

PATOLOGIJA NE-HODGKINOVIH LIMFOMOV

Janez Jančar

Maligni limfomi so novotvorbe celic limfatične vrste (1). Novotvorb folikularnih dendritičnih in interdigitarnih dendritičnih celic ter makrofagov, ki tvorijo pomemben del imunskega sistema (pomožne imunske celice), ne uvrščamo med maligne limfome in zanje uporabljamo drugo terminologijo (2). Maligni limfomi lahko vznikajo na katerikoli stopnji diferenciacije limfocitov iz matične celice limfopoeze v centralnih limfatičnih organih (timusu in kostnem mozgu) v limfocite T ali B (3, 4, 5, 6). Pogosteje nastajajo v perifernih limfatičnih organih (bezgavkah, vranici, limfatičnem tkivu v koži, prebavilih, dihalih), kjer v normalnih razmerah antigeni zunanega in notranjega okolja sprožijo proces transformacije zrelih limfocitov B ali T v različne efektorne celice humoralne ali celične imunosti (7, 8, 9).

Dejavniki, ki sprožijo neoplastično preobrazbo limfocitov, in njena patogeneza, so še vedno nepojasneni. Pri nastanku nekaterih vrst malignih limfomov postaja vse bolj očitna vloga kromosomskih anomalij, onkogenov, nekaterih onkogenih virusov in imunskih okvar (10—15).

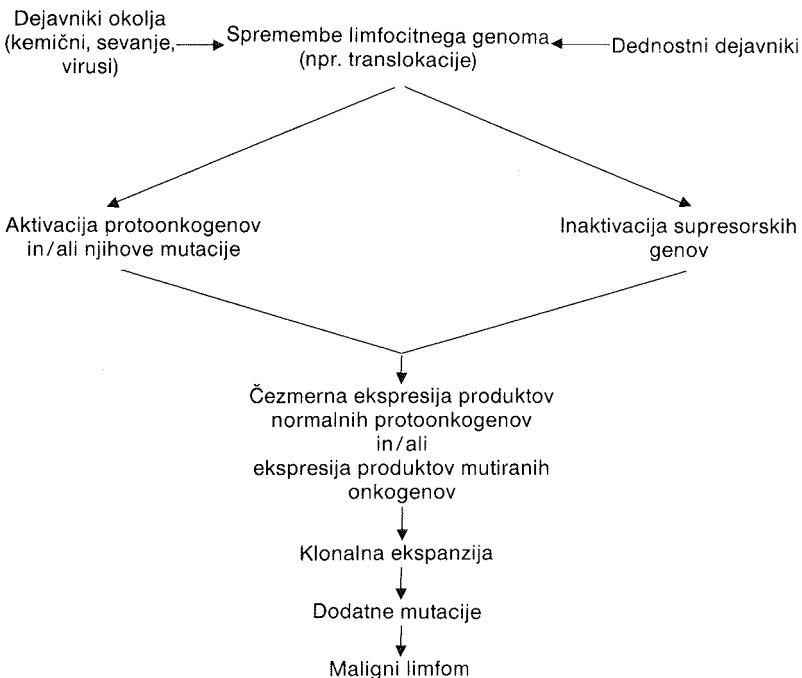
Med kromosomskimi anomalijami so najpogostnejše translokacije. Ni znano, kaj jih sproži, morda kemični dejavniki in ionizirajoča sevanja. Za razumevanje patogeneze malignih limfomov so pomembne predvsem translokacije protoonkogenov, ki so v normalnih razmerah prisotni v vseh celicah organizma in udeleženi pri uravnavanju njihove rasti in diferenciacije. S translokacijo se protoonkogen premakne na drugo mesto v genomu, ob segment kromosoma z geni, ki pri limfocitih B kodirajo sintezo lahkih in težkih verig imunoglobulinov, pri limfocitih T pa sintezo verig alfa in beta njihovega značilnega označevalca (receptorja T). Ker gre v obeh primerih za transkripcijsko (transkripcija: prepis zaporedja nukleinskih baz DNK na sporočilno (messenger) