

# Diagnostyka hematopatologiczna chłoniaków „szarej strefy”

## Hematopathological diagnosis of “grey zone” lymphomas

Monika Prochorec-Sobieszek, Anna Szumera-Ciećkiewicz

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

### Streszczenie

*W klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) nowotworów układu chłonnego wyróżniono poszczególne jednostki histokliniczne na podstawie zintegrowanej oceny cech morfologicznych, immunohistochemicznych i genetycznych oraz obrazu klinicznego. Jednak, mimo znacznego postępu prowadzonych badań klinicznych i eksperymentalnych, nadal nie można precyzyjnie zakwalifikować części jednostek chorobowych. Dotyczy to szczególnie niektórych agresywnych chłoniaków z komórek B o nakładających się klinicznych i biologicznych cechach dwóch różnych typów chłoniaków. Ta diagnostyczna „szara strefa” nie tylko stanowi problem teoretyczny, ale ma również aspekt praktyczny, ze względu na różnice w postępowaniu terapeutycznym. W artykule przedstawiono kryteria i problemy diagnostyczne dwóch nieklasyfikowalnych chłoniaków z komórek B, które wyodrębniono jako jednostki tymczasowe w zaktualizowanej klasyfikacji WHO z 2008 roku. Omówiono chłoniaka z komórek B z cechami pośrednimi między chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B a klasycznym chłoniakiem Hodgkina oraz chłoniaka z komórek B z cechami pośrednimi między chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B a chłoniakiem Burkitta. Przedstawiono także jednostki stanowiące spectrum diagnostyczne dla tych chłoniaków.*

**Słowa kluczowe:** chłoniaki „szarej strefy”, nieklasyfikowalne chłoniaki z komórek B

**Hematologia 2013; 4, 2: 114–122**

### Abstract

*The World Health Organization (WHO) classification of hematopoietic neoplasms distinguish individual histoclinical entities on the basis of integrated morphological, immunohistochemical, genetical and clinical evaluation. Nevertheless, some of them can't be precisely categorized although significant progress in the experimental and clinical studies was made. Selected aggressive B-cell lymphomas with clinical and biological overlapping between two different types of lymphomas are incorporated into grey zone lymphomas. The diagnostic challenge has not only theoretical aspects but crucially affects treatment options. In this article authors present criteria and diagnostic pitfalls of two grey zone lymphomas in WHO classification: B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and classical Hodgkin lymphoma and B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma Burkitt lymphoma. Moreover, diagnostic spectrum of lymphomas is discussed.*

**Key words:** grey zone lymphomas, B-cell lymphoma unclassifiable

**Hematologia 2013; 4, 2: 114–122**

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

## Wprowadzenie

W klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) nowotworów układu chłonnego poszczególne jednostki histokliniczne wyróżniono na podstawie zintegrowanej oceny cech morfologicznych, immunohistochemicznych i genetycznych oraz ich obrazu klinicznego [1]. Ocena histopatologiczna, wraz z zastosowaniem odpowiednio dobranego panelu barwień immunohistochemicznych, a w wybranych przypadkach badań genetycznych bądź molekularnych, pozwala na rozpoznanie większości chłoniaków opisanych w klasyfikacji WHO. Zdarzają się jednak nieliczne przypadki, w których mimo zastosowania powyższych zasad i metod chłoniaków nie można jednoznacznie zakwalifikować, ponieważ wykazują nakładające się lub graniczne cechy morfologiczne, biologiczne i kliniczne różnych typów chłoniaków. Takie chłoniaki w przeszłości nazywano chłoniakami granicznymi, chłoniakami z komórek B nieklasyfikowalnymi, atypowymi chłoniakami Burkitta, chłoniakami podobnymi do chłoniaka Burkitta i chłoniakami „szarej strefy”. Problem ten rozwiązano w zaktualizowanej w 2008 roku klasyfikacji WHO nowotworów układu chłonnego, wprowadzając dwie tymczasowe jednostki: 1) chłoniaka z komórek B, nieklasyfikowalnego, z cechami pośrednimi między chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B a klasycznym chłoniakiem Hodgkina (BCLU, DLBCL/cHL, *B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and classical Hodgkin lymphoma*) oraz 2) chłoniaka z komórek B, nieklasyfikowalnego, z cechami pośrednimi między chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B a chłoniakiem Burkitta (BCLU-DLBCL/BL, *B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma*) [1]. Celem wyodrębnienia tych heterogennych chłoniaków było stworzenie bazy dla przyszłych badań eksperymentalnych i klinicznych, które w przyszłości doprowadzą do opisanie lepiej zdefiniowanych jednostek histoklinicznych.

### Pierwotny chłoniak śródpiersia z dużych komórek B

Pierwotny chłoniak śródpiersia z dużych komórek B (PMBL, *primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma*) najczęściej występuje u młodych kobiet (średnia wieku 39 lat; K:M = 1:2). Klinicznie charakteryzuje się szybko powiększającym się guzem śródpiersia, który powoduje ucisk na sąsiednie

