

# Folikulový lymfóm a lymfóm z plášťových buniek v biopsiách orgánov žalúdočno-črevnej oblasti

Lukáš Plank<sup>1,2</sup>, Tomáš Balhárek<sup>1,2</sup>, Peter Szépe<sup>1,2</sup>

Konzultačné centrum bioptickej diagnostiky ochorení krvotvorby v SR:

<sup>1</sup> Ústav patologickej anatómie Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Univerzitnej nemocnice v Martine

<sup>2</sup> Martinské bioptické centrum, s.r.o. v Martine

## SÚHRN

V práci sa predkladá retrospektívna analýza prípadov folikulového lymfómu (FL) a lymfómu z plášťových buniek (MCL) diagnostikovaných podľa klasifikácie SZO (2008) v konzekutívnych biopsiách orgánov žalúdočnočrevnej oblasti počas 11 rokov. Celkove išlo o 18 pacientov s FL verifikovaným v 22 biopsiách a 44 pacientov s MCL diagnostikovaným v 54 biopsiách. FL bol vždy diagnostikovaný ako solitárny nádor, najčastejšie - až v ¾ prípadov - v tenkom čreve, častejšie v jejunoileickej než duodenálnej oblasti. Približne rovnako často išlo o biopsiu endoskopickú (54,5 %), obyčajne mukozálnu a zriedka polypektomickú, resp. resekčnú (45,5 % prípadov). Pri prevahe FL s nízkym stupňom malignity bol FL G3 identifikovaný v pribl. 11 % prípadov. 4 lokoidentické recidívy verifikované biopsiou sa vyskytli len u 2 pacientov s duodenálnym FL a nevykazovali známky blastickej transformácie. Napriek problémom s identifikáciou nodulárneho rastu v malých bioptických vzorkách morfológický obraz a typický fenotyp vyžadovali len v jednom prípade podporu diagnózy dôkazom prestavby *BCL2* génu metódou FISH. MCL sa najčastejšie vyskytoval v žalúdku a hrubom čreve, v tenkom čreve v menej než v 23 % prípadov. Až u ¼ pacientov bol verifikovaný ako multifokálny nádor, s obrazom lymfomatoidnej polypózy postihujúcej najčastejšie súčasne hrubé a tenké črevo. Dominovali mukozálne alebo polypektomické endoskopické biopsie, chirurgická intervencia s resekciou bola potrebná v menej ako 10 % prípadov. Zatiaľčo v ¼ prípadov išlo o blastoidné varianty, tak častejší bol konvenčný MCL. Recidívy sa vyskytli až u 9 pacientov, 5x boli lokoidentické a 4x viedli k disseminácii do iných orgánov žalúdočnočrevnej oblasti, pričom blastická transformácia sa vyskytla len u jedného pacienta. Až v 18 % biopsií sme diagnózu MCL podporili aj dôkazom prestavby *CCND1* génu FISH analýzou. Celkove možno konštatovať rozdielnosť výskytu a klinickej prezentácie FL a MCL v žalúdočnočrevnej oblasti a potrebu podporiť bioptickú histologickú a fenotypovú diagnostiku aj FISH analýzami, najmä v prípade MCL. Správna diagnostika tak FL, ako aj MCL je dôležitá tak pre indikáciu rozdielnych terapeutických modalít oboch ochorení, ako aj pre prognostickú stratifikáciu pacientov.

**Kľúčové slová:** extranodálny non-Hodgkinov lymfóm – gastrointestinálny trakt – folikulový lymfóm – lymfóm z plášťových buniek – lymfóm z B-buniek marginálnej zóny MALT-tytu – reaktívna lymfatická folikulová hyperplázia

## Follicular and mantle cell lymphoma diagnosed in biopsies of gastroenterocolic region

### SUMMARY

The authors present a retrospective analysis of follicular lymphomas (FL) and mantle cell lymphomas (MCL) diagnosed according to the WHO classification (2008) in consecutive biopsies of GI organs in a period of 11 years. The series includes 18 patients with FL verified in 22 biopsies and 44 patients with MCL diagnosed in 54 biopsies. FL represented always a solitary tumor, most often – up to ¾ of all the cases – of a small intestine, more often in its jejunoileal than duodenal parts. The biopsies were obtained almost equally by endoscopic approach, they were usually mucosal and rarely polypectomic, as well as by surgical resections (54,5 % and 45,5 % of the cases respectively). FL of grade 3 was identified in approximately 11 % of the cases, while majority of the patients showed FL of grade 1 or 2. Only 2 patients with duodenal FL relapsed and bioptically verified recidives did not show signs of a high grade transformation. Although it was difficult to identify a nodular growth pattern in more common small biopsies, a typical histomorphology and phenotype mostly allowed the FL diagnosis in the majority of the cases. The FL diagnosis had to be supported by detection of *BCL2* translocation only in one case. MCL appeared most often in the stomach and large intestine, the small intestinal cases represented less than 23 %. In ¼ of the patients the lymphoma was multifocal and manifested as lymphomatoid polyposis affecting most often both large and small intestine. In a majority of the MCL patients, the diagnosis was done in mucosal and polypectomic endoscopic biopsies, surgical intervention and resection was recorded in less than 10 % of the cases. Most of the patients showed conventional „centrocytic“ MCL morphology and approximately ¼ of the cases showed blastoid MCL. The rebiopsies of 9 patients revealed a relaps of the disease which was locoidentical in 5 of them; in other 4 patients the biopsies documented a dissemination to other GI organs. The blastic transformation was recognized only in one of the relapsing patients. In contrast to FL, in 18 % of the biopsies the MCL diagnosis required a *CCND1* gene rearrangement detection by FISH. In summary both of the studied GI lymphomas showed different and heterogenous incidence, clinical manifestation and necessity to support the biopsy diagnosis also by FISH examination. The correct FL and MCL diagnosis represents a *conditio sine qua non* for an indication of different therapeutical modalities as well as for the prognostic stratification of the patients.

**Keywords:** extranodal non-Hodgkin lymphoma – gastrointestinal tract – follicular lymphoma – mantle cell lymphoma – marginal zone B-cell lymphoma of MALT-type – reactive lymphoid follicular hyperplasia

*Cesk Patol* 2016; 52(1): 33–41

### ✉ Adresa pre korešpondenciu:

Prof. MUDr. Lukáš Plank, CSC.

ÚPA JLF UK a UNM

Kollárova 2, 03659 Martin, Slovensko

tel.: +421-43-4133002

fax: +421-43-4203370

e-mail: plank@jfm.uniba.sk

Gastrointestinálny trakt (ďalej GIT) je najčastejším miestom výskytu extranodálnych maligných lymfómov (ML; 1-3). Medzi v ňom primárne najčastejšie vznikajúce ML B-pôvodu aj našej populácie patrí (extranodálny) lymfóm z B-buniek marginálnej zóny MALT-tytu (ďalej len „MZBL MALT-tytu“) a obyčajne s jeho transformáciou súvisiaci difúzny veľkobunkový B-lymfóm (DLB-CL; 1,2). Ďalšie ML B-pôvodu GITu, a to folikulový lymfóm (FL)

a lymfóm z buniek pláštovej zóny (MCL) sú zriedkavejšie. Sú buď primárne alebo sekundárne, keď postihujú GIT v rámci diseminácie systémového ochorenia (4-5).

Kým rastové, cytologické a fenotypové črty DLBCL GITu zväčša nekomplikujú jeho typizáciu, tak bioptická diagnostika a vzájomná diferenciálna diagnostika FL a MCL je zložitejšia a zahŕňa aj ich odlišenie od MZBL MALT-typu, reaktívnej lymfatickej folikulovej hyperplázie, niekedy aj od „blastických“ ML B-pôvodu. Z hľadiska klinickej praxe sa tak v prvom kroku vyžaduje odlišenie nenádorovej od nádorovej lymfoproliferácie a v druhom kroku rozlíšenie medzi FL, MCL a MZBL MALT-typu. Tieto tri ML GITu predstavujú totiž biologicky a prognosticky rozdielne ochorenia vyžadujúce indikácie rozdielnych terapeutických modalít. Z hľadiska biptickej praxe ich spájajú dve črty: nodulárny rastový vzor lymfoproliferácie prítomný najmenej v začiatkových fázach nádorového ochorenia a obvyčajne prevládajúca malobunková morfológia. Naopak, niektoré typy MCL a FL grade 3 (G3) charakterizuje „blastická“ morfológia, čo niekedy, najmä v prípade MCL, môže viesť k nesprávnej diagnóze.

