

# Pułapki w diagnostyce chłoniaków z komórek B

## Pitfalls in the diagnosis of B-cell lymphomas

Monika Prochorec-Sobieszek

Pracownia Patomorfologii, Zakład Diagnostyki Hematologicznej i Transfuzjologicznej,  
Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

### Streszczenie

*Podstawą diagnostyki chłoniaków jest korelacja cech klinicznych, morfologicznych, immunofenotypowych i genetycznych. Mimo sprecyzowanych przez Światową Organizację Zdrowia (WHO) kryteriów dla poszczególnych jednostek histoklinicznych rozpoznawanie chłoniaków jest jednym z najtrudniejszych zadań w histopatologii. Najczęstsze pomyłki dotyczą: 1) błędnego różnicowania zmian odczynowych i chłoniaków; 2) nieprawidłowego klasyfikowania poszczególnych typów chłoniaków; 3) nieprawidłowej interpretacji immunofenotypu chłoniaków; 4) trudności w ocenie klonalności w badaniach molekularnych. Prawidłowe rozpoznawanie i klasyfikowanie trudnych przypadków wymaga ścisłej współpracy klinicysty, patologa i biologa molekularnego. Celem pracy jest wskazanie klinicystom i patologom przyczyn najczęstszych pomyłek.*

**Słowa kluczowe:** hematopatologia, chłoniaki z komórek B, diagnostyka różnicowa

*Hematologia* 2010; 1, 4: 271–279

### Abstract

*Lymphoma diagnosis is based on the correlation of clinical, morphological, immunophenotypical and genetic features. Although the World Health Organization (WHO) criteria for different clinicopathological entities are defined, lymphoma diagnosis is one of the most difficult tasks in histopathology. The most common mistakes include: 1) errors in differentiation between reactive changes and lymphomas; 2) incorrect classification of the various types of lymphomas; 3) incorrect interpretation of lymphoma immunophenotype; 4) difficulties in clonality assessment in molecular studies. Accurate diagnosis and classification of difficult cases requires the cooperation of the clinician, pathologist and molecular biologist. The aim of this article is to point to clinicians and pathologist the most common causes of mistakes.*

**Key words:** hematopathology, B-cell lymphoma, differential diagnosis

*Hematologia* 2010; 1, 4: 271–279

### Wprowadzenie

Zgodnie z klasyfikacją Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) podstawą diagnostyki chłoniaków jest korelacja cech

klinicznych, morfologicznych, immunofenotypowych i genetycznych [1]. Prawidłowe rozpoznanie ma znaczenie dla dalszego postępowania terapeutycznego. Mimo sprecyzowanych kryteriów dla poszczególnych jednostek histoklinicznych diagnostyki

**Adres do korespondencji:** Monika Prochorec-Sobieszek, Pracownia Patomorfologii, Zakład Diagnostyki Hematologicznej i Transfuzjologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa, ul. Indiry Gandhi 14, 02–776 Warszawa, e-mail: monika.prochorec@interia.pl

ka chłoniaków jest jednym z najtrudniejszych zadań w histopatologii i nawet doświadczeni patolodzy miewają z tym trudności. Pomyłki mogą być wynikiem nieprawidłowego różnicowania zmian odczynowych i nowotworowych, co powoduje niedodiagnozowanie lub przediagnozowanie i ma największe konsekwencje terapeutyczne. Niekiedy zdarza się błędne klasyfikowanie poszczególnych typów chłoniaków [2]. LaCasce i wsp. [3] przebadali zgodność rozpoznań chłoniaków z komórek B wśród patologów z ośrodków onkologicznych i referencyjnych zajmujących się diagnostyką hematologiczną. Największa zgodność (ok. 95%) dotyczyła chłoniaka rozlanego z dużych komórek B (DLBCL, *diffuse large B cell lymphoma*) i chłoniaka grudkowego (FL, *follicular lymphoma*) w stopniu G1–2, a najmniejsza (88%) — FL w stopniu G3. Niezgodność rozpoznań obserwowano również w przypadkach chłoniaka limfocytowego (SLL, *small lymphocytic lymphoma*) (10% przypadków), chłoniaka z komórek płaszczka (MCL, *mantle cell lymphoma*) (7%) i węzłowego chłoniaka strefy brzeżnej (NMZL, *nodal marginal zone lymphoma*) (5%). Według *International Lymphoma Study Group* [4] nieprawidłowe rozpoznania, oparte wyłącznie na morfologii, dotyczyły najczęściej (ok. 50% przypadków) chłoniaka Burkitta (BL, *Burkitt lymphoma*) i pierwotnego chłoniaka śródpiersia (PMLBCL, *primary mediastinal large B-cell lymphoma*). Zastosowanie barwień immunohistochemicznych (IHC) i korelacja z danymi klinicznymi znacznie poprawiały zgodność rozpoznań.

Przyczyną pomyłek mogą być również czynniki obiektywne, niezależne od kompetencji patologa [5]. Nieodpowiednio pobrany materiał do badań może być niewystarczający lub niereprezentatywny dla całej zmiany. Nieprawidłowy proces obróbki histopatologicznej, polegający najczęściej na niewłaściwym utrwaleniu materiału, powoduje inaktywację receptorów białkowych komórek, co jest przyczyną błędnej interpretacji odczynów IHC.

Patologia to jedna z najbardziej obiektywnych dziedzin w medycynie, ale wyczerpujące dane kliniczne zawsze ułatwiają i ukierunkowują diagnozę. W pewnych przypadkach nie można dokonać właściwego rozpoznania bez informacji o stanie klinicznym chorego, na przykład w przypadku chłoniaka strefy brzeżnej śledziony (SMZL, *splenic marginal zone lymphoma*), PMLBCL i chłoniaków skórnych.