struktury, prowadząc między innymi do zespołu żyły głównej górnej. Histopatologicznie chłoniak ten jest zbudowany z dużych komórek o morfologii centroblastów i/lub komórek o płatowatych jądrach i obfitej, jasnej cytoplazmie. Niektóre komórki chłoniaka mogą mieć morfologię komórek Reed-Sternberga, co wymaga różnicowania z cHL. Delikatne włóknienie podścieliska obejmuje jedynie niewielkie grupy komórek. Większość przypadków charakteryzuje się rozlanym typem wzrostu, jednak zdarzają się przypadki z ogniskową budową guzkową, przypominającą utkanie cHL typu stwardnienia guzkowego (NScHL, *nodular sclerosis classical Hodgkin lymphoma*) [2, 3]. Komórki PMBL wykazują ekspresję antygenów komórek B: CD19, CD20, CD79a oraz brak ekspresji immunoglobulin powierzchniowych. W przeciwieństwie do cHL obserwuje się silną ekspresję czynników transkrypcyjnych komórek B, takich jak: PAX5, OCT-2 i BOB.1 [4]. Często towarzyszy im także ekspresja CD30, ale w przeciwieństwie do cHL jest zwykle słaba lub ogniskowa [3]. Antygen CD15 zazwyczaj nie występuje. Komórki PMBCL mogą z różną częstością wykazywać ekspresję markerów ośrodków rozmnażania — CD10 i BCL6. Ekspresja CD23 i białka MAL występuje w około 70% przypadków i świadczy o pochodzeniu PMBL z komórek B grasicy [5, 6]. W przeciwieństwie do DLBCL obserwuje się jądrową ekspresję TRAF-1 (*TNF receptor-associated factor 1*) i c-REL, która świadczy o aktywacji ścieżki sygnałowej NFκB (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) [7]. Ostatnio wykazano, że ekspresja Grb2 (*growth factor receptor-bound protein 2*) może być markerem różnicującym z cHL, ponieważ zwykle występuje w PMBL oraz tylko w 10% przypadków cHL [8]. Do charakterystycznych nieprawidłowości genetycznych występujących w PMBL zalicza się dodatkowe kopie genów na chromosomie 9p24 obejmujące *JAK2*, *PD-L1*, *PD-L2* i amplifikacje chromosomu 2p z udziałem *c-REL* [7, 9]. Translokacje dotyczące genu *CIITA*, głównego regulatora ekspresji HLA-DR, są obecne w 38% przypadków [10]. Kolejnym dowodem na to, że PMBL jest specyficznym podtypem agresywnego chłoniaka z komórek B, innym niż pozostałe DLBCL, są badania profilu ekspresji genów. Pierwotny chłoniak śródpiersia z dużych komórek B cechuje odrębny profil ekspresji genów z obecnością silnej ekspresji *MAL*, *CD23*, *FIG1*, *TARC*, *NFκB2* i *PDL1/L2*. W badaniach tych potwierdzono odrębność PMBL, jednak profil ekspresji genów w PMBL jest bardziej zbliżony do spotykanego w cHL niż w innych podtypach DLBCL [11, 12].

### **Klasyczny chłoniak Hodgkina typu stwardnienia guzkowego**

Histopatologicznie NScHL charakteryzuje się guzkowym typem wzrostu z nasilonym włóknieniem i występowaniem komórek lakunarnych, które są wariantami komórek Hodgkina-Reed-Sternberga (*Hodgkin-Reed-Sternberg*). Komórki HRS wykazują ekspresję CD30 i brak ekspresji CD45. Antygen CD15 występuje w 85% przypadków. Ekspresja antygenów związanych z komórkami B jest słaba i heterogenna. Najczęściej obserwuje się brak antygeny CD79a, słabą lub zmienną ekspresję CD20 i słabą ekspresję PAX5 [13, 14]. Ekspresja immunoglobulin nie występuje. Brakuje również ekspresji czynników transkrypcyjnych komórek B, takich jak OCT-2 i BOB.1 [15, 16].

### **Związek między pierwotnym chłoniakiem śródpiersia z dużych komórek B a klasycznym chłoniakiem Hodgkina**

Kliniczne, histopatologiczne i molekularne podobieństwa między PMBL i NScHL obserwuje się już od dawna. Obie jednostki występują u młodych kobiet i klinicznie charakteryzują się guzem śródpiersia z zajęciem grasicy i/lub węzłów chłonnych nadobojczykowych. Rozwijają się one z dojrzałych komórek B bez ekspresji immunoglobulin powierzchniowych, najprawdopodobniej pochodzących z komórek B grasicy. W obu jednostkach występuje amplifikacja *locus REL* na chromosomie 2p i *locus JAK2* na chromosomie 9p [17, 18]. W badaniach profilu ekspresji genów wykazano wyraźne podobieństwa między PMBL i NScHL powstających w śródpiersiu, co sugeruje, że obie jednostki mogą mieć podobną patogenezę, przynajmniej na niektórych etapach powstawania nowotworu [11, 12]. W związku z powyższym nie zaskakuje fakt, że w niektórych przypadkach chłoniaki te mogą mieć nakładające się cechy morfologiczne i immunofenotypowe. Mimo licznych podobieństw obie choroby charakteryzują się odrębnymi cechami morfologicznymi i immunofenotypowymi, które w większości przypadków pozwalają na diagnostykę różnicową. Problemy z rozpoznaniem pojawiają się w odniesieniu do guzów wykazujących cechy morfologiczne PMBL, ale jednocześnie nietypowy fenotyp, na przykład brak ekspresji CD20, silną ekspresję CD30 i CD15 oraz obecność wirusa Epstein-Barr. Podobnie problematyczne są przypadki z typową dla NScHL morfologią, ale z silną homogeną ekspresją CD20 i/lub

ekspresją czynników transkrypcyjnych komórek B OCT-2 i BOB.1 oraz brakiem ekspresji antygeny CD15. By podkreślić trudności diagnostyczne w tych przypadkach, chłoniaki te nazwano chłoniakami „szarej strefy” [19]. Prawidłowe rozpoznanie w takich przypadkach ma istotne znaczenie kliniczne ze względu na różnice w postępowaniu terapeutycznym w tych chorobach. Innym interesującym zjawiskiem są chłoniaki śródpiersia „złożone”, w których w tym samym guzie jednocześnie występują NScHL i PMBL oraz chłoniaki śródpiersia występujące sekwencyjnie w odstępie czasowym — NScHL ze wznową jako PMBL lub PMBL ze wznową jako NScHL.