Kritériá biptickej diagnostiky a diferenciálnej diagnostiky FL a MCL nielen gastroenterologickej oblasti, rovnako ako MZBL MALT-typu podľa platnej klasifikácie ML (2) sú všeobecne známe. Prihliadajúc na relatívnu zriedkavosť FL a MCL GITu však ich diagnostika v rutínnej praxi na hematopatológiu nešpecializovaného patológa môže byť problematická. Navyše tieto nádory nie sú klinicky a ani morfológicky stacionárne, lebo v priebehu ochorenia – napr. progresii, recidíve a rovnako aj po liečbe vykazujú spektrum rôznych rastových a histocytologických črt. To isté platí aj pre biopsie odoberané s cieľom sledovania efektu ich liečby. Nami predložená práca nemá „akademické“ ambície doplniť vedecky overené a v dostupných celosvetovo akceptovaných textoch definujúce prvky klasifikácie MCL alebo FL (2-3). Naopak, v rámci analýzy v našom registri evidovaných nodulárne rastúcich ML B-pôvodu diagnostikovaných v žalúdočnočrevnej oblasti sme boli vedení snahou o sumarizáciu poznatkov použiteľných pri ich diagnostike v rutínnej biptickej praxi aj v nešpecializovaných pracoviskách nášho odboru.

## MATERIÁL A METODIKA

Všetky prípady tu retrospektívne analyzovanej kohorty pacientov s bipticky verifikovaným FL resp. MCL gastroenterologickej oblasti boli vybrané z elektronického registra pracoviska. Kritériom selekcie boli morfológické kódy ICD-O klasifikácie pre FL a MCL a topografické kódy pre uvedené orgány (v rámci spektra topografického kódu T151-T154). Identifikované prípady boli diagnostikované v konzekutívnej sérii v období 01/2004 – 08/2015. V každej z biopsií bol k dispozícii štandardný panel histologických vyšetrení paraafínových rezov (farbenie HE a podľa Giemsu, impregnácia podľa Gomoriho a PAS reakcia). Každá z uvedených diagnóz bola verifikovaná aktuálne v čase diagnózy platným imunohistochemickým diagnostickým a diferenciálno-diagnostickým panelom. Minimálny štandard v celom sledovanom období zahŕňal dôkaz CD20, CD3, CD5, CD10, bcl2, cyklínu D1 a ľahkých reťazcov c-Ig, tento základný panel bol postupne dopĺňaný o ďalšie štandardizované parametre (dôkaz bcl6, GCET, SOX11, CD23 a i.). Podľa potreby boli v aktuálnom čase diagnózy vyšetrené aj proliferatívna aktivita určením Ki-67 indexu, resp. prítomnosť genov *IgH*, *BCL2*, *BCL6* a *CCND1* metódou i-FISH. Ďalej boli analyzované dostupné klinické údaje a ostatné vyšetrenia pacientov v našom biptickej registri (vrátane stagingových biopsií kostnej drene) v snahe identifikovať, či išlo o primárny ML žalúdočnočrevnej oblasti, alebo o systé-

mové generalizované ochorenie. Súčasne sme zaznamenali aj spôsob získania biptickej materiálu s rozdelením na endoskopické mukozálne resp. polypektomické a resekčné vzorky.

Zistené výsledky boli konfrontované s dvomi „kontrolnými skupinami“ - náhodne vybranými skupinami konzekutívnych biopsií pacientov z obdobia 2013 - 2014, a to:

- 10 pacientov s nami bipticky verifikovaným lymfómom z B-buniek marginálnej zóny MALT-typu ML žalúdočnočrevnej oblasti, ako aj
- 10 pacientov s nami bipticky diagnostikovanou reaktívnou lymfatickou folikulovou hyperpláziou v uvedených orgánoch.

Vo všetkých prípadoch boli vyhodnotené rastové vzory lymfoproliferácie, a to nodulárny (s typickou perinodulárnou kresbou retikulínových vlákien), pseudonodulárny (bez obkruženia histologicky sugestívnych uzlovitých formácií nádoru), difúzny, alebo zmiešaný, rovnako aj histocytologické a fenotypové parametre lymfoidných buniek. Histocytologické črty zahŕňali grading FL, resp. rozdelenie MCL na typ konvenčný verzus blastoidný MCL (2).

## VÝSLEDKY

Základná charakteristika súboru pacientov s FL resp. MCL podľa lokalizácie nádoru v čase prvej biptickej diagnózy, resp. v čase biopsie a podľa spôsobu odberu materiálu na biptické vyšetrenie je sumarizovaná v tabuľke č. 1 a 2. V celom súbore tvoria viac než 4/5 vyšetrení biptické vyšetrenia „malých“ endoskopických biopsií (48/76; t.j. 63,2 %) a endoskopických polypektómií (13/76, t.j. 17,1 %), vyšetrenia resekčného materiálu predstavujú takmer 1/5 biptickej vyšetrení (15 z 76, t.j. 19,7 %). V hodnotenom období sme diagnostikovali FL u 18 pacientov v 22 biopsiách, vždy s výskytom len v jednej lokalizácii žalúdočnočrevného komplexu, a MCL u 44 pacientov v celkove 54 biopsiách, pričom až 14x išlo (pri klinicky identifikovanom mnohopočetnom postihu GITu) o súčasný odber z viacerých úsekov žalúdočnočrevnej oblasti. V ďalšom uvádzame výsledky rozdelené podľa diagnóz.