### Zmiany odczynowe a chłoniaki z komórek B

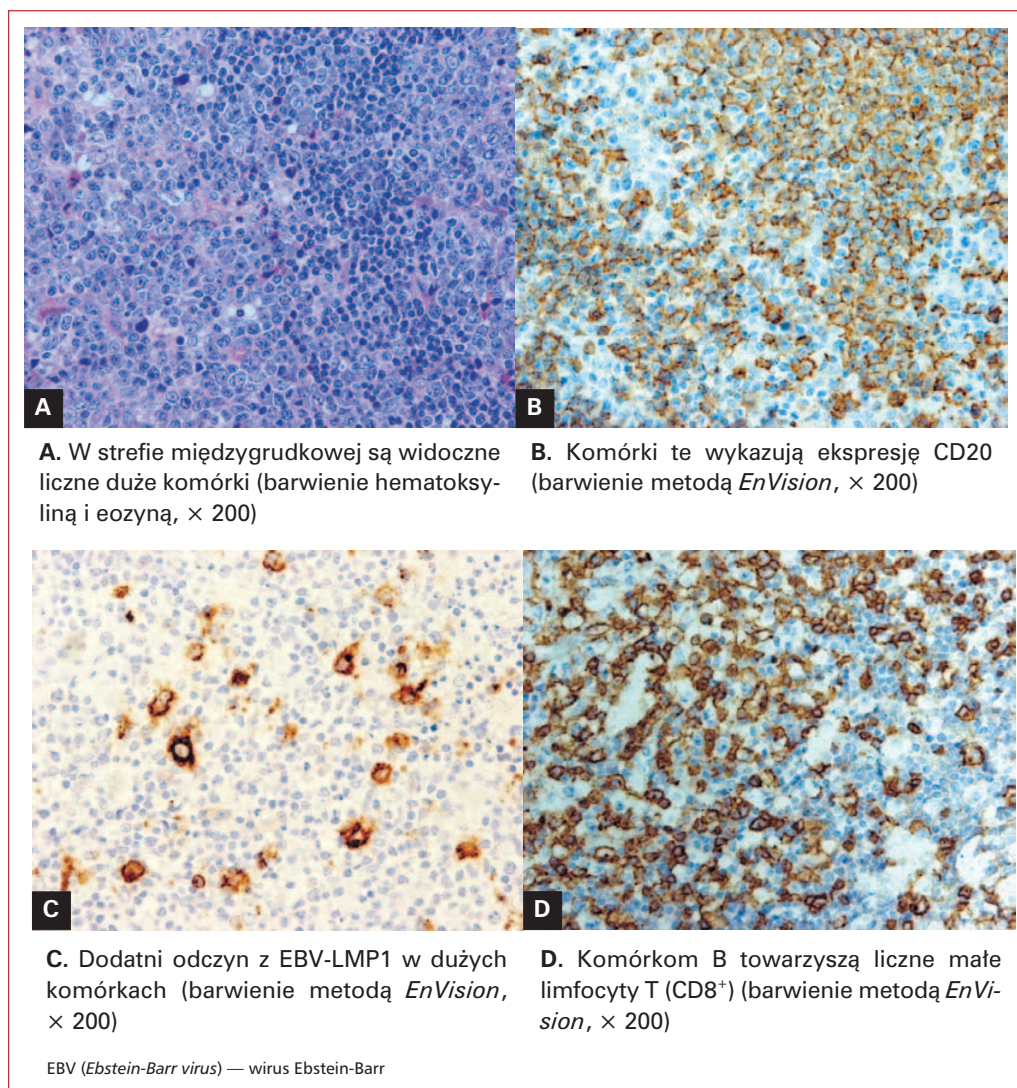
Obraz morfologiczny niektórych odczynowych limfoproliferacji charakteryzuje się zwiększoną

liczbą dużych komórek. Jeśli towarzyszy temu zatarcie architektoniki rozrostu, odczyn te mogą bardzo przypominać DLBCL. Typowym przykładem jest mononukleoza zakaźna — łagodna limfoproliferacja związana z infekcją wirusem Ebstein-Barr (EBV, *Ebstein-Barr virus*), występująca głównie w migdałkach u młodych osób. Odczynowe limfoproliferacje, przypominające rozrost nowotworowy, mogą się również pojawić w węzłach chłonnych w przebiegu innych infekcji wirusowych (np. wirusem opryszczki), w odczynach poszczepiennych i odczynach z nadwrażliwości, w tym polekowych. Obecność resztek prawidłowego utkania węzła lub migdałka, brak wyraźnej atypii dużych komórek, cechy dojrzewania limfocytów B do komórek plazmatycznych oraz mieszana populacja limfocytów B i T przemawiają za procesem odczynowym. Wykazanie poliklonalnej produkcji immunoglobulin w badaniach IHC pomaga w rozpoznaniu [6].

Niektóre typy chłoniaków z komórek B, w tym pozawęzłowy chłoniak strefy brzeżnej typu MALT (*mucosa-associated lymphoid tissue*) — ze względu na niewielką atypię komórek chłoniaka i brak monotonii komórkowej — mogą przypominać zmiany odczynowe. Przyczyną niedodiagnozowania w pewnych typach klasycznego chłoniaka Hodgkina (HL, *Hodgkin lymphoma*) i *lymphomatoid granulomatosis* może być niewielka liczba komórek nowotworowych w obfitym podścielisku zapalnym. Podobieństwa morfologiczne między FL (szczególnie w stopniu G3) a odczynem grudkowym oraz HL z polami martwicy i chorobą kociego pazura także mogą być przyczyną pomyłek. Rozpoznanie choroby kociego pazura na podstawie badania węzła chłonnego śródpiersia lub nadobojczykowego jest najczęściej nieprawidłowe; w tych przypadkach zazwyczaj jest to HL typu stwardnienia guzkowego (NS, *nodular sclerosis*) [2].