### **Chłoniak z komórek B, nieklasyfikowalny, z cechami pośrednimi między chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B a klasycznym chłoniakiem Hodgkina**

W 2008 roku w klasyfikacji WHO wprowadzono nową jednostkę: chłoniaka z komórek B, nieklasyfikowalnego, z cechami pośrednimi między DLBCL a cHL (BCLU, DLBCL/cHL) dla przypadków, które nie spełniają morfologicznych i/lub fenotypowych kryteriów PMBL lub cHL, ale wykazują cechy pośrednie między tymi dwoma jednostkami [1]. W przeciwieństwie do PMBL i cHL, BCLU, DLBCL/cHL częściej występuje u młodych mężczyzn, charakteryzuje się bardziej agresywnym przebiegiem klinicznym i gorszym rokowaniem. Przyszłe badania najprawdopodobniej wyjaśnią, czy są to przypadki graniczne, czy też jest to niezależna jednostka histokliniczna. Nadal nie doprecyzowano minimalnych kryteriów diagnostycznych morfologicznych i immunofenotypowych; BCLU, DLBCL/cHL może być zbudowany z dużych i pleomorficznych komórek przypominających komórki lakunarne i komórki Hodgkina. Cechą charakterystyczną jest zróżnicowana morfologia zależnie od części guza, miejscami jak cHL, miejscami zaś przypominająca PMBL. Towarzyszą im włóknienie, nacieki zapalne i martwica. Komórki nowotworowe, w przeciwieństwie do większości klasycznych komórek HRS, wykazują ekspresję CD45 oraz antygenów i czynników transkrypcyjnych komórek B (CD20, PAX-5, BOB.1 i OCT-2), przy jednoczesnej ekspresji antygenów CD30 i CD15 typowych dla komórek HRS. Istnieją również BCLU, DLBCL/cHL z asynchronią między morfologią i immunofenotypem, na przykład o morfologii przypominającej cHL i fenotypie PMBL (CD20, CD15), ale też odwrotnie — o morfologii przypominającej PMBL z ekspresją



CD30 i CD15 oraz jednoczesną utratą antygenów CD20 i CD79a. Uważa się, że silna ekspresja CD15 w przypadkach przypominających morfologicznie PMBL lub silna ekspresja CD20 i innych markerów komórek B w przypadkach morfologicznie odpowiadających cHL są ważnymi cechami kwalifikującymi do tej grupy [1, 20–22]. Chłoniaki BCLU, DLBCL/cHL wykazują podobne cechy genetyczne do cech PMBL i cHL. W ostatnio opublikowanej pracy Eberle i wsp. [23] dowiedli występowanie amplifikacji genów w formie nadatków regionu 2p16.1 (*REL/BCL11A locus*) u 33% badanych chorych z BCLU, DLBCL/cHL, natomiast u 55% chorych potwierdzono zmiany w obrębie *locus* 9p24.1 (*JAK2/PDL2*). W dalszych badaniach stwierdzono rearanżację obejmującą *CIITA* (16p13.13) u 27% chorych oraz *MYC* (8q24) u 27% chorych. W przypadkach z zajęciem śródpiersia znamiennej częściej obserwowano zaburzenia genetyczne obejmujące rejony 2p16.1, 9p24.1 oraz 8q24. Chłoniaki „szarej strefy” wykazywały podobną ekspresję cykliny E oraz białka p63. W ostatnich badaniach profilu metylacji genów potwierdzono bliski związek epigenetyczny między cHL, PMBCL i BCLU, DLBCL/cHL oraz znaczną odrębność od DLBCL. Eberle i wsp. [24] przebadali 10 przypadków NScHL, 10 przypadków PMBL, 10 chorych na DLBCL i 8 pacjentów z BCLU, DLBCL/cHL oraz przypadek chłoniaka złożonego i przypadek z sekwencyjnie występującym cHL i PMBL. W grupie BCLU, DLBCL/cHL znalazły się 4 przypadki morfologicznie przypominające cHL, ale o fenotypie PMBL (CD20+, CD15–) i 4 przypadki morfologicznie przypominające PMBL o fenotypie cHL (brak antygenów komórek B i ekspresja CD30 i CD15). Niezależnie od dominującej morfologii i/lub fenotypu wszystkie przypadki cechował podobny profil metylacji, co wskazuje na ścisłe podobieństwa biologiczne. Autorzy wykazali również, że NScHL charakteryzuje się *de novo* hipermetylacją zlokalizowaną w wyspach CpG, a PMBL — zarówno hipometylacją, jak i hipermetylacją. Z kolei BCLU, DLBCL/cHL wykazywał odrębny profil metylacji zbliżony do profilu PMBL i NScHL. Unikatową cechą BCLU, DLBCL/cHL była hipometylacja *HOXA5*, ale jej znaczenie w patogenezie wymaga dalszych badań. Odrębna epigenetyczna charakterystyka tych chłoniaków może w przyszłości umożliwić znalezienie nowych markerów diagnostycznych, wyjaśnienie ich patogenezy oraz identyfikację potencjalnych celów terapeutycznych. Profil metylacji węzłowych DLBCL różnił się znacznie od PMBL i NScHL i różnice te potwierdzono we wcześniejszych badaniach. Badania Eberle

i wsp. [24] potwierdzają, że wyodrębnienie BCLU, DLBCL/cHL nie jest wynikiem nieścisłości diagnostycznych, lecz reprezentuje prawdziwą „szarą strefę” stanowiącą biologiczną ciągłość między NScHL i PMBL. Wykazanie charakterystycznego znacznika epigenetycznego dla BCLU może pozwolić na wyodrębnienie tej jednostki w klasyfikacji WHO [25]. Kliniczne i biologiczne cechy chłoniaków śródpiersia zestawiono w tabeli 1, zaś morfologiczne i immunofenotypowe cechy cHL, BCLU, DLBCL/cHL i PMBL przedstawiono na rycinie 1.

Kolejnym problemem jest leczenie BCLU, DLBCL/cHL. Powstaje pytanie, czy chłoniaki te są bardziej agresywne ze względu na swoją biologię, czy w związku z wyborem suboptymalnego leczenia. Najlepszym rozwiązaniem byłoby przeprowadzenie próby klinicznej, jednak ze względu na rzadkie występowanie tej choroby oraz brak jednolitych kryteriów diagnostycznych wydaje się, że w najbliższym czasie nie jest możliwe przeprowadzenie takiego badania. Chłoniaki te słabo odpowiadają na leczenie stosowane zarówno w cHL, jak i DLBCL [26].