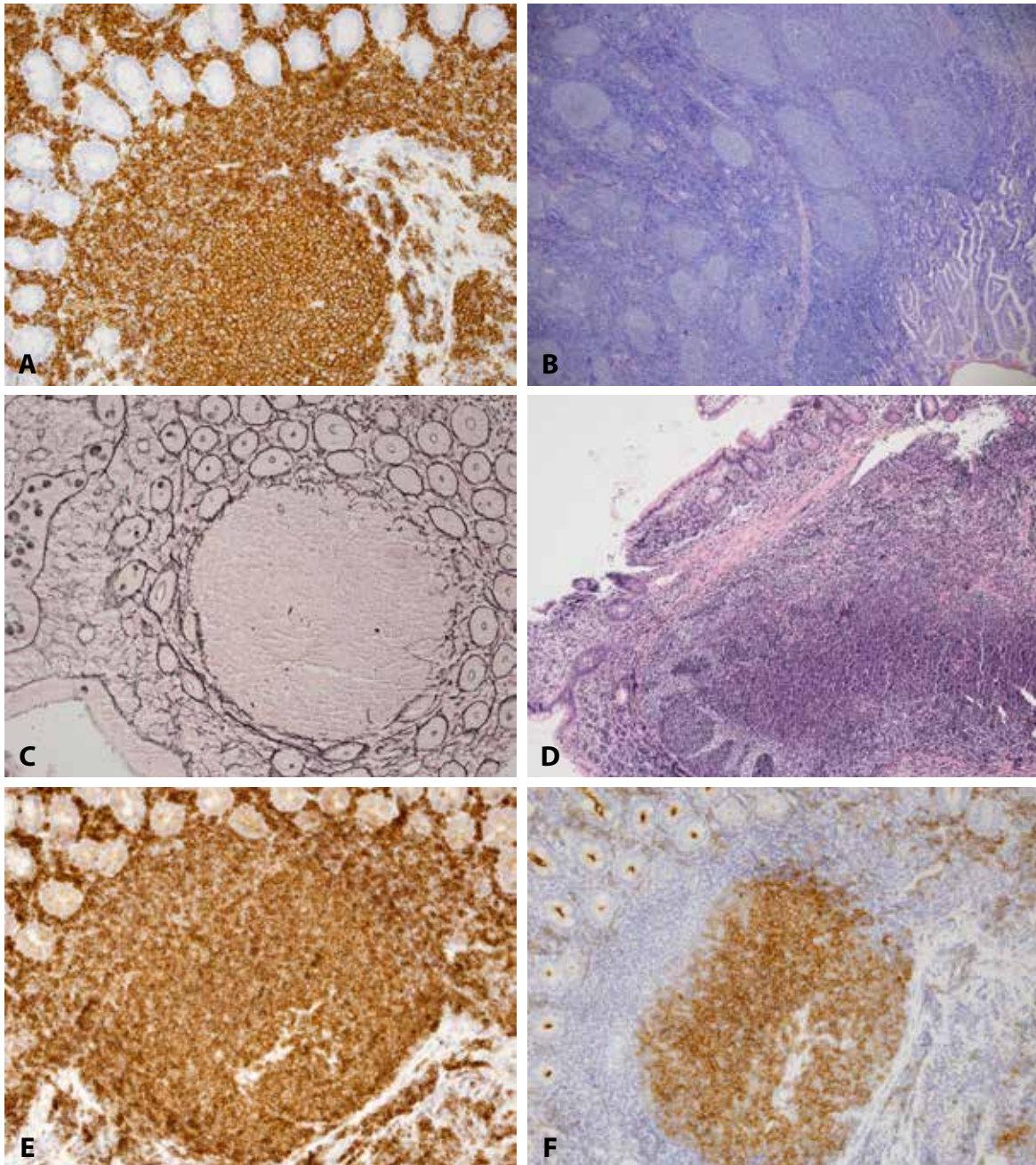
### A/ FL žalúdočnočrevnej oblasti

Podľa dostupných klinických údajov a údajov nášho biptickej registra by u všetkých pacientov analyzovaného súboru malo ísť o primárny FL uvedenej oblasti. Ten bol v 1. biopsii diagnostikovaný najčastejšie, u 77,8 % (14/18) všetkých pacientov, v tenkom čreve, a to častejšie v jejunoilickej než duodenálnej oblasti – v 55,6 % verzus 22,2 % (10/18, verzus 4/18) pacientov. FL žalúdka bol diagnostikovaný u 13,6 % (3/18) pacientov, postih hrubého čreva zaznamenaný nebol. U oboch pacientov s rebiptickým vyšetrením GITu išlo o duodenálny FL s lokoidentickou recidívou: u jedného pacienta išlo o tri recidívy v časovom intervale troch rokov od prvej biopsie a u druhého o rebiopsiu po ôsmich mesiacoch. FL bol vždy lokalizovaný len v jednom orgáne, súčasná infiltrácia viacerých orgánov sledovanej oblasti zistená nebola. Z celkového počtu 22 biopsií bola diagnóza FL verifikovaná v endoskopickkej biopsii v 54,5 % (12/22) a v chirurgickom resekčnom materiáli v 45,5 % (10/22) všetkých vzoriek.

V biopsiách 88,9 % (16/18) pacientov bol diagnostikovaný nízkomalígný FL, a to 15x G1 a 1x G2, vysokomalígný (G3) FL sa vyskytol u 11,1 % (2/18) pacientov, a to vždy s s ložiskami DLBCL. U žiadneho z dvoch pacientov s registrovanou rebiopsiou nedošlo v rebiopsiách k progresii z pôvodného obrazu G1 FL. Zmeny typu tzv. lymfoepitelových lézií sme nepozorovali v žiadnom prípade (obr. 1A).

Vo všetkých resekčných materiáloch bol zreteľný dominujúci nodulárny rastový vzor (obr. 1B). V malých vzorkách bola nodularita zreteľná obvyčajne len v časti nádorového infiltrátu, prípad-





**Obr. 1. Folikulové lymfómy žalúdočno-črevnej oblasti.**

**A:** Infiltrácia sliznice duodena bez prítomnosti lymfoepitelových lézií (IHC dôkaz CD20, obj. 20x), **B:** Nodularita FL v resekáte tenkého čreva (farb. podľa Giemsu, obj. 10x), **C:** Perinodulárna kresba retikulínu v duodenálnom infiltráte (impregnácia podľa Gömöriho, obj. 20x), **D:** Fokálna nodularita a prevaha difúznej komponenty v infiltráte terminálneho ilea (HE, obj. 4x), **E:** FL duodena s marginálne zonálnou diferenciáciou, ten istý prípad ako v A (IHC dôkaz bcl2 proteínu, obj. 20x), **F:** FL duodena s marginálne zonálnou diferenciáciou, ten istý prípad ako v A, resp. E (IHC dôkaz CD10, obj. 20x).

ne v kombinácii s pseudonodularitou a súčasne boli identifikovateľné aj difúzne infiltráty bez zreteľnej nodularity (obr. 1C-D). Rozmery endoskopické vzorky neumožnili spoľahlivé určenie pomeru difúznej a nodulárnej zložky podľa štandardov diagnostiky FL (SZO, 2008). V jednom prípade FL s CD20 pozitivitou nodulárnych štruktúr až súčasná detekcia expresie CD10 a bcl6 antigénov potvrdila morfológicky suspektnú marginálne zonálnu diferenciáciu na obvode nádorového uzla (bez expresie CD10, resp. bcl6 – obr. 1E-F). Diagnóza FL bola podporená „klasickým“ histologickým obrazom a fenotypom nádorových buniek, takže u väčšiny - až u 94,4 % (17/18) pacientov nevyžadovala molekulo genetické analýzy. Len u jedného pacienta v endoskopické biopsii duodena bola prítomná difúzna prevažne malobunková

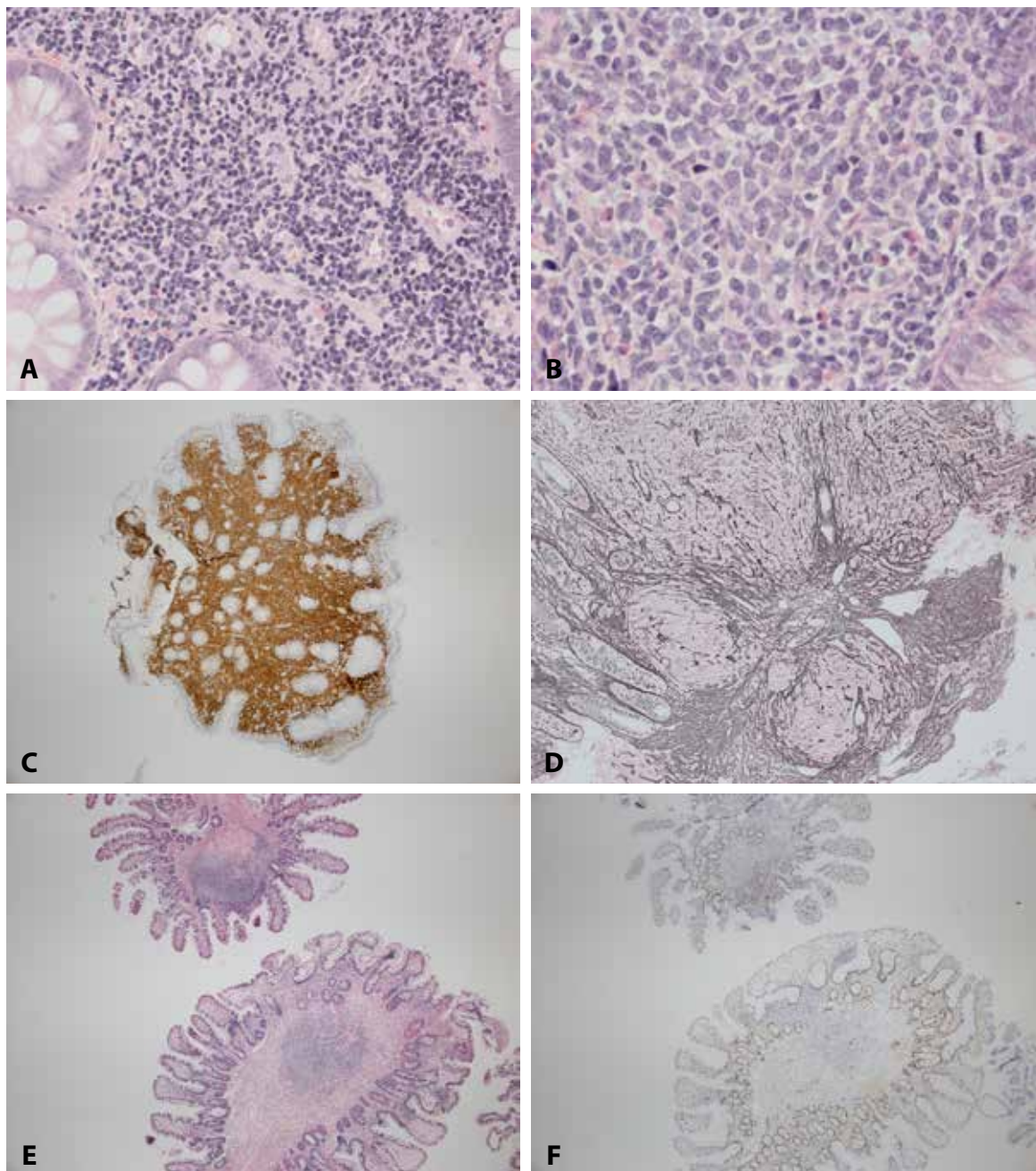
lymfoidná infiltrácia, s expresiou pozitívity CD20 aj bcl2 proteínu, v čase aktuálnej biopsie (r. 2005) bližšie netypizovateľná. Diagnóza FL bola vtedy verifikovaná dôkazom prestavby *BCL2* génu, resp. fúzie *BCL2/IGH* génov FISH analýzou.