### Przypadek 1.

W badaniu przedmiotowym 12-letniego chłopca z gorączką, bólem gardła, obustronnym powiększeniem szyjnych węzłów chłonnych i splenomegalią stwierdzono znacznie powiększone migdałki utrudniające oddychanie oraz ropnie okołomigdałkowe. Wykonano tonsilektomię. W obrazie mikroskopowym w strefie międzygrudkowej opisano liczne duże komórki o morfologii immunoblastów i dwujądrowe immunoblasty przypominające komórki Reed-Sternberga (R-S) z ekspresją CD20 oraz wysoki indeks proliferacyjny (Ki67/MIB1 w 80% komórek) (ryc. 1.A, B). Rozpoznano DLBCL i skierowano chorego do ośrodka hematologicznego, gdzie ponownie konsultowano preparaty z mig-



**Rycina 1.** Mononukleozą zakaźną w migdałku błędnie rozpoznana jako chłoniak rozlany z dużych komórek B

**Figure 1.** Infectious mononucleosis affecting tonsil misdiagnosed as diffuse large B-cell lymphoma

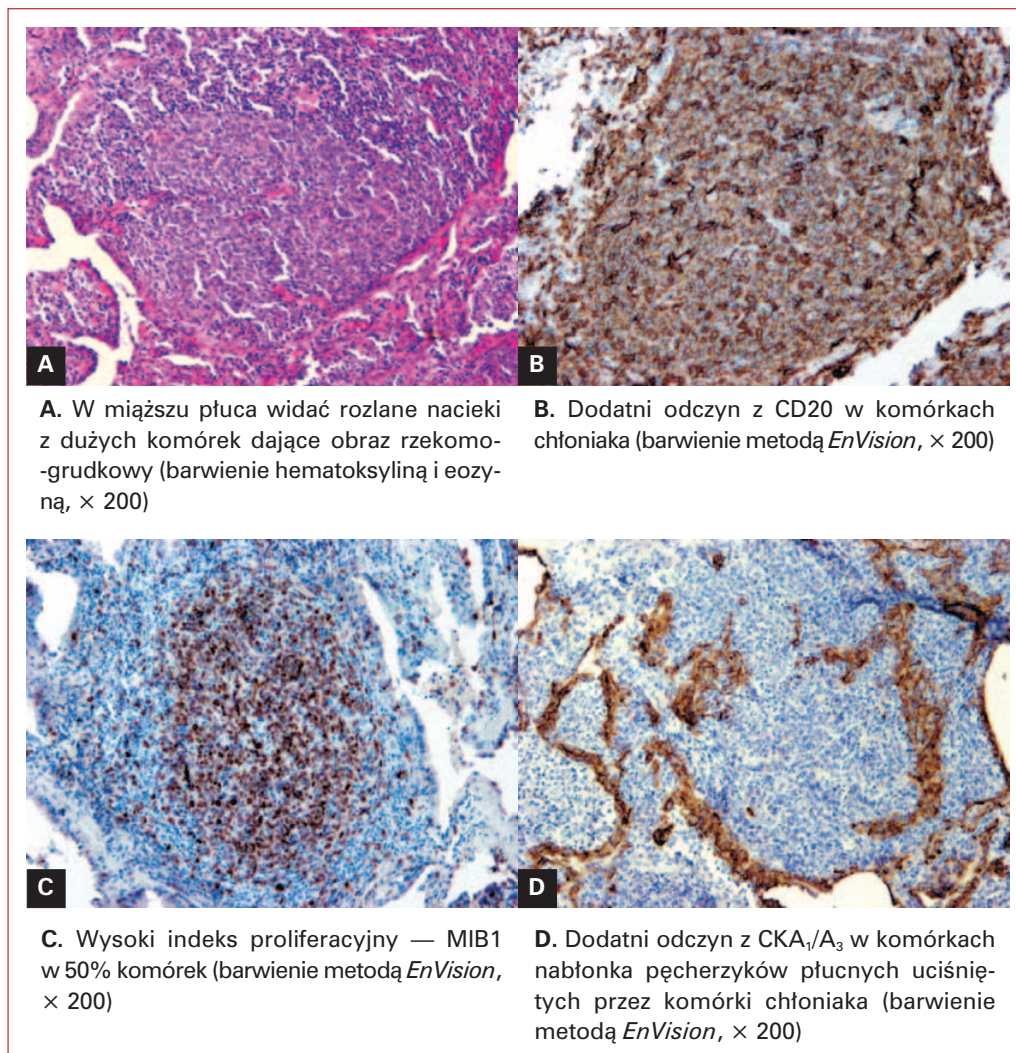
dałka. Ujawniono ekspresję EBV-LMP1 w immunoblastach o fenotypie CD20+, BCL6–, CD30+/-, CD15– (ryc. 1.C). Towarzyszyły im małe limfocyty T CD3+, z przeważającą populacją limfocytów T CD8+ (ryc. 1.D). Rozpoznano odczynową limfoproliferację w przebiegu infekcji EBV, potwierdzoną w badaniu serologicznym. Chory wyzdrowiał samostannie. U młodych osób rozpoznania DLBCL często dokonuje się na podstawie biopsji migdałka. W każdym takim przypadku należy skorelować obraz histopatologiczny ze stanem klinicznym i wynikami badań serologicznych świadczących o infekcji EBV.

### Przypadek 2.

U 66-letniej chorej, ze zmianami śródmiąższowymi płuc i postępującą dusznością, niepowiększo-

nymi węzłami chłonnymi śródpiersia, jamy brzusznej i obwodowymi oraz prawidłową morfologią krwi obwodowej, w biopsji płuca (w pierwszym ośrodku) rozpoznano odczynową hiperplazję tkanki limfoidalnej. Ze względu na towarzyszące zmianom płucnym przewlekłe zapalenie zatok, bóle stawowe, dodatni czynnik reumatoidalny oraz obecność przeciwciał przeciw cytoplazmie neutrofilów (ANCA, *anti-neutrophil cytoplasmic antibodies*) typu cytoplazmatycznego (cANCA) i okołojądrowego (pANCA) wysunięto podejrzenie ziarniniaka Wegenera. Preparaty przesłano do kolejnej oceny. Materiał zawierał fragment bezpowietrznego mięszu płuca z rozlanymi naciekami z dużych komórek B (CD20+, BCL6+, BCL2–, CD10–, MIB1 w 70% komórek), które — rozrastając się w przestrzeniach międzypęcherzy-





**Rycina 2.** Chłoniak rozlany z dużych komórek B płuca błędnie rozpoznany jako odczynowa hiperplazja tkanki chłonnej  
**Figure 2.** Pulmonary diffuse large B-cell lymphoma misdiagnosed as reactive lymphoid hyperplasia

kowych — dawały obraz rzekomogrudkowy, sugerując odczyn grudkowy, co było przyczyną pomyłki. Rozpoznano DLBCL płuca (ryc. 2.A–D).