### Chłoniak Burkitta

Wyróżnia się trzy warianty BL: endemiczny, sporadyczny i związany z niedoborami odporności. Biorąc pod uwagę różnice epidemiologiczne, kliniczne i biologiczne między tymi podtypami, w populacji kaukaskiej, w kręgu różnicowym, znajduje się głównie wariant sporadyczny DLBCL i BCLU, DLBCL/BL. Stanowi on 1–2% chłoniaków w krajach zachodnioeuropejskich. Występuje głównie u dzieci i młodych dorosłych. Charakteryzuje się gwałtownie rosnącym guzem, często w lokalizacji pozawęzłowej. Morfologicznie jest zbudowany ze średniej wielkości komórek, z obecnością licznych makrofagów żernych, dających obraz „gwiazdzonego nieba”. Klasycznie komórki BL wykazują ekspresję IGM, CD20, CD10, BCL6, przy braku BCL2 i TdT. Cechuje go bardzo wysoki indeks proliferacyjny, większy niż 95%. Typowe BL wykazują rearanżację genu *MYC* (lokalizacja 8q24), prowadzącą do przeniesienia części kodującej genu w region promotora jednego z genów immunoglobulin (*IGH/14q32* bądź, *IGL/22q11* lub *IGK/2p12*) [1]. Mimo że rearanżacje *MYC* i jego nadekspresja są cechami diagnostycznymi BL, mogą one występować również w innych nowotworach wywodzących się z komórek B, najczęściej w DLBCL (w 7–14% przypadków) [27]. Zazwyczaj BL ma prosty kariotyp i zwykle jako jedyną niepra-

Tabela 1. Kliniczne i biologiczne cechy chłoniaków śródpiersia

Table 1. Clinical and biological features of mediastinal lymphoma

Cecha	NScHL	PMBL	BCLU, DLBCL/cHL
Wiek	Młodzi dorośli	Młodzi dorośli	Młodzi dorośli
K:M	K > M	K > M	M > K
Zespół SVC	Rzadko	Może występować	Może występować
Program komórek B	Zahamowany, slg <sup>-</sup> , CD20 <sup>-/+</sup> , Pax5 <sup>-/+</sup> BOB1 <sup>-</sup> , OCT2 <sup>-</sup>	Zachowany, CD20 <sup>+</sup> , Pax5 <sup>+</sup> , BOB1 <sup>+</sup> , OCT2 <sup>+</sup> , slg <sup>-</sup>	Często zachowany, CD20 <sup>+/-</sup> , PAX5 <sup>+/-</sup> , OCT2 <sup>+/-</sup> , BOB.1 <sup>+/-</sup> , slg <sup>-</sup>
Immunofenotyp	CD30 <sup>+</sup> , CD15 <sup>+</sup>	CD30 <sup>+/-</sup> , CD15 <sup>-</sup>	CD30 <sup>+/-</sup> , CD15 <sup>+/-</sup>
REL (2p16); JAK2 (9p24.1)	Dodatkowe kopie genów, amplifikacje	Dodatkowe kopie genów, amplifikacje	Dodatkowe kopie genów, amplifikacje
CIITA	Rearanżacje	Rearanżacje	Rearanżacje
Ścieżka NFκB	Aktywowana	Aktywowana	Aktywowana

NScHL (*nodular sclerosis classical Hodgkin lymphoma*) — klasyczny chłoniak Hodgkina typu stwardnienia guzkowego; PMBL (*primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma*) — pierwotny chłoniak śródpiersia z dużych komórek B; BCLU, DLBCL/cHL (*B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and classical Hodgkin lymphoma*) — chłoniak z komórek B, nieklasyfikowalny, z cechami pośrednimi między chłoniakiem z dużych komórek B a klasycznym chłoniakiem Hodgkina; K (*women*) — kobiety; M (*men*) — mężczyźni; SVC (*superior vena cava*) — żyła główna górna; slg (*surface immunoglobulin*) — powierzchniowe immunoglobuliny; NFκB (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*)

widliwość wykazuje translokację t(8;14) lub jej wariant t(8;22)/t(2;8) [1]. Drugorzędowe aberracje genetyczne z reguły nie przekraczają liczby dwóch, a złożone kariotypy występują rzadko. Najczęściej powtarzającymi się aberracjami są insercje w regionach 1q, chromosom 7 i chromosom 12 oraz delecje regionów 6q, 13q32-34 i 17p [28–30]. Niektóre rzadkie przypadki, mimo że fenotypowo odpowiadają BL, nie mają translokacji *MYC*. Nowotwory bez rearanżacji *MYC*, lecz morfologicznie i fenotypowo zgodne z BL, powinny być diagnozowane jako BL, o ile inne nie są obserwowane nieprawidłowości genetycznie [29, 31].