#### **B/ MCL žalúdočnočrevnej oblasti**

Podľa dostupných údajov u 40,9 % (18/44) pacientov nášho súboru ide o primárny extranodálny MCL žalúdočnočrevnej oblasti a u 59,1 % (26/44) pacientov o sekundárny postih týchto orgánov GITu systémovým MCL.

V čase primodiagnózy, pri zohľadnení infiltrácie len jedného orgánu sledovanej oblasti, prevláda MCL žalúdka a resp. hrubého čreva - 36,4 % (16/44), resp. 27,3 % (12/44) všetkých





**Obr. 2. Lymfómy z plášťových buniek žalúdočno-črevnej oblasti. A:** Konvenčný „malobunkový“ MCL v sliznici hrubého čreva (HE, obj. 40x), **B:** Blastoidný MCL v sliznici hrubého čreva (HE, obj. 40x), **C:** Difúzny rast v polype hrubého čreva (IHC dôkaz CD5, obj. 4x), **D:** Parciálne nodulárny rast v polype rekta (impregnácia podľa Gömöriho, obj. 10x), **E:** Minimálna infiltrácia sliznice terminálneho ilea po liečbe (HE, obj. 4x), **F:** Ten istý obraz ako v E (IHC dôkaz cyklínu D1, obj. 4x).

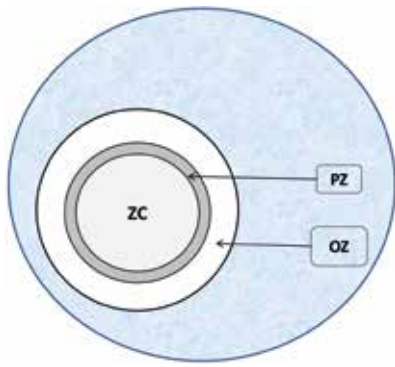
pacientov. Primárny izolovaný MCL tenkého čreva bol zriedkavejší – vyskytol sa u 13,6 % (6/44) všetkých pacientov. V čase prvej diagnózy bola však častá disseminácia ochorenia v GITe verifikovaná súčasnou biopsiou viacerých lokalizácií, a to u 25 % (11/44) všetkých pacientov. Najčastejšie išlo o súčasnú infiltráciu rôznych častí hrubého čreva alebo hrubého aj tenkého čreva – u 13,6 % (6/44) pacientov. S prihliadnutím na sumáciu údajov podľa izolovaného a súčasného multifokálneho výskytu MCL je poradie postihu sledovaných orgánov v čase prvej diagnózy nasledovné: prevláda MCL žalúdka 47,8 % pacientov (36,4 % s izolovaným a 11,4 % pacientov s multifokálnym výskytom), nasleduje MCL hrubého čreva u 40,9 % pacientov (27,3 % pacientov s izolovaným a ďalších 13,6 % s multifokálnym výskytom) a postih tenkého čreva 22,6 % pacientov (13,6 % v prípade izolovaného a 9 % pacientov s multifokálnym výskytom).

V skupine 9 pacientov s rebiopsiou u piatich z nich išlo o identický postih toho istého orgánu, resp. tých istých dvoch orgánov ako v čase primárnej diagnózy a u štyroch rebiopsia verifikovala dissemináciu do inej časti žalúdočnočrevného systému. Najdlhší časový odstup od prvej biopsie do rebiopsie relapsu ochorenia bol 4 roky, okrem jediného prípadu žalúdočného relapsu ochorenia po 8-ročnej remisii primárne nodálneho MCL (biopsia nami verifikovaná pred aplikáciou elektronického registra sledovaného obdobia).

Diagnóza MCL bola verifikovaná najčastejšie endoskopickým odberom, resp. endoskopickou polypektómiou - v 68,5 % (37/54), resp. 22,2 % (12/54) a menej často v resektívnom chirurgickom materiáli - v 9,3 % (5/54).

Z hľadiska gradingu bol histocytologicky identifikovaný:

a) v čase 1. biopsie 33 pacientov (75 % všetkých) konvenčný typ MCL (obr. 2A), z toho v 4 prípadoch išlo o diskordant-



**Schéma 1.**

Kruh vyznačuje zorné pole v objektíve - reaktívny lymfatický folikul v sliznici GIT-u.

Skratky:

**ZC** = zárodočné centrum lymfatického folikulu

**PZ** = plášťová zóna folikulu (angl. „mantle zone“)

**OZ** = okrajová zóna folikulu (angl. „marginal zone“)

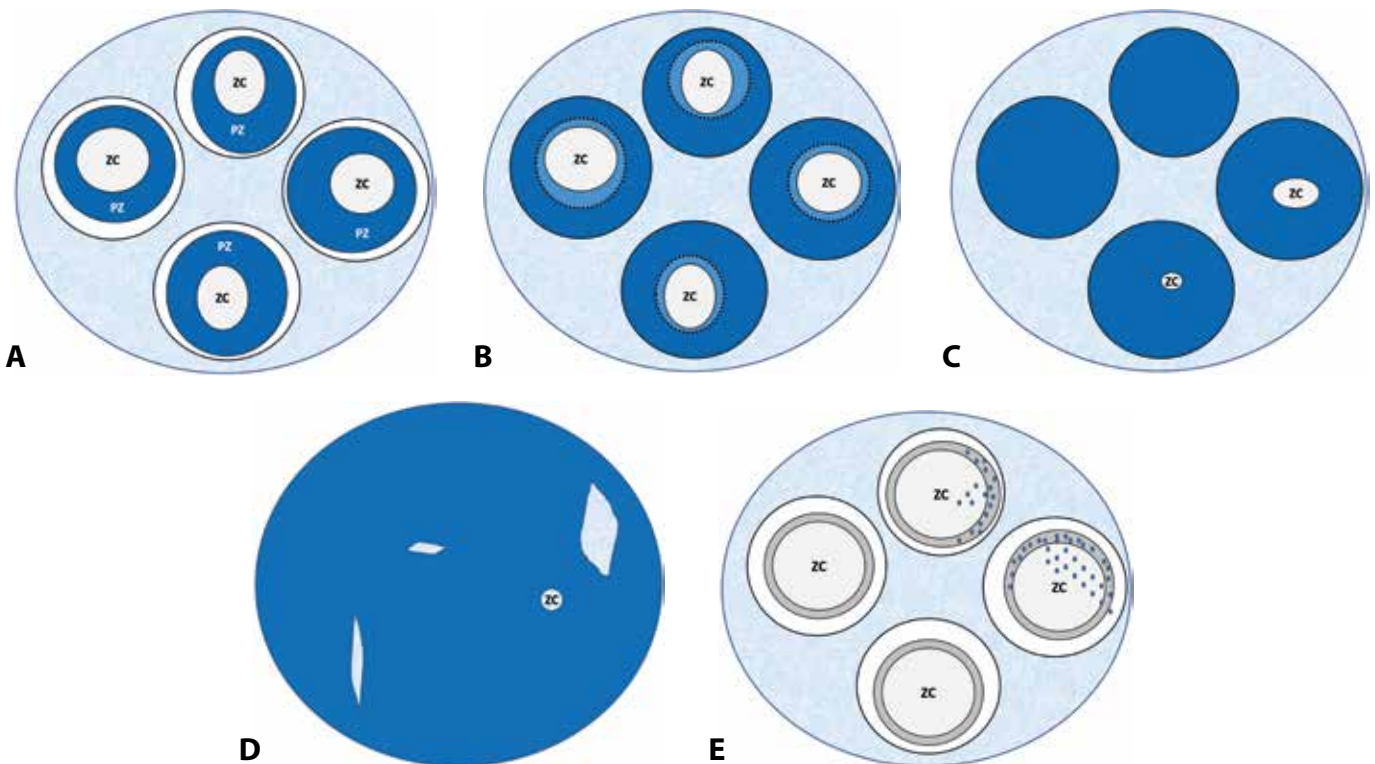
nú morfológiu, keďže biopsia v iných lokalizáciách preukázala blastoidnú morfológiu,

- b) v biopsiách ďalších 11 (25 % všetkých) pacientov išlo o blastoidný typ MCL (obr. 2B), bez výskytu diskordantného nálezu,
- c) v prípade opakovanej jednej rebiopsie 7 pacientov a dvoch rebiopsií jedného pacienta bol vo všetkých vzorkách verifikovaný identický typ MCL. Len u jedného pacienta primárna biopsia vykazovala konvenčný typ MCL a následná rebiopsia v identickej rektálnej oblasti po približne 12 mesiacoch transformáciu do blastoidného typu MCL.