### Błędne klasyfikowanie chłoniaków

Nieprawidłowe rozpoznania chłoniaków według klasyfikacji WHO są nieuniknione ze względu na brak „złotych standardów” diagnostycznych w odniesieniu do wielu wyodrębnionych w tej klasyfikacji jednostek. Największe skutki terapeutyczne ma rozpoznanie chłoniaka o mniejszej złośliwości w przypadku chłoniaka agresywnego oraz pomylenie HL z chłoniakiem nieziarnicznym (NHL, *non-Hodgkin lymphoma*). Chłoniak limfoblastyczny (LBL, *lymphoblastic lymphoma*) i BL są zbudowane z komórek średniej wielkości. Ze względu na arte-

fakt obkurczania się komórek, w złych technicznie preparatach agresywne chłoniaki mogą zostać pomylone z chłoniakami z małych komórek. W tych przypadkach ważne jest barwienie IHC z Ki67/MIB1 i wykazanie dużego indeksu proliferacyjnego ( $> 50\%$ ).

### Przewlekła białaczka limfocytowa a chłoniak z komórek płaszczą

Chociaż zarówno przewlekła białaczka limfocytowa (CLL, *chronic lymphocytic leukemia*), jak i MCL mają charakterystyczną morfologię i fenotyp, zdarzają się przypadki o nietypowych cechach, które mogą być przyczyną pomyłek. Komórki CLL w badaniu metodą cytometrii przepływowej wykazują słabą ekspresję powierzchniowych Ig, CD20 i CD22,

ekspresję CD5, CD23 i CD11c oraz często brak ekspresji FMC7. Z kolei komórki MCL charakteryzują się silną ekspresją powierzchniowych Ig, CD20, CD22 i FMC7, słabą ekspresją CD5 i brakiem ekspresji CD23. W barwieniu IHC w większości przypadków MCL można wykazać jądrowy odczyn z cykliną D1 [1]. Jednak zdarzają się przypadki CLL bez ekspresji CD23 i wtedy obecność innych antygenów typowych dla CLL oraz brak ekspresji cykliny D1 wyklucza rozpoznanie MCL. Opisywane są również MCL bez ekspresji CD5 i wydaje się, że mają one bardziej łagodny przebieg niż MCL z klasycznym fenotypem [7]. Chłoniaki z komórek płaszczka bez ekspresji CD5, ze względu na podobny fenotyp, mogą być mylone z chłoniakami strefy brzeżnej. O rozpoznaniu decyduje obecność cykliny D1 i charakterystyczna dla MCL morfologia. Jednak możliwość takiego wariantu MCL skłania do wykonywania odczynu z cykliną D1 w przypadkach chłoniaków o fenotypie CD20+, CD5-, CD23-, CD10-, ponieważ MCL cechuje bardziej agresywny przebieg niż chłoniaki indolentne.

Brak cykliny D1 również nie wyklucza rozpoznania MCL [8]. Wariant MCL bez ekspresji cykliny D1 charakteryzuje się tym samym profilem ekspresji genów i innymi cechami, co jego odpowiednik z dodatnią cykliną D1, z wyjątkiem braku ekspresji genu dla cykliny D1. Przypadki te charakteryzują się ekspresją cykliny D2 lub D3, ale przeciwciała te nie są standardowo dostępne w pracowniach hematopatologicznych. Rozpoznanie MCL bez ekspresji cykliny D1 jest niełatwym zadaniem diagnostycznym, ponieważ inne chłoniaki mogą morfologicznie przypominać utkanie MCL, a w tym przypadku nie ma do dyspozycji żadnego stosowanego rutynowo markera potwierdzającego rozpoznanie. Okazuje się, że odczyn z cykliną D1 może się pojawić ogniskowo w CLL, co jeszcze bardziej komplikuje diagnostykę obu tych chłoniaków [9].

### **Chłoniak limfoplazmocytowy a chłoniak strefy brzeżnej**

Chłoniak limfoplazmocytowy (LPL, *lymphoplasmacytic lymphoma*) jest rozrostem z limfocytów, limfoplazmocytoz i komórek plazmatycznych. W przypadku towarzyszącej paraproteinemii IgM należy rozpoznać makroglobulinemię Waldenströma (WM, *Waldenström macroglobulinemia*) [1]. Ze względu na brak charakterystycznych cech fenotypowych i genetycznych rozpoznanie LPL polega na wykluczeniu innych chłoniaków z małych komórek z różnicowaniem plazmatycznokomórkowym, dlatego zgodność rozpoznań w przypadku tego chłonia-

niaka wynosi około 56% [4]. Chłoniak strefy brzeżnej ma podobny fenotyp, charakteryzuje się różnicowaniem plazmatycznokomórkowym i też może mu towarzyszyć paraproteineimie IgM. Z tego powodu różnicowanie między tymi jednostkami bywa czasami niemożliwe.