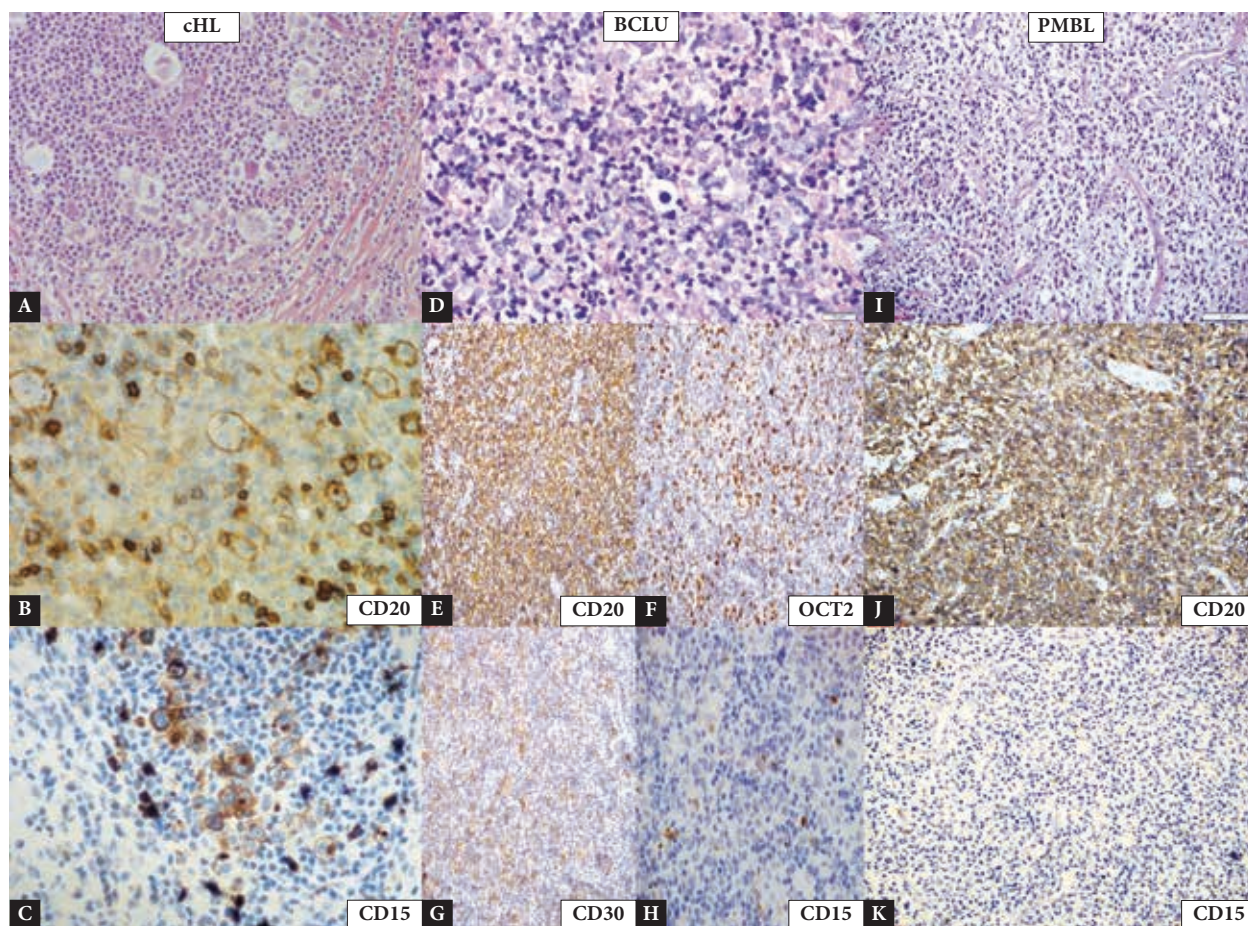
### Chłoniak rozlany z dużych komórek B

Chłoniaki rozlane z dużych komórek B są najczęściej występującymi chłoniakami nie-Hodgkina; średnia zachorowania wynosi 65–70 lat. Charakteryzują się szybko powiększającym się guzem w węzłach chłonnych lub/i okolicach pozawęzłowych. Nie jest to pojedyncza jednostka, tylko heterogenna grupa chłoniaków różniących się morfologicznie, immunofenotypowo i klinicznie. Ich wspólną cechą jest rozlany rozrost z dużych komórek o morfologii centroblastów, immunoblastów lub komórek anaplastycznych. W klasyfikacji WHO wyróżniono warianty morfologicznie, podgrupy molekularne i immunohistochemiczne oraz podtypy i jednostki histokliniczne. Immunofenotyp DLBCL również jest heterogenny. Komórki DLBCL zwykle wykazują ekspresję antygenów komórek B — CD19, CD20, CD22, CD79a i PAX5. Z różną częstością ob-

serwuje się ekspresję CD10 (25–50% przypadków), BCL6 i BCL2 (ok. 50% przypadków) i CD5 (< 10% przypadków). Indeks proliferacyjny oznaczany immunohistochemicznie za pomocą Ki67 wynosi 30–95%, a w rzadkich przypadkach nawet 100% [1]. W badaniach profilu ekspresji genów (GEP, *gene expression profiling*) wykazano występowanie prognostycznie różnych podgrup opartych na pochodzeniu komórkowym: GCB (*germinal center B cell*) i ABC (*activated B cell*) oraz kategorii chłoniaków nieklasyfikowanych, stanowiących około 15% przypadków [32]. Badania profilu ekspresji genów nie są dostępne w rutynowej diagnostyce chłoniaków, dlatego podgrupy molekularne „przełożono” na podgrupy immunohistochemiczne. Podstawą algorytmu Hansa jest ekspresja CD10, BCL6 i MUM1 i cechuje go 80-procentowa zgodność z klasyfikacją GEP. Algorytm Choi wykorzystuje ekspresję CD10, BCL6, MUM1, GCET1 i FOXP1 i cechuje go 93-procentowa zgodność [33, 34].

Najczęściej spotykaną nieprawidłowością genetyczną w DLBCL są translokacje dotyczące chromosomu 3q27, gdzie jest zlokalizowany gen *BCL6*. Dotyczą one 30% przypadków [1]. Translokacja t(14;18)(q32;q21) dotycząca genu *BCL2*, charakterystyczna dla chłoniaków grudkowych, występuje w 15–30% przypadków DLBCL [35]. Rearanżacja genu *MYC* jest obserwowana w 5–10% przypadków DLBCL, wiąże się ze złożonym kariotypem i jest niekorzystnym czynnikiem prognostycznym u chorych leczonych według schematu (R-CHOP, rytuksymab + cyklofosfamid, winkrystyna, doksorubicyna, prednizon) [36]. Liczba nieprawidłowości chromosomalnych w DLBCL jest





**Rycina 1.** Morfologiczne i immunohistochemiczne cechy klasycznego chłoniaka Hodgkina (cHL), chłoniaka z komórek B, nieklasyfikowalnego, z cechami pośrednimi między chłoniakiem z dużych komórek B a klasycznym chłoniakiem Hodgkina (DLBCL/cHL) i pierwotnego chłoniaka śródpiersia z dużych komórek B (PMBL): **A.** Klasyczny chłoniak Hodgkina z licznymi komórkami lakunarnymi (warianty komórek Hodgkina-Reed-Sternberga [HRS, *Hodgkin-Reed-Sternberg*]) (barwienie hematoksyliną i eozyną [H&E],  $\times 200$ ); **B.** Komórki HRS wykazują słabą ekspresję CD20, w odróżnieniu od silnie dodatnich odczynowych komórek B (barwienie *EnVision*,  $\times 200$ ); **C.** Dodatnia reakcja CD15 w komórkach HRS (barwienie *EnVision*,  $\times 200$ ); **D.** Chłoniak z komórek B, nieklasyfikowalny, z cechami pośrednimi między cHL i PMBL — morfologicznie przypomina cHL, a immunofenotypowo PMBL (barwienie H&E,  $\times 100$ ); **E, F.** Silna ekspresja CD20 i OCT-2; **G, H.** Dodatnia ekspresja CD30 i brak ekspresji CD15 (barwienie *EnVision*,  $\times 100$ ); **I.** Pierwotny chłoniak śródpiersia z dużych komórek B zbudowany z dużych komórek o jasnej cytoplazmie (barwienie H&E,  $\times 100$ ); **J, K.** Wykazują one silną ekspresję CD20 i brak ekspresji CD15 (barwienie *EnVision*,  $\times 100$ )