V 81,5 % (44/54) biopsiách pacientov s MCL bol identifikovaný difúzny rast nádoru (obr. 2C). V 9,25 % (5/54) bola zreteľná nodularita (obr. 2D) a v ďalších 9,25 % (5/54) pseudonodularita rastu nádoru, v týchto prípadoch boli v centre uzlovitých štruktúr nádoru morfológicky alebo imunohistochemicky verifikované reziduá zárodočných centier folikulov, prípadne CD23 pozitívne siete folikulárnych dendritických buniek. V žiadnom z prípadov MCL sme nepozorovali zmeny typu tzv. lymfoepitelových lézií. Zvláštnosťou bol nález minimálnej infiltrácie inak reaktívneho lymfatického folikulu jedného pacienta v rebiopetickej vzorke po predošlej liečbe a dosiahnutí klinickej remisie (obr. 2E-F).

Diagnóza MCL konvenčného (malobunkového) typu bola podporená „klasickým“ histocytologickým obrazom a fenotypom nádorových buniek (najmä súčasnosť pozitívity dôkazu CD20, CD5 a cyklínu D1), náročnejšia, aj z hľadiska diferenciálnej diagnózy, bola diagnóza blastoidného variantu MCL. V jednom prípade blastoidného MCL sme zistili atypický fenotyp buniek nádoru: pozitívitu dôkazu antigénov CD20, bcl2, cyklínu D1 a MUM1/IRF4 a slabú pozitívitu antigénu CD10, pri negativite dôkazu tak CD5, ako aj TdT. Súčasnosť i-FISH analýza dokázala prítomnosť translokácie t(11,14)(q13,32) v teréne spravidla troch kópií *CCND1* génu, bez prestavby génov *BCL2* a *MYC*. Celkovo až u 18,2 % (8/44) pacientov bolo potrebné v čase 1. biopsie GITu podporiť diagnózu MCL aj dôkazom prestavby *CCND1* génu i-FISH analýzou v nádorovom tkanive. Náročnosť diagnózy MCL súvisela aj s problémami s kvalitou resp. senzitivitou protilátok na detekciu CD5 resp. cyklínu D1 v parafínových rezoch v prvých rokoch sledovaného obdobia.

**C/V kontrolnom súbore pacientov s MZBL MALT-typu** boli zastúpené tak endoskopické, ako aj resekčné biopsie žalúdka a tenkého čreva. Dodržiavanie štandardov histologickej a imunohistochemickej diagnostiky MZBL, resp. iných ML (2) bolo



**Schéma 2.**

**A.** MCL, rast na spôsob plášťovej zóny okolo zárodočných centier folikulov.

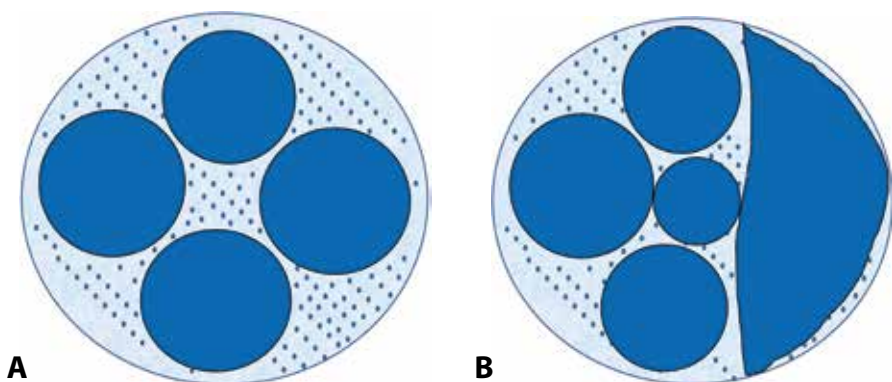
**B.** MCL, rast na spôsob marginálnej zóny.