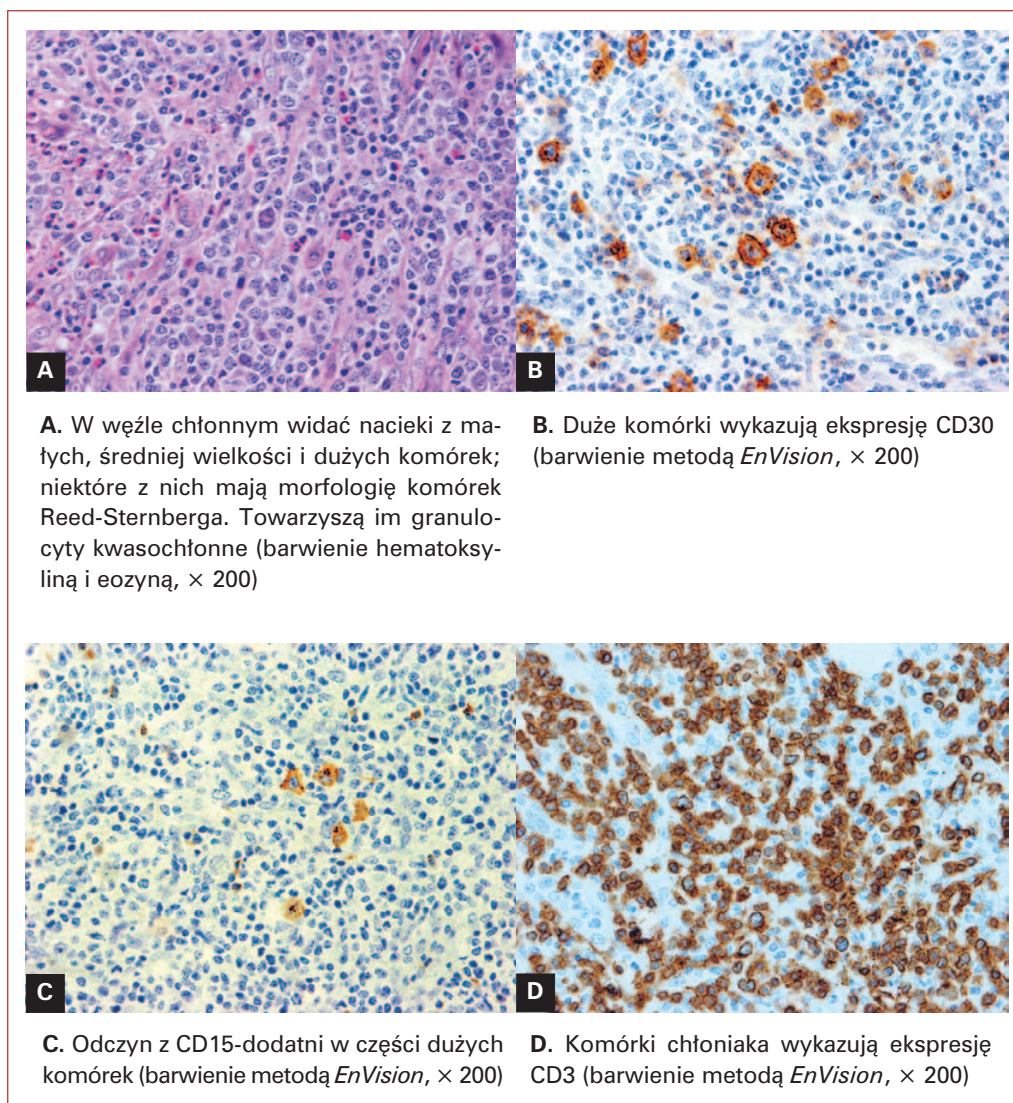
### **Klasyczny chłoniak Hodgkina a chłoniak anaplastyczny ALK(-) versus chłoniak z obwodowych limfocytów T**

Różnicowanie między chłoniakiem anaplastycznym (ALCL, *anaplastic large cell lymphoma*), szczególnie gdy nie wykazuje ekspresji ALK, a klasycznym chłoniakiem Hodgkina (cHL, *classical Hodgkin lymphoma*), zawierającym liczne komórki nowotworowe, jest trudnym zadaniem diagnostycznym [10]. W obu chłoniakach komórki nowotworowe mają podobną morfologię, wykazują ekspresję CD30 i nie wykazują ekspresji konwencjonalnych antygenów komórek B (CD20 i CD79a) i komórek T (CD3) oraz ALK. Ponieważ komórki cHL pochodzą z komórek B, często cechuje je słaba ekspresja Pax-5 — czynnika transkrypcyjnego komórek B [11]. Komórki ALCL ALK(-) nie wykazują ekspresji Pax-5 i mają inne markery komórek T (CD2, CD4, CD5 i CD7). W utkaniu chłoniaka z obwodowych limfocytów T (PTCL, *peripheral T cell lymphoma*) mogą się pojawić komórki podobne morfologicznie do komórek R-S, wykazujące niekiedy ekspresję CD30 i rzadko CD15, co może być przyczyną błędnego zakwalifikowania tego chłoniaka jako cHL. O rozpoznaniu decyduje obraz morfologiczny węzła i cały profil fenotypowy komórek chłoniaka, które charakteryzują się ekspresją antygenów pan-T [1].

### **Przypadek**

Chory w wieku 57 lat z rozpoznaniem cHL typu NS, na podstawie biopsji węzła chłonnego szyjnego, w momencie rozpoznania był w IV stadium ES XB z zajęciem wszystkich obwodowych grup węzłów chłonnych, zajęciem śródpiersia, węzłów chłonnych wnek płuc, krezkowych oraz powiększeniem wątroby i śledziony. W szpiku nie stwierdzono nacieków chłoniaka. Chorego poddano standardowemu leczeniu 3 cyklami doksorubicyny, bleomycyny, winblastyny i dakarbazyny (ABVD). Po pierwszym cyklu uzyskano prawie całkowitą regresję powiększonych obwodowych węzłów chłonnych oraz zmniejszenie wątroby i śledziony. W trakcie trzeciego cyklu pojawiły się cechy progresji choroby do stanu wyjściowego. Pacjenta poddano leczeniu II rzutu, po którym również uzyskano przejściową, krótką odpowiedź. Ze względu na agresyw-





**Rycina 3.** Chłoniak z obwodowych limfocytów T błędnie rozpoznany jako klasyczny chłoniak Hodgkina

**Figure 3.** Peripheral T-cell lymphoma misdiagnosed as classical Hodgkin lymphoma

ny przebieg choroby ponownie zweryfikowano preparaty histopatologiczne w innym ośrodku. W badaniu mikroskopowym stwierdzono węzeł o zatartej budowie z naciekami z małych, średniej wielkości i nielicznych dużych komórek wykazujących ekspresję CD3, CD5,  $CD4 > CD8$ , MIB1 w 30% komórek. Przyczyną nieprawidłowego rozpoznania była prawdopodobnie obecność komórek R-S-podobnych, wykazujących ekspresję CD30 i koekspresję CD15 w części komórek. Morfologia węzła i cały profil fenotypowy (ekspresja antygenów pan-T) pozwoliły na rozpoznanie PTCL, bliżej nieokreślonego (ryc. 3.A–D).

