная лимфома и фолликулярная лимфома орбиты и придатков глаза возможно установить уже на этапе морфологического исследования. В первом случае - при наличии крупных клеток, которые имеют лимфоидное происхождение, а во втором - при обнаружении мелкоклеточной лимфомы, у которой определяются фолликулярные структуры.

Цитогенетическое исследование выполнено на 31 гистологическом препарате в случаях наличия диагноза лимфома зоны мантии или лимфома маргинальной зоны. Учитывались следующие показатели: митотический индекс, количество патологических, физиологических, а также трудно дифференцируемых митозов и количество митозов, которые находятся на начальных стадиях. Единственным показателем со статистически значимыми различиями между типами лимфомы маргинальной зоны был митотический индекс.

Установлено, что значимым признаком для проведения дифференциальной диагностики между CD5+ и CD5- лимфомами маргинальной зоны орбиты и придатков глаза является митотический индекс, для CD5+ лимфом маргинальной зоны он составляет больше 0,1%.

Предложенный комплекс мероприятий позволяет упростить диагностику лимфопролиферативных новообразований орбиты и придатков глаза путем отказа от применения сложного иммуногистохимического исследования при опухолях, которые состоят из центробластов, и при мелкоклеточных новообразованиях с мономорфной гистологической структурой у больных преклонных лет.

**Ключевые слова:** лимфопролиферативные новообразования, лимфома, реактивная лимфоидная гиперплазия, иммуногистохимия, морфология.

**ANNOTATION**

**Yakovenko T.O. Optimization diagnostics’s of lymphoproliferative neoplasms of orbit and ocular adnexa** - Manuscript.

Thesis for a candidate’s degree by speciality 14.01.18 - оphthalmology. - The Filatov Institute of Eye Disease and Tissue Therapy, Academy of Medical Sciences of Ukraine, Odessa, 2008.

Dissertation is devoted to development of optimum diagnostic algorithm at lymphoproliferative neoplasms of orbit and ocular adnexa. Modified method of diagnostics of small cell lymphoproliferative neoplasms in clinical ophthalmooncology it is necessary to perform in two stages: leadthrough of differential diagnostics between reactive lymphoid hyperplasia and lymphoma at the first stage; in the case of presence of B-cell of lymphoma the second stage should be performed conducted on establishment of cellular type of the last. It allows to decrease the use of amount of antibodies to 7 (kappa, lambda, CD3, CD5, CD20, CD23, Cyclin D1). The marginal zone lymphomas (69%) are predominate among the lymphomas of orbit and ocular adnexa, CD5- a type is 84% from all of marginal zone lymphomas. It was established that probability of small cell lymphoma presence which has monomorphic structure less than 92,6% in patients more than 62. Diffuse large B-cell lymphomas of orbit and ocular adnexa are presented a lymphoblastic variant. Established that a meaningful sign for the leadthrough of differential diagnostics between CD5+ and CD5- is mitotical index of marginal zone lymphomas of orbit and ocular adnexa, for CD5+ of the marginal zone lymphomas is more than 0,1%.

**Key words:** lymphoproliferative neoplasms, lymphoma, reactive lymphoid hyperplasia, immunohystochemistry, morphology.

# Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>