**C.** MCL, nodulárny rast, možné (mikro-)reziduá centier folikulov.

**D.** MCL, difúzny spôsob rastu, možné mikroreziduá pôvodných štruktúr.

**E.** MCL, možná minimálna infiltrácia pri relapse (CD20+/PAX5+/CD5+/cyklín D1+).

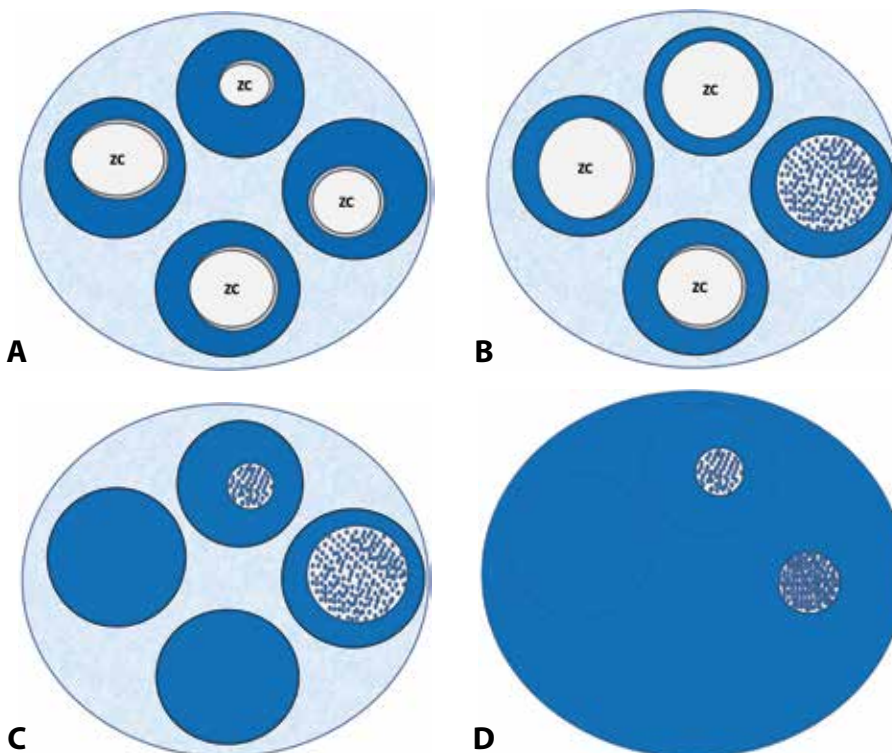




**Schéma 3**

A. FL, typický nodulárny rast, nádorové bunky prítomné aj v internodulárnych zónach.

B. FL, zmiešaný nodulárny a difúzny rast.



**Schéma 4**

A. MZBL MALT-typ, (obvyčajne iníciaľne) rast na spôsob okrajovej zóny.

B. MZBL: tzv. kolonizácia lymfatických folikulov, obraz imituje folikulový lymfóm.

C. MZBL MALT-typ, pokročilá kolonizácia lymfatických folikulov, obraz imituje folikulový lymfóm.

D. MZBL MALT typu, splyvanie ložísk infiltrácie a dojem difúzneho rastu.

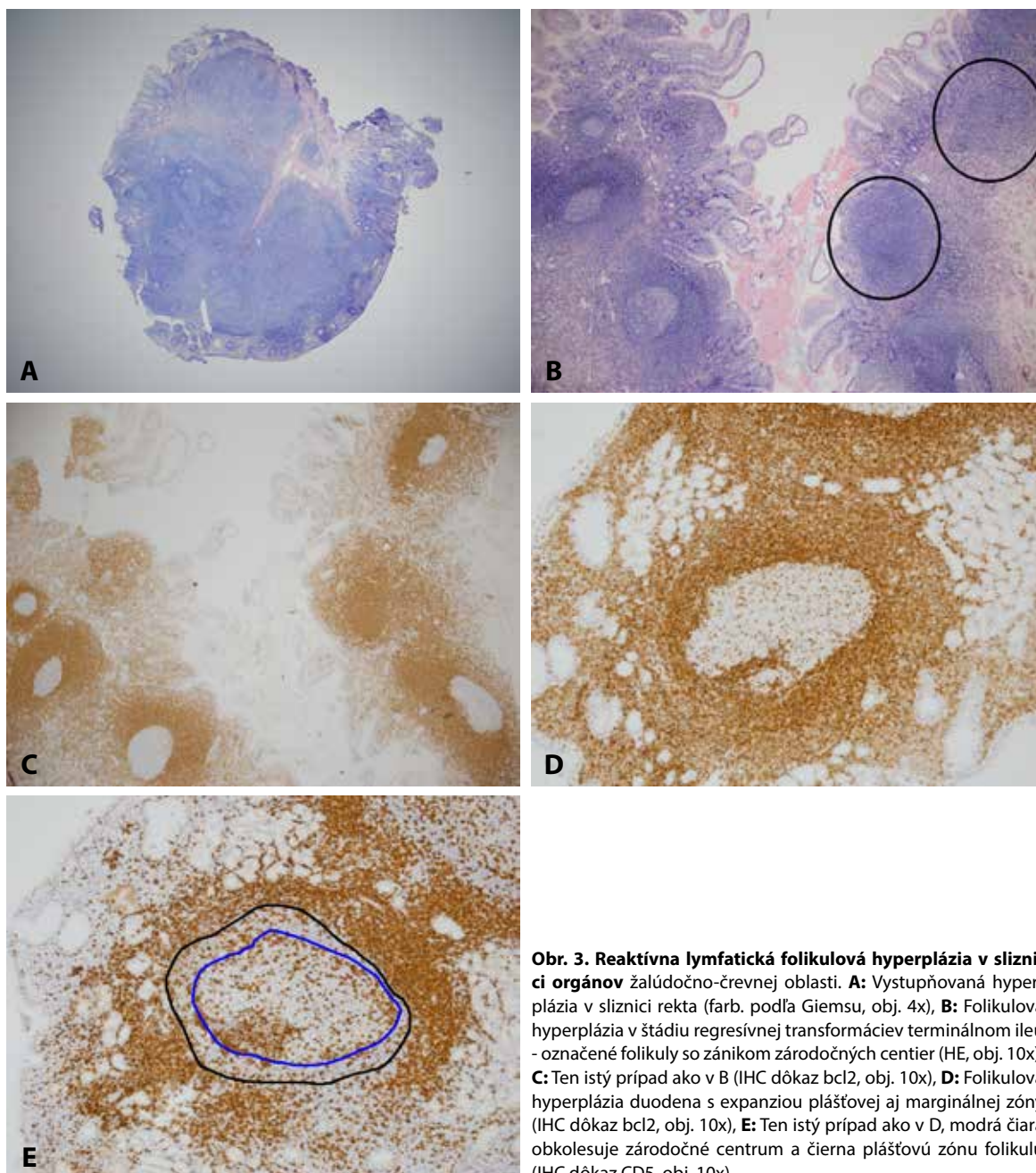
základom postupov v čase reálnej diagnózy. Súčasne je však potrebné upozorniť na rôznorodé spektrum rastových vzorov MZBL MALT-typ, čo môže, v diagnostickej aj v postterapeutickej biopsii spôsobiť rozpaky. Podrobný popis týchto nálezov presahuje rámec tejto publikácie, preto sme uvedené poznatky sumarizovali do prehľadných schém rastových vzorov MZBL, FL a MCL (viď schémy 1-4). V každom prípade MZBL MALT-typu boli morfológicky viditeľné a imunohistochemickou analýzou verifikované črty infiltrácie slizničných epitelových štruktúr nazývané lymfoepitelové lézie.

**D/ V kontrolnom súbore pacientov s reaktívnou lymfatickou folikulovou hyperpláziou** orgánov žalúdočnočrevnej oblasti boli zastúpené tak endoskopické, polypektomické, ako aj resekčné biopsie rôznych lokalizácií od duodenálnej cez terminálne ilum až po rektum. Dodržanie štandardov histomorfologickej a imunohistochemickej analýzy (2) umožňuje odlíšiť reaktívnu lymfatickú folikulovú hyperpláziu od nádorovej proliferácie FL aj MCL (najmä poly- versus monoklonalita buniek zárodočných centier a negativita versus pozitivita expresie bcl2 proteínu, resp. expresia CD5 a cyklínu

**Tabuľka č. 1.** Rozdelenie prípadov podľa miesta odberu biptickej vzorky.

Typ ML (n = počet pacientov alebo vzoriek)	Lokalizácia					
	žalúdok	duodenum	jejunum a ileum	apendix	hrubé črevo	mnohopočetné lokalizácie
<b>FL pacienti v čase 1. diagnózy (n=18)</b>	3	4	10	1	0	0
<b>FL biopsie * (n= 22)</b>	3	8	10	1	0	0
<b>MCL pacienti v čase 1. diagnózy (n=44)</b>	16	2	2	1	12	11
<b>MCL biopsie ** (n=54)</b>	17	2	4	1	16	14

Vysvetlivky: \* a \*\* všetky biopsie pacientov, t.j. celkový počet bioptických vyšetrení



**Obr. 3. Reaktívna lymfatická folikulová hyperplázia v sliznici orgánov žalúdočno-črevnej oblasti. A:** Vystupňovaná hyperplázia v sliznici rekta (farb. podľa Giemsu, obj. 4x), **B:** Folikulová hyperplázia v štádiu regresívnej transformácie v terminálnom ileu - označené folikuly so zánikom zárodočných centier (HE, obj. 10x), **C:** Ten istý prípad ako v B (IHC dôkaz bcl2, obj. 10x), **D:** Folikulová hyperplázia duodena s expanziou plášťovej aj marginálnej zóny (IHC dôkaz bcl2, obj. 10x), **E:** Ten istý prípad ako v D, modrá čiara obkolesuje zárodočné centrum a čierna plášťovú zónu folikulu (IHC dôkaz CD5, obj. 10x).

**Tabuľka č. 2.** Rozdelenie prípadov podľa spôsobu odberu biopsických vzoriek.

Typ ML (n = počet vzoriek)	Spôsob odberu vzorky		
	endoskopicky	polypektómia	chirurgická resekcia/ z toho apendektómia
FL (22)	11 *	1	10/1
MCL (54)	37 **	12	5/1

Vysvetlivky: \* zahŕňa aj 4 rebiopsie dvoch pacientov a \*\* zahŕňa aj všetkých pacientov s mnohopočetnými lokalizáciami a súčasným odberom zo sliznice rôznych častí žalúdočnočrevnej oblasti (viď text)

D1 pri nodulárnom rastovom vzore MCL – vid' schéma). To isté platí pri vystupňovanej reaktívnej lymfatickej folikulovej hyperplázii rektálnej oblasti, v ktorej hyperplastické folikuly na seba niekedy výraznejšie naliehajú (obr. 3A). Medzi možné problémy možno zaradiť dve nasledovné situácie. Prvou z nich je regresívna transformácia folikulov v teréne typickej reaktívnej hyperplázie, ktorá vedie k nodulárnej akumulácii CD20 pozitívnych buniek marginálnej zóny, pričom zárodoč-

né centrum folikulu je prítomné len reziduálne v centre uzla, prípadne zaniknuté (obr. 3B-C). Odlíšenie FL, resp. MCL vyžaduje dôkaz absencie fenotypových znakov týchto nádorov. Druhou je možná perifolikulárna akumulácia CD5+ T-buniek, ktorá pripomína rast MCL na spôsob plášťovej zóny. Tieto bunky však ležia v marginálnej a nie plášťovej zóne folikulu a ojedinele prenikajú aj do plášťovej zóny, resp. zárodočného centra folikulu (obr. 3E). To možno verifikovať morfológickou



analýzou, prípadne dôkazom expresie IgD typicky lokalizovanej len v pláštovej zóne folikulu.