### **Chłoniak Hodgkina guzkowy z przewagą limfocytów a chłoniak z dużych komórek B z licznymi komórkami T i/lub histiocytami**

Chłoniak Hodgkina guzkowy z przewagą limfocytów (NLPHL, *nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma*) jest indolentym chłoniakiem z komórek B zlokalizowanym w węzłach chłonnych u młodych osób, natomiast chłoniak z dużych komórek B z licznymi komórkami T i/lub histiocytami (THRLBCL, *T-cell/histiocyte rich large B-cell lymphoma*) to agresywny chłoniak z dużych komó-

rek B zajmujący, oprócz węzłów chłonnych, również okolice pozawęzłowe, takie jak szpik i tkanki miękkie. Ze względu na inny typ leczenia różnicowanie między tymi jednostkami jest ważne, ale jednocześnie bardzo trudne. Przyczyną są podobieństwa morfologiczne i fenotypowe obu chłoniaków oraz fakt, że niektórzy badacze uznają rozpoznanie THRLBCL za progresywną postać NLPHL [12]. W obu chłoniakach nieliczne nowotworowe komórki B, w tym komórki limfocytarno-histiocytarne (L-H) według Lukesa i Butlera (CD20+/CD45+/CD79a-/BCL2-) w NLPHL i morfologicznie podobne do komórek R-S komórki THRLBCL (CD20+/CD45+/CD79a+/BCL2+) znajdują się w podścielisku złożonym głównie z małych limfocytów. Za rozpoznaniem THRLBL przemawiają rozlany typ wzrostu oraz nieliczne komórki nowotworowe, głównie o morfologii centroblastów i immunoblastów w podścielisku złożonym z limfocytów T, histiocytów i nielicznych limfocytów B [13].

### **Pierwotny chłoniak śródpiersia z komórek B a klasyczny chłoniak Hodgkina**

Pierwotny chłoniak śródpiersia z dużych komórek B i cHL są chłoniakami z komórek B zlokalizowanymi w śródpiersiu i charakteryzują się podobieństwami w zakresie cech morfologicznych i fenotypowych, co może być przyczyną pomyłek diagnostycznych [1]. Histopatologicznie PMLBCL charakteryzuje się występowaniem skupień ze średniej wielkości i dużych komórek (niektóre z nich mogą przypominać komórki R-S) oraz włóknieniem. Komórki chłoniaka wykazują ekspresję antygenów komórek B; często pojawia się średnio nasilona lub słaba ekspresja CD30, CD23 i MAL [1]. Przydatne cechy, które różnicują obie jednostki, są następujące: 1) w cHL występują klasyczne komórki R-S, natomiast w PMLBCL komórki nowotworowe jedynie przypominają komórki R-S; 2) inna jest architektura włóknienia w obu chłoniakach; 3) komórki nowotworowe w PMLBCL są CD45+ i CD79a+, natomiast w cHL antygeny te są ujemne; 4) ekspresja Pax-5 jest wyraźna w PMLBCL, a słaba — w cHL; 5) komórki PMLBCL zwykle nie wykazują ekspresji CD15, z kolei w cHL antygen ten jest najczęściej dodatni [14].

Oba chłoniaki mogą występować jednocześnie w tej samej lokalizacji jako chłoniak złożony lub pojawiać się w odstępie czasowym. Ponadto charakteryzują się podobieństwami pod względem ekspresji genów [15]. Dla chłoniaków z nakładającymi się cechami między DLBCL i cHL w klasyfikacji WHO

z 2008 roku wyodrębniono oddzielną „tymczasową” jednostkę — nieklasyfikowalnego chłoniaka z komórek B, z cechami pośrednimi między DLBCL a cHL. Takie chłoniaki charakteryzują się bardziej agresywnym przebiegiem niż każdy z oddzielnych typów. Mają fenotyp pośredni między DLBCL i cHL z ekspresją CD20, CD30 i CD15. Mogą się również pojawiać rozbieżności między morfologią i fenotypem polegające na tym, że komórki morfologicznie przypominające DLBCL nie wykazują ekspresji CD20, ale są CD15+ i EBV+ lub komórki morfologicznie typowe dla cHL są CD20+ i CD15- [1].

### **Chłoniak Burkitta a chłoniak rozlany z dużych komórek B**

Chłoniak Burkitta jest szybko rosnącym, agresywnym chłoniakiem z komórek B występującym głównie u dzieci i młodych dorosłych, często w okolicach pozawęzłowych [1]. Mimo zintegrowanej oceny cech morfologicznych, immunofenotypowych i genetycznych nawet eksperci mają niekiedy problemy ze zróżnicowaniem BL i DLBCL. Chłoniak Burkitta charakteryzuje się ekspresją CD20, CD10 i BCL6, brakiem ekspresji białka BCL2 i wysokim indeksem proliferacyjnym (Ki67/MIB1 > 90%) [16]. Jednak niektóre przypadki DLBCL mogą mieć podobny fenotyp oraz indeks proliferacyjny sięgający 100% [17]. I odwrotnie; BL może mieć nietypowy fenotyp, bez ekspresji BCL2 i niższy indeks proliferacyjny [1]. W nietypowych morfologicznie i immunofenotypowo przypadkach wskazane jest wykonanie badań cytogenetycznych. W BL zwykle występuje rearanżacja genu *IG-MYC*, która towarzyszy prawidłowemu kariotypowi. Rearanżacje genów *BCL2* i *BCL6* nie występują [18, 19].