**Figure 1.** Morphological and immunohistochemical features of classical Hodgkin lymphoma (cHL), with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and classical Hodgkin lymphoma (DLBCL/cHL) and primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma (PMBL): **A.** Classical Hodgkin lymphoma with numerous lacunar cells (variants of Hodgkin and Reed-Sternberg cells [HRS] (hematoxylin and eosin [H&E] staining,  $\times 200$ ); **B.** Weak expression of CD20 on the HRS cells in comparison with strong reaction on reactive B-cells (*EnVision* staining,  $\times 200$ ). **C.** Positive reaction with CD15 in HRS cells (*EnVision* staining,  $\times 200$ ); **D.** BCLU-DLBCL/BL, B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between cHL and PMBL — morphological features reminiscent of cHL but an immunophenotype more consistent with PMBL; **E, F.** Strong expression of CD20 and OCT-2; **G, H.** Positive reaction with CD30 and lack of CD15 antigen (*EnVision* staining,  $\times 100$ ); **I.** Primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma, composed of large, clear cells (H&E staining,  $\times 100$ ); **J, K.** Strong expression of CD20 and Lack of CD15 antigens (*EnVision* staining,  $\times 100$ )

znacząco większa niż w BL [37]. W GCB-DLBCL częściej występują naddatki następujących rejonów chromosomów 2p, 12q i 13q, jak również delecje

10q. W ABC-DLBCL częściej obserwuje się amplifikację w postaci naddatków chromosomów 3/3q, 18q21-q22 i 19q oraz ubytki 6q21-q22 i 9p21 [38].

## Nieklasyfikowalny chłoniak z komórek B z cechami pośrednimi między chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B a chłoniakiem Burkitta

Nieklasyfikowalny chłoniak z komórek B z cechami pośrednimi między chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B a chłoniakiem Burkitta jest drugą tymczasową jednostką zaproponowaną w nowej klasyfikacji WHO [1]. Kategoria ta powstała na podstawie badań profilu ekspresji genów, w których stwierdzono występowanie przypadków z genetycznymi i histopatologicznymi cechami pośrednimi między BL i DLBCL [37, 39, 40]. W przeszłości chłoniaki te nazywano atypowymi chłoniakami Burkitta, chłoniakami podobnym do chłoniaka Burkitta lub chłoniakami „szarej strefy”. Omawiana choroba nie jest dobrze zdefiniowaną jednostką histokliniczną, ale raczej stanowi heterogenną grupę powstałych *de novo* lub stransformowanych agresywnych chłoniaków z komórek B, których nie można precyzyjnie sklasyfikować, ponieważ nie spełniają wymaganych kryteriów dla BL lub DLBCL [1].

Nieklasyfikowalny chłoniak z komórek B z cechami pośrednimi między chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B a chłoniakiem Burkitta jest rzadko występującą chorobą. Zwykle rozpoznaje się go u starszych chorych, bez wyraźnej przewagi płci. Klinicznie obserwuje się szybko powiększające się węzły chłonne lub guz zlokalizowany pozawęzłowo,

bez wyraźnej predylekcji narządowej. Częściej niż w przypadku BL u pacjentów choroba ma zaawansowany stopień kliniczny, z zajęciem szpiku i ośrodkowego układu nerwowego. Są to agresywne chłoniaki, najczęściej odporne na wielolekową chemioterapię, a przeżycie mierzy się w miesiącach. Nie ustalono także standardowego schematu leczenia [27, 41].

Morfologicznie BCLU, DLBCL/BL jest chorobą heterogenną. Niektóre przypadki przypominają BL i są zbudowane z monomorficznej populacji komórek średniej wielkości. Wtedy zwykle występuje jedna lub więcej cech immunofenotypowych bądź nieprawidłowości kariotypu, które nie są typowe dla BL i w związku z tym wykluczają to rozpoznanie. Najczęściej stwierdza się silną ekspresję BCL2, brak BCL6, a indeks proliferacyjny jest mniejszy niż 95%. Część przypadków bardziej przypomina DLBCL z większym pleomorfizmem komórkowym i wyższym odsetkiem dużych atypowych komórek. W tych przypadkach immunofenotyp lub kariotyp bardziej przypomina BL. Przypadki bardziej przypominające DLBCL powinny ponadto wykazywać ekspresję CD10 i BCL6, brak ekspresji BCL2 i indeks proliferacyjny w niemal 100% jąder komórkowych. Chłoniaki morfologicznie bardziej zbliżone do DLBCL i niewykazujące powyższego immunofenotypu powinno się rozpoznawać jako DLBCL, a nie BCLU, DLBCL/BL.