## DISKUSIA

Primárnym cieľom predloženej práce bolo retrospektívne zhodnotiť možnosti a hranice diagnózy MCL a FL v bioptických vzorkách orgánov žalúdočnočrevnej oblasti v rámci každodennej biptickej praxe s využitím „len“ histologických a (na väčšine pracovísk nášho odboru aj rutinne používaných) prinajmenej základných imunohistochemických analýz. Ukazuje sa, že napriek limitom častých „malých“ (endoskopických) vzoriek je určenie diagnózy FL resp. MCL v biopsiách analyzovaných extranodálnych lokalizácií v prevažnej časti prípadov možné. Diagnózu umožňuje racionálna histologická a imunohistochemická analýza, aj v rámci tzv. druhého čítania, pričom diagnóza FL a MCL vyžadovala v tu analyzovaných extranodálnych lokalizáciách podporu špecializovanejšou FISH analýzou v menej ako 1/5 prípadov. Nemenej dôležitou môže byť aj dôkaz klonality B-bunkovej lymfoproliferácie (3). Správna diagnóza je tu dôležitá nielen z hľadiska prognostického, ale aj pre rozhodovanie o vhodnosti ďalšej liečby. Primárny MZBL MALT-typu vo včasných klinických štádiách je indikáciou k liečbe orientovanej na eradikáciu *H. pylori*. Keďže GIT je len zriedkavým miestom sekundárneho postihu primárne nodálnym FL (6), tak väčšina, ak nie všetky FL v GTe, v ňom zrejme aj vznikajú. Primárne FL duodena a rovnako aj hrubého čreva predstavujú obyčajne solitárne nádory v nízkom štádiu (obyčajne I.E-II.E) s indolentným klinickým priebehom (podobne ako primárne nodálne) a s 5-ročným prežívaním viac ako 62 % (1,3,7). V zmysle hesla „štádium určuje liečbu“ vtedy obyčajne vyžadujú len dispenzarizáciu pacienta a zriedkavo kontrolu rebiopsiou, resp. následnú endoskopickú polypektómiu (5,8,9), ako tomu bolo aj v dvoch prípadoch nášho súboru. Naproti tomu MCL predstavuje často multifokálne a klinicky sice heterogénne, ale najčastejšie agresívne ochorenie s potrebou intenzívnej systémovej liečby. Napriek liečbe býva prežívanie pacientov obyčajne obmedzené (10,11). Výnimkou je zriedkavejší indolentný MCL, verifikovaný klinickým priebehom aj u jedného pacienta nášho súboru.

Predložená analýza súčasne odhalila, s prihliadnutím k povahe vyšetrovaného materiálu a dostupným klinickým údajom, aj niektoré rozdielnosti klinických prejavov oboch sledovaných nádorov. V podskupine prípadov MCL bol pomer resekcčného verus endoskopického materiálu približne 1:10 a v podskupine FL takmer 1:1. Je zrejme, že u pacientov s FL GITu dochádza častejšie než v prípade MCL k poruchám črevnej pasáže. Tieto stavy, obyčajne typu obštrukčného ileu a intususcepcie, vyžadujú chirurgickú intervenciu, a to najmä pri lokalizácii FL v distálnejších častiach tenkého čreva (9). Z hľadiska diferenciálnej diagnózy možno pripomenúť, že podobná klinická manifestácia s potrebou chirurgického zákroku sa môže prejavovať aj pri reaktívnej lymfatickej folikulovej hyperplázii čreva. Jej najvýraznejšie prejavy typu tzv. florídnej lymfoidnej hyperplázie (3) môžu vzniknúť u imunodeficientných aj u imunokompetentných pacientov, najmä v dôsledku chronickej antigénovej stimulácie, napr. pri rôznych infekciách (HP, Giardiáze), malabsorpčných stavoch a pod. (12,13).

Naopak, u pacientov s MCL v GTe ileózný stav vzniká relatívne zriedka (14). MCL sa manifestuje ako izolovaná nádorová lézia pri endoskopickom obraze „normálnej“ sliznice, alebo s exulceráciou povrchových epiteliálnych štruktúr, alebo vo forme malých polypóznych nádorov (15). MCL je v orgánoch žalúdočnočrevnej oblasti buď sekundárny pri diseminácii obyčajne primárne nodálneho ochorenia (takmer 60% pacientov nášho súboru), alebo vzniká ako primárny nádor tejto oblasti (3). Primárny MCL GITu sa často prejavuje zvláštnou tendenciou multifokálnej infiltrácie

viacerých lokalizácií, ktorá v prípade tvorby polypoidných lézií sa označuje ako mnohopočetná (lymfoidná) polypóza. Tá je jedným z najčastejších primárných manifestácií MCL v žalúdočnočrevnej oblasti a tvorí podľa rôznych údajov približne 2-10 % všetkých ML B-pôvodu v GTe (11,14,16). Endoskopicky a aj morfológicky podobné a viacpočetné polypózne lézie sa však nevyskytujú exkluzívne u pacientov s MCL a môžu vzniknúť, aj keď menej často, v slizniciach aj pacientov s FL alebo MZBL MALT-typu (5,7,15). Endoskopická polypektómia v našom súbore tvorila približne 22 % biopsií MCL a len 1 z 22 biopsií FL. Sekundárny postih GITu bol v minulosti uvádzaný ako prejav diseminácie ochorenia u približne 1/3 pacientov s MCL, je však zrejme ešte častejší. Pri tzv. slepých endoskopických odberoch ešte neliečených pacientov s MCL v čase prvej diagnózy sa totiž v cieľených multifokálnych biopsiách endoskopicky normálne a abnormálne žalúdočnej a črevnej sliznice histologicky identifikoval až u 92 % všetkých vyšetrených pacientov mnohopočetný postih týchto štruktúr (4). Multifokalitu výskytu MCL sme pozorovali aj u približne ¼ pacientov našej série v momente endoskopického vyšetrenia pri prvej manifestácii ochorenia a tiež relatívne často aj pri rebiopsiách pre jeho recidívy.

Z hľadiska morfológického je dobré pamätať na rôznorodosť rastových vzorov týchto nádorov a neraz aj nekonzistenciu pozorovaných nálezov s „učebnicovými“ opismi. Napr. FL má vykazovať v 80 – 85 % prípadov nodulárny a menej často zmiešaný, prípadne ojedinele aj čisto difúzny rast (2). Tieto parametre vychádzajúce z údajov o nodálnych ML nemusia byť identické pričom výskytu v extranodálnom mikroprostredí. V nami pozorovanom súbore bola napr. nodularita rastu FL prítomná okrem jednej vo všetkých vyšetrených biopsiách. Súčasne sa vyskytli aj známky nepravej nodularity (pseudonodularity) a časté rôzne rozsiahle difúzne úseky bez jednoznačnej nodularity, čo môže viesť diagnostické úvahy nesprávnym smerom. Tieto nálezy však určite súvisia aj s limitmi materiálu, keď len menšiu časť tvoril resekcčný materiál s možnosťou rozsiahlejšieho štúdia rastového vzoru. Naša analýza ukázala, že viac než 4/5 všetkých vyšetrených biopsií súboru tvoria „malé“ endoskopické biopsie a endoskopické polypektómie. To, pochopiteľne okrem biologických faktorov rastu nádoru, môžu súvisieť aj s podobným nálezom prevahy difúzneho rastového vzoru vo viac ako 4/5 biopsií pacientov s MCL. V tejto podskupine pacientov bolo zastúpenie endoskopického materiálu ešte vyššie, ako v prípadoch FL. Tu na rozdiel od „učebnicových“ aj empirických poznatkov o nodálnych MCL bola pravá nodularita, resp. pseudonodularita s nálezom aspoň reziduí pôvodného zárodočného centra lymfatického folikulu málo častá - oba tieto rastové vzory MCL sa vyskytli v menej ako 10% biopsií súboru. Pre prax je užitočné myslieť na heterogenitu spôsobu rastu MCL, najmä vo vzťahu k diferenciálnej diagnostike, napr. aj nami pozorovaného FL s črtami marginálne zonálnej diferenciácie, resp. v schéme sumarizovaných rôznych rastových vzorov MZBL MALT-typu. K tomu možno dodať, že štruktúry typu tzv. lymfoepitelových lézií, považované za jeden z dôležitých znakov MZBL MALT-typu, u pacientov s FL a MCL v GTe (2) obyčajne absentujú.

Rastové črty sa však menia v priebehu ochorenia a vplyvom liečby. Najvypuklejším príkladom je záchyt minimálnej reziduálnej infiltrácie MCL v rebiopsii jedného pacienta po liečbe, v morfológicky nenápadnom „bežnom“ reaktívnom lymfatickom folikule. Klinicky ide o minimálnu reziduálnu chorobu, snáď aj preto niektorí (17) nazývajú tento nález „reziduálna in-situ MCL lézia“ analogicky k incipientnej lézii typu MCL in situ, považovanej za preneoplastickú léziu. Jej identifikácia je mimoriadne dôležitá z hľadiska ďalšieho terapeutického manažmentu pacienta (18).