Dla przypadków granicznych w klasyfikacji WHO z 2008 roku stworzono nową jednostkę nieklasyfikowalnego chłoniaka z komórek B, z cechami pośrednimi między DLBCL a BL. Obejmuje ona heterogenną grupę agresywnych chłoniaków, wykazujących właściwości charakterystyczne zarówno dla BL, jak i DLBCL, jednak z obecnością cech uniemożliwiających zakwalifikowanie do jednego z tych dwóch typów. Cechy odróżniające od BL lub DLBCL mogą dotyczyć jednego lub kilku punktów w obrębie morfologii, immunofenotypu oraz zakresu zmian genetycznych. W większości chłoniaków granicznych występuje rearanżacja genu *MYC*, jednak często może być efektem jego transpozycji w miejsce niezwiązane z *locus IG*. Kariotyp jest zwykle złożony i występują rearanżacje genów *BCL2/18q21* i/lub *BCL6/3q27* (tzw. *double hit/triple hit lymphoma*) [1].

## Chłoniak plazmablastyczny a szpiczak anaplastyczny

Chłoniak plazmablastyczny (PL, *plasmablastic lymphoma*) to chłoniak z dużych komórek B, w którym komórki nowotworowe wykazują różnicowanie plazmablastyczne i mają fenotyp dojrzałych komórek plazmatycznych (CD138+, MUM1+, CD20–, PAX5–) [20]. Istnieje wiele morfologicznych i fenotypowych podobieństw między PL a szpiczakiem anaplastycznym, co powoduje, że różnicowanie między tymi jednostkami jest trudne, a czasami niemożliwe. Ma to jednak znaczenie kliniczne, ponieważ PL charakteryzuje się niekorzystnym rokowaniem mimo intensywnej terapii, natomiast szpiczak anaplastyczny, a szczególnie jego postać zlokalizowana pozaszpikowo, dobrze reaguje na leczenie radioterapią [21]. Za rozpoznaniem PL przemawiają: współistniejące stany obniżonej odporności, infekcja EBV i wysoki indeks proliferacyjny.

## Trudności w interpretacji immunofenotypu chłoniaków

Określenie fenotypu komórek chłoniaka jest niezbędne w ustaleniu prawidłowego rozpoznania i rozpoczęcia odpowiedniego leczenia, szczególnie w sytuacji wyboru terapii przeciwciałami monoklonalnymi. Ekspresja CD20 jest charakterystyczna dla chłoniaków z komórek B i ze względu na dostępność rytuksymabu wpływa na postępowanie terapeutyczne. Należy pamiętać, że chłoniaki po leczeniu rytuksymabem tracą przejściowo ekspresję CD20, a ponadto 25% chłoniaków po terapii tym przeciwciałem nie wykazuje ekspresji CD20 we wznowach [22]. Chłoniak plazmablastyczny należący do grupy chłoniaków z dużych komórek B nie wykazuje ekspresji CD20 [1]. Opisywane są przypadki chłoniaków z komórek T z nieprawidłową ekspresją CD20 [23]. I odwrotnie; antygen CD3 — marker limfocytów T — może się pojawiać w chłoniakach z komórek B, takich jak DLBCL związany z przewlekłym zapaleniem i chłoniaki z towarzyszącymi stanami obniżonej odporności [24]. W takich przypadkach należy poszerzyć panel przeciwciał typowych dla limfocytów B. Pax-5 — czynnik transkrypcyjny aktywujący geny specyficzne dla komórek B — to niezawodny marker limfocytów B [25]. Przeciwciało anti-CD79a jest również przydatne w określaniu komórek linii B, chociaż niekiedy może występować w przebiegu PTCL [26].

## Trudności w ocenie klonalności w badaniach molekularnych

Badanie histopatologiczne uzupełnione barwieniami IHC najczęściej pozwala na rozpoznanie chłoniaka. Jednak w części przypadków konieczne jest potwierdzenie klonalności rozrostu w badaniach molekularnych, polegających na ocenie rearanżacji genów *IG* i części zmiennych receptora T-komórkowego (TCR, *T-cell receptor*) [27]. Ta metoda diagnostyczna również kryje pewne pułapki. Falszywie ujemne wyniki rearanżacji genów *IG* w chłoniakach z komórek B są związane z nieprecyzyjnym wiązaniem primerów ze wszystkimi potencjalnymi segmentami V i J genów *IGH*. Zwykle można to wyeliminować, zwiększając liczbę primerów o geny *IGK* i *IGL* [28].

Interpretacja rearanżacji genów w chłoniakach może być również utrudniona przez jednoczesne występowanie rearanżacji genów *IG* i *TCR*. W 15–30% przypadków chłoniaków z komórek B rozpoznanych histopatologicznie występują rearanżacje genów *TCR*. Może się to wiązać z występowaniem niewielkich populacji mono-/oligoklonalnych komórek T, pojawieniem się prawdziwej klonalnej populacji limfocytów T i występowaniem krzyżowych rearanżacji. W związku z tym liniowego pochodzenia chłoniaków nie należy opierać wyłącznie na ocenie rearanżacji genów [28].

Innym problemem jest występowanie klonalnych rearanżacji w zmianach zakwalifikowanych histopatologicznie jako odczynowe. Przyczyną może być obecność niewielkiej populacji komórek chłoniaka. Ponadto oligo-/monoklonalność może się pojawić w przebiegu infekcji wirusowych, w tym EBV, ludzkiego wirusa upośledzenia odporności i wirusa cytomegalii oraz chorób autoimmunologicznych (zespół Sjögrena, zapalenie tarczycy typu Hashimoto). W tych przypadkach monoklonalne produkty reakcji łańcuchowej polimerazy są zwykle słabe i występują w poliklonalnym podścielisku [28].