Nieklasyfikowalne chłoniaki z komórek B z cechami pośrednimi między chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B a chłoniakiem Burkitta wyka-

Tabela 2. Biologiczne cechy agresywnych chłoniaków z komórek B

Table 2. Biological features of aggressive B-cell lymphomas

Cecha	BL	BCLU, DLBCL/BL	DLBCL
Wiek	Dzieci, młodzi dorośli	Starsi dorośli	Starsi dorośli
Morfologia komórek	Średniej wielkości, liczne makrofagi żerne	Przypominająca komórki w BL lub/i w DLBCL	Duże komórki, centroblasty, immunoblasty
MIB1/Ki67	> 95%	75–100%	< 95%
Fenotyp	CD20+, CD10+, BCL6+, BCL2–	BL-like: CD20+, CD10+, BCL6+/-, BCL2+, MIB1 < 95% CD10+, BCL6+, BCL2–, MIB1 > 95%	CD20+, CD10+/-, BCL6+, MUM1+/-, DLBCL-like: CD20+, BCL2+/-
Kariotyp	Prosty t(8;14)	Złożony t(8;14) t(14;18)	Złożony t(14;18) 3q27
Molekularnie	IG-MYC	IG-MYC, non-IG-MYC Rearanżacje BCL2 i/lub BCL6 (double/triple hit lymphoma)	MYC (7-14%) Rearanżacje i mutacje BCL2, BCL6

BL (*Burkitt lymphoma*) — chłoniak Burkitta; BCLU-DLBCL/BL (*B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma*) — chłoniak z komórek B z cechami pośrednimi między chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B a chłoniakiem Burkitta; DLBCL (*diffuse large B-cell lymphoma*) — chłoniak rozlany z dużych komórek B



zują monoklonalną rearanżację *IGH*. Rearanżacja genu *MYC*, typowa dla BL, charakteryzuje także większość BCLU, DLBCL/BL, natomiast rzadziej występuje w DLBCL. Obecność rearanżacji *MYC* w BCLU,DLBCL/BL może być również efektem jego transpozycji w miejsce niezwiązane z *locus IG*. Rearanżacje typu *non-IG-MYC*, opisywane w rzadkich przypadkach DLBCL, są cechą wykluczającą z grupy BL i wskazującą na rozpoznanie BCLU, DLBCL/BL. W grupie chłoniaków z typową rearanżacją *IG-MYC* rozpoznanie BL wyklucza także równoczesna obecność rearanżacji genów *BCL2/18q21* lub/i *BCL6/3q27* (tzw. *double hit/triple hit lymphoma*). Analiza cytogenetyczna przypadków z nietypową rearanżacją *MYC* (*non-IG-MYC*), oraz chłoniaków *double/triple hit* potwierdziła obecność kariotypu złożonego, charakteryzującego się występowaniem licznych nieprawidłowości cytogenetycznych [1, 42–44]. Biologiczne cechy agresywnych chłoniaków z komórek B przedstawiono w tabeli 2.

### Podsumowanie

Wydzielenie dwóch chłoniaków granicznych, jako formalnych jednostek, ułatwiło pracę patologom, którzy wcześniej byli zmuszeni do precyzowania rozpoznania w jednostkach nieklasyfikowalnych. Istnieje jednak obawa, że kategoria ta będzie nadużywana i będą do niej włączane nie tylko przypadki o pośrednich cechach, lecz również te, które wykazują nieznaczne odstępstwa od zdefiniowanych już chłoniaków: BL, DLBCL i cHL. Sytuację utrudnia brak „złotych standardów” diagnostycznych dla BL i PMBL, a przede wszystkim dla heterogenicznej grupy przypadków granicznych [45]. Być może, badania z najbliższych lat pozwolą lepiej poznać biologię i klinikę chłoniaków o cechach pośrednich i na ustalenie spójnych schematów ich leczenia.

### Piśmiennictwo

1. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. i wsp. World Health Organization classification of tumors. Pathology and genetics of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press, Lyon 2008.
2. Möller P., Moldenhauer G., Momburg F. i wsp. Mediastinal lymphoma of clear cell type is a tumor corresponding to terminal steps of B cell differentiation. *Blood* 1987; 69: 1087–1095.
3. Pileri S.A., Zinzani P.L., Gaidano G. i wsp. Pathobiology of primary mediastinal B-cell lymphoma. *Leuk. Lymphoma* 2003; 44 (supl. 3): S21–S26.
4. Pileri S.A., Gaidano G., Zinzani P.L. i wsp. Primary mediastinal B-cell lymphoma: high frequency of BCL-6 mutations and consistent expression of the transcription factors OCT-2, BOB.1, and PU.1 in the absence of immunoglobulins. *Am. J. Pathol.* 2003; 162: 243–253.
5. Salama M.E., Rajan Mariappan M., Inamdar K. i wsp. The value of CD23 expression as an additional marker in distinguishing mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma from Hodgkin lymphoma. *Int. J. Surg Pathol.* 2010; 18: 121–128.
6. Copie-Bergman C., Plonquet A., Alonso M.A. i wsp. MAL expression in lymphoid cells: further evidence for MAL as a distinct molecular marker of primary mediastinal large B-cell lymphomas. *Mod. Pathol.* 2002; 15: 1172–1180.
7. Rodig S.J., Savage K.J., LaCasce A.S. i wsp. Expression of TRAF1 and nuclear c-Rel distinguishes primary mediastinal large cell lymphoma from other types of diffuse large B-cell lymphoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 2007; 31: 106–112.
8. Miles R.R., Mankey C.C., Seiler C.E. i wsp. Expression of Grb2 distinguishes classical Hodgkin lymphomas from primary mediastinal B-cell lymphomas and other diffuse large B-cell lymphomas. *Hum. Pathol.* 2009; 40: 1731–1737.
9. Calvo K.R., Traverse-Glehen A., Pittaluga S. i wsp. Molecular profiling provides evidence of primary mediastinal large B-cell lymphoma as a distinct entity related to classic Hodgkin lymphoma: Implications for mediastinal gray zone lymphomas as an intermediate form of B-cell lymphoma. *Adv. Anat. Pathol.* 2004; 11: 227–238.
10. Steidl C., Shah S.P., Woolcock B.W. i wsp. MHC class II transactivator CIITA is a recurrent gene fusion partner in lymphoid cancers. *Nature* 2011; 471: 377–381.
11. 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.
12. Savage K.J., Monti S., Kutok J.L. i wsp. The molecular signature of mediastinal large B-cell lymphoma differs from that of other diffuse large B-cell lymphomas and shares features with classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2003; 102: 3871–3879.
13. Schmid C., Pan L., Diss T. i wsp. Expression of B-cell antigens by Hodgkin's and Reed-Sternberg cells. *Am. J. Pathol.* 1991; 139: 701–707.
14. Zuberberg L.R., Collins A.B., Ferry J.A. i wsp. Coexpression of CD15 and CD20 by Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease. *Am. J. Pathol.* 1991; 139: 475–483.
15. Loddenkemper C., Anagnostopoulos I., Hummel M. i wsp. Differential Emu enhancer activity and expression of BOB.1/OBF.1, Oct2, PU.1, and immunoglobulin in reactive B-cell populations, B-cell non-Hodgkin lymphomas, and Hodgkin lymphomas. *J. Pathol.* 2004; 202: 60–69.
16. 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.
17. Joos S., Otaño-Joos M.I., Ziegler S. i wsp. Primary mediastinal (thymic) B-cell lymphoma is characterized by gains of chromosomal material including 9p and amplification of the REL gene. *Blood* 1996; 87: 1571–1578.
18. Joos S., Küpper M., Ohl S. i wsp. Genomic imbalances including amplification of the tyrosine kinase gene JAK2 in CD30+ Hodgkin cells. *Cancer Res.* 2000; 60: 549–552.
19. Rüdiger T., Jaffe E.S., Delsol G. i wsp. Workshop report on Hodgkin's disease and related diseases ('grey zone' lymphoma). *Ann. Oncol.* 1998; 9 (supl. 5): S31–S38.
20. Traverse-Glehen A., Pittaluga S., Gaulard P. i wsp. Mediastinal gray zone lymphoma: the missing link between classic Hodgkin's lymphoma and mediastinal large B-cell lymphoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 2005; 29: 1411–1421.