Poznámky o heterogenite a premenlivosti rastu platia aj pre histocytologický obraz, t.j. pre grading MCL a FL, aj keď jeho určenie v malých vzorkách môže byť problematické (3). V skupine pacientov s FL pri prevahe nízkomaligných (G1, resp. G2)



foriem sa v čase prvej diagnózy vyskytol vysokomaligný FL (G3) zriedkavo - len v 11,1 % z nich. Väčšia heterogenita gradingu bola zrejme v skupine pacientov s MCL, v ktorej až u 25 % pacientov v čase prvej diagnózy bol identifikovaný nemalobunkový blastoidný typ MCL. V rebiopsiách dvoch pacientov s FL a ôsmich s MCL pretrval nález malobunkovej morfológie, len u jedného pacienta s MCL sa v lokoidentickej rektálnej rebiopsii pri recidíve ochorenia dokázala transformácia do blastoidného typu MCL. Tieto nálezy zvädzajú ku konštatovaniu, že oba sledované nádory v žalúdočnočrevnej oblasti, na rozdiel od skúseností s MZBL MALT typu a primárne nodálnym MCL (19), vykazujú nízku tendenciu k vysokomalignej (blastickéj) transformácii (1). Pri identifikácii jedného, podľa klinických údajov o priebehu ochorenia indolentného MCL, sa tu otvárajú ďalšie otázky o potrebe doplnenia klinických údajov aj ďalších pacientov s recidívou ochorenia v GI. Zložitosť celej problematiky dokresľuje údaj o 9 % pacientov s klinicky známym systémovým blastoidným typom (nami verifikovaným v predošlých biopsiách inej lokalizácie), u ktorých sme v rebiopsiách žalúdočnočrevnej oblasti verifikovali MCL konvenčného malobunkového typu podľa SZO klasifikácie (2). Fenomén malobunkového relapsu primárne blastického (vysokomaligného) ML sa označuje anglicky aj ako „downgrading“ nádoru v danej lokalite (20) a dokresľuje biologickú vnútronádorovú heterogenitu.

Biopická diagnostika sledovaných ML sa popri podrobnej histomorfologickej analýze opiera o imunohistochemické vyšetrenie fenotypu nádorových buniek. Tá vyžaduje štandardizáciu panelu používaných protilátok podľa klasifikácie SZO (2008) a preto ju nie je potrebné podrobnejšie rozoberať. Vhodné je snáď len pripomenúť potrebu zaradenia kombinovaného dôkazu CD3 a CD5 antigénov do základného diagnostického panelu, lebo pri izolovanom dôkaze CD3 antigénu v pozícii pan T-markera hrozí „prehľadnutie“ diagnózy CD5 aberantne pozitívnych B-ML, vráta-

ne MCL. Platí to nielen v prípade konvenčného malobunkového, ale rovnako aj blastoidného variantu MCL s rizikom nesprávnej typizácie nádoru do skupiny DLBCL. Blastoidná morfológia MCL je pritom jedným z dôležitých parametrov asociovaných so zásadne agresívnejším priebehom nádorového ochorenia (17,18). Vzhľadom k možnosti existencie CD5 negatívneho fenotypu niektorých MCL (2,21,22) tu možno diskutovať aj o potrebe zaradenia detekcie cyklínu D1 do základných diagnostických panelov. Aberantné alebo atypické fenotypy MCL, aké sa vyskytli aj v jednom z našich prípadov MCL, patria medzi zriedkavé a sú spojené s rizikom mylnej diagnostiky (22). Najmä v takýchto prípadoch je žiadúce podporiť diagnózu aj ďalšími analýzami, buď PCR alebo FISH na dôkaz prestavby príslušných génov, ako tomu bolo v už spomenutých približne 15% všetkých pacientov súboru s FL, resp. MCL.

Záverom možno zopakovať, že kombinácia racionálnej algoritmickej konštruovanej histologickej a imunohistochemickej analýzy s podporou špecializovanejších FISH alebo PCR analýz umožňuje klinicky a pre pacienta relevantnú typizáciu analyzovaných lymfómov žalúdočnočrevnej oblasti. Súčasne, a to aj s prihliadnutím na relatívnu zriedkavosť týchto nádorov je žiadúce, nielen napr. podľa britských a iných odporúčaní (8), túto diagnostiku podrobiť procesu druhého čítania skúseným hematopatológom.

## POĎAKOVANIE

Práca bola podporená Grantom Lymfómovej skupiny Slovenska a Projektom centra excelentnosti CEPV II (ITMS kód projektu 26220120036), ktorý je spolufinancovaný z prostriedkov EÚ.

## PREHLASENIE

Autor práce prehlasuje, že v súvislosti s témou, vznikom a publikáciou tohto článku nie v konflikte záujmov a vznik ani publikácia článku neboli podporené žiadnou farmaceutickou firmou. Toto prehlásenie sa týka i všetkých spoluautorov.

## LITERATÚRA

- Shia J, Teruya-Feldstein J, Pan D, et al. Primary follicular lymphoma of the gastrointestinal tract: a clinical and pathologic study of 26 cases. *Am J Surg Pathol* 2002; 26(2): 216-224.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues (4th ed). Lyon: IARC; 2008, 439 s.
- Burke JS. Lymphoproliferative disorders of the gastrointestinal tract. A review and pragmatic guide to diagnosis. *Arch Pathol Lab Med* 2011; 135(10): 1283-1297.
- Salar A, Juanpere N, Bellosillo B, et al. Gastrointestinal involvement in mantle cell lymphoma: a prospective clinic, endoscopic, and pathologic study. *Am J Surg Pathol* 2006; 30(10): 1274-1280.
- Jain VK, Bystricky B, Wotherspoon AC, Chau I, Cunningham D. Primary follicular lymphoma of the GI Tract: an increasingly recognized entity. *J Clin Oncol* 2012; 30(36): e370-e372.
- Bennani-Baiti N, Daw HA, Cotta C, et al. Low-grade follicular lymphoma of the small intestine: a challenge for management. *Semin Oncol* 2011; 6(38): 714-720.
- Damaj G, Verkarre V, Delmer A, et al. Primary follicular lymphoma of the gastrointestinal tract: a study of 25 cases and a literature review. *Ann Oncol* 2003; 14(4): 623-629.
- McNamara C, J Davies J, Dyer M, et al. Guidelines on the investigation and management of follicular lymphoma. *Br J Haematol* 2011; 156(4): 446-467.
- Misdraji J, Harris NL, Hasserjian RP, Lauwers GY, Ferry JA. Primary follicular lymphoma of the gastrointestinal tract. *Am J Surg Pathol* 2011; 35(9): 1255-1263.
- Rosenwald A, Wright G, Wiestner A, et al. The proliferation gene expression signature is a quantitative integrator of oncogenic events that predicts survival in mantle cell lymphoma. *Cancer Cell* 2003; 3(2): 185-197.
- Ruskoné-Fourmestroux A, Audouin J. Primary gastrointestinal tract mantle cell lymphoma as multiple lymphomatous polyposis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2010; 24(1): 35-42.
- Krauss E, Konturek P, Maiss J, et al. Clinical significance of lymphoid hyperplasia of the lower gastrointestinal tract. *Endoscopy* 2010; 42(4): 334-337.
- Albuquerque A. Nodular lymphoid hyperplasia in the gastrointestinal tract in adult patients: A review. *World J Gastroint Endoscopy* 2014; 6(11): 534-540.
- Kella VKN, Constantine R, Parikh NS, et al. Mantle cell lymphoma of the gastrointestinal tract presenting with multiple intussusceptions -- case report and review of literature. *World J Surg Oncol* 2009; 7: 60-66.
- Michopoulos S, Petraki K, Matsouka Ch, Kastiris E, Chrysanthopoulou H, Dimopoulos MA. Mantle-cell lymphoma (Multiple lymphomatous polyposis) of the entire GI tract. *J Clin Oncol* 2008; 26(9): 1555-1557.
- Kim JH, Jung HW, Kang KJ et al. Endoscopic findings in mantle cell lymphoma with gastrointestinal tract involvement. *Acta Haematol* 2012; 127(3): 129-134.
- Jares P, Colomer D, Campo E. Molecular pathogenesis of mantle cell lymphoma. *J Clin Invest* 2012; 122(10): 3416-3423.
- Campo E, Rule S. Mantle cell lymphoma: evolving management strategies. *Blood* 2015; 125(1): 48-55.
- Dreyling M, Geisler C, Hermine O, et al. Newly diagnosed and relapsed mantle cell lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2014; 25(Suppl 3): 83-92.
- Kerrigan DP, Foucar K, Dressler L. High-grade non-Hodgkin lymphoma relapsing as low-grade follicular lymphoma: so-called downgraded lymphoma. *Am J Hematol* 1989; 30(1): 36-41.
- Plank L. Význam detekcie cyklínu D1 (a CD5) v diagnostike maligných lymfómov iných než je lymfóm z pláštových buniek. *Cesk Patol* 2011; 47(3): 96-100.
- McKay P, Leach M, Jackson R, Cook G, Rule S; British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the investigation and management of mantle cell lymphoma. *Br J Haematol* 2012; 159(4): 405-426.