## Piśmiennictwo

1. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. i wsp. (red.). World Health Organization classification of tumors. Pathology and genetics of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press, Lyon 2008.
2. Chan J.K., Kwong Y.L. Common misdiagnoses in lymphomas and avoidance strategies. *Lancet Oncol.* 2010; 11: 579–588.
3. LaCasce A.S., Kho M.E., Friedberg J.W. i wsp. Comparison of referring and final pathology for patients with non-Hodgkin's



- lymphoma in the National Comprehensive Cancer Network. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 5107–5112.
4. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Blood* 1997; 89: 3909–3918.
  5. Zhao X.F. Pitfalls in diagnostic hematopathology: part I. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2009; 2: 11–20.
  6. Childs C.C., Parham D.M., Berard C.W. Infectious mononucleosis. The spectrum of morphologic changes simulating lymphoma in lymph nodes and tonsils. *Am. J. Surg. Pathol.* 1987; 11: 122–132.
  7. Liu Z., Dong H.Y., Gorczyca W. i wsp. CD5<sup>+</sup> mantle cell lymphoma. *Am. J. Clin. Pathol.* 2002; 118: 216–224.
  8. Fu K., Weisenburger D.D., Greiner T.C. i wsp. Cyclin D1-negative mantle cell lymphoma: a clinicopathologic study based on gene expression profiling. *Blood* 2005; 106: 4315–4321.
  9. O'Malley D.P., Vance G.H., Orazi A. Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma with trisomy 12 and focal cyclin D1 expression: a potential diagnostic pitfall. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2005; 129: 92–95.
  10. Perkins P.L., Ross C.W., Schnitzer B. CD30-positive, anaplastic large-cell lymphomas that express CD15 but lack CD45. A possible diagnostic pitfall. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1992; 116: 1192–1196.
  11. Foss H.D., Reusch R., Demel G. i wsp. Frequent expression of the B-cell-specific activator protein in Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin's disease provides further evidence for its B-cell origin. *Blood* 1999; 94: 3108–3113.
  12. Zhao F.X. Nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma or T-cell/histiocyte rich large B-cell lymphoma: the problem in "grey zone" lymphomas. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2008; 1: 300–305.
  13. Boudová L., Torlakovic E., Delabie J. i wsp. Nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma with nodules resembling T-cell/histiocyte-rich B-cell lymphoma: differential diagnosis between nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma and T-cell/histiocyte-rich B-cell lymphoma. *Blood* 2003; 102: 3753–3758.
  14. Zhao X.F. Pitfalls in diagnostic hematopathology — part II. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2009; 3: 39–46.
  15. Rosenwald A., Wright G., Leroy K. i wsp. Molecular diagnosis of primary mediastinal B cell lymphoma identifies a clinically favorable subgroup of diffuse large B cell lymphoma related to Hodgkin lymphoma. *J. Exp. Med.* 2003; 198: 851–862.
  16. Hummel M., Bentink S., Berger H. i wsp. A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354: 2419–2430.
  17. Hasserjian R.P., Ott G., Elenitoba-Johnson K.S., Balague-Ponz O., de Jong D., de Leval L. Commentary on the WHO classification of tumors of lymphoid tissues (2008): "Gray zone" lymphomas overlapping with Burkitt lymphoma or classical Hodgkin lymphoma. *J. Hematop.* 2009; 2: 89–95.
  18. Boerma E.G., Siebert R., Kluin P.M., Baudis M. Translocations involving 8q24 in Burkitt lymphoma and other malignant lymphomas: a historical review of cytogenetics in the light of today's knowledge. *Leukemia* 2009; 23: 225–234.
  19. Bea S., Zettl A., Wright G. i wsp. Diffuse large B-cell lymphoma subgroups have distinct genetic profiles that influence tumor biology and improve gene-expression-based survival prediction. *Blood* 2005; 106: 3183–3190.
  20. Colomo L., Loong F., Rives S. i wsp. Diffuse large B-cell lymphomas with plasmablastic differentiation represent a heterogeneous group of disease entities. *Am. J. Surg. Pathol.* 2004; 28: 736–747.
  21. Dagan R., Morris C.G., Kirwan J. i wsp. Solitary plasmacytoma. *Am. J. Clin. Oncol.* 2009; 32: 612–617.
  22. Hiraga J., Tomita A., Sugimoto T. i wsp. Down-regulation of CD20 expression in B-cell lymphoma cells after treatment with rituximab-containing combination chemotherapies: its prevalence and clinical significance. *Blood* 2009; 113: 4885–4893.
  23. Rahemtullah A., Longtine J.A., Harris N.L. i wsp. CD20+ T-cell lymphoma: clinicopathologic analysis of 9 cases and a review of the literature. *Am. J. Surg. Pathol.* 2008; 32: 1593–1607.
  24. Petitjean B., Jardin F., Joly B. i wsp. Pyothorax-associated lymphoma: a peculiar clinicopathologic entity derived from B cells at late stage of differentiation and with occasional aberrant dual B- and T-cell phenotype. *Am. J. Surg. Pathol.* 2002; 26: 724–732.
  25. Torlakovic E., Torlakovic G., Nguyen P.L. i wsp. The value of anti-pax-5 immunostaining in routinely fixed and paraffin-embedded sections: a novel pan pre-B and B-cell marker. *Am. J. Surg. Pathol.* 2002; 26: 1343–1350.
  26. Yao X., Teruya-Feldstein J., Raffeld M. i wsp. Peripheral T-cell lymphoma with aberrant expression of CD79a and CD20: a diagnostic pitfall. *Mod. Pathol.* 2001; 14: 105–110.
  27. van Krieken J.H., Langerak A.W., Macintyre E.A. i wsp. Improved reliability of lymphoma diagnostics via PCR-based clonality testing: report of the BIOMED-2 Concerted Action BHM4-CT98-3936. *Leukemia* 2007; 21: 201–206.
  28. Evans P.A., Pott C., Groenen P.J. i wsp. Significantly improved PCR-based clonality testing in B-cell malignancies by use of multiple immunoglobulin gene targets. Report of the BIOMED-2 Concerted Action BHM4-CT98-3936. *Leukemia* 2007; 21: 207–214.