21. García J.F., Mollejo M., Fraga M. i wsp. Large B-cell lymphoma with Hodgkin's features. *Histopathology* 2005; 47: 101–110.
22. Campo E., Swerdlow S.H., Harris N.L. i wsp. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood* 2011; 117: 5019–5032.
23. Eberle F.C., Salaverria I., Steidl C. i wsp. Gray zone lymphoma: chromosomal aberrations with immunophenotypic and clinical correlations. *Mod. Pathol.* 2011; 24: 1586–1597.
24. Eberle F.C., Rodriguez-Canales J., Wei L. i wsp. Methylation profiling of mediastinal gray zone lymphoma reveals a distinctive signature with elements shared by classical Hodgkin's lymphoma and primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Haematologica* 2001; 96: 558–566.
25. Quintanilla-Martinez L., Fend F. Mediastinal gray zone lymphoma. *Haematologica* 2011; 96: 496–499.
26. Grant C., Dunleavy K., Eberle F.C. i wsp. Primary mediastinal large B-cell lymphoma, classic Hodgkin lymphoma presenting in the mediastinum, and mediastinal gray zone lymphoma: what is the oncologist to do? *Curr. Hematol. Malig. Rep.* 2011; 6: 157–163.
27. Tomita N. BCL2 and MYC dual-hit lymphoma/leukemia. *J. Clin. Exp. Hematop.* 2011; 51: 7–12.
28. Boerma E.G., Siebert R., Kluin P.M. i wsp. 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.
29. 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.
30. Scholtysik R., Kreuz M., Klapper W. i wsp. Detection of genomic aberrations in molecularly defined Burkitt's lymphoma by array-based, high resolution, single nucleotide polymorphism analysis. *Haematologica* 2010; 95: 2047–2055.
31. Haralambieva E., Boerma E.J., van Imhoff G.W. i wsp. Clinical, immunophenotypic, and genetic analysis of adult lymphomas with morphologic features of Burkitt lymphoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 2005; 29: 1086–1094.
32. Alizadeh A.A., Eisen M.B., Davis R.E. i wsp. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000; 403: 503–511.
33. Hans C.P., Weisenburger D.D., Greiner T.C. i wsp. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004; 103: 275–282.
34. Choi W.W.L., Weisenburger D.D., Greiner T.C. i wsp. A new immunostain algorithm classifies diffuse large B-cell lymphoma into molecular subtypes with high accuracy. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15: 5494–5502.
35. Lenz G., Wright G.W., Emre N.C. i wsp. Molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma arise by distinct genetic pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2008; 105: 13520–13525.
36. Savage K.J., Johnson N.A., Ben-Neriah S. i wsp. MYC gene rearrangements are associated with a poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP chemotherapy. *Blood* 2009; 114: 3533–3537.
37. 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.
38. Beà S., Colomo L., López-Guillermo A. i wsp. Clinicopathologic significance and prognostic value of chromosomal imbalances in diffuse large B-cell lymphomas. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 3498–3506.
39. Klapper W., Szczepanowski M., Burkhardt B. i wsp. Molecular profiling of pediatric mature B-cell lymphoma treated in population-based prospective clinical trials. *Blood* 2008; 112: 1374–1381.
40. Bentink S., Wessendorf S., Schwaenen C. i wsp. Pathway activation patterns in diffuse large B-cell lymphomas. *Leukemia* 2008; 22: 1746–1754.
41. Snuderl M., Kolman O.K., Chen Y.B. i wsp. B-cell lymphomas with concurrent IGH-BCL2 and MYC rearrangements are aggressive neoplasms with clinical and pathologic features distinct from Burkitt lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 2010; 34: 327–340.
42. Aukema S.M., Siebert R., Schuurings E. i wsp. Double hit B-cell lymphomas. *Blood* 2011; 117: 2319–2331.
43. Akasaka T., Akasaka H., Ueda C. i wsp. Molecular and clinical features of non-Burkitt's, diffuse large-cell lymphoma of B-cell type associated with the c-MYC/immunoglobulin heavy-chain fusion gene. *J. Clin. Oncol.* 2000; 18: 510–518.
44. Johnson N.A., Savage K.J., Ludkovski O. i wsp. Lymphomas with concurrent BCL2 and MYC translocations: the critical factors associated with survival. *Blood* 2009; 114: 2273–2279.
45. Prochorec-Sobieszek M. Klasyfikacja WHO 2008 chłoniaków z komórek B — podstawy i ważne zmiany. *Hematologia* 2010; 1: 1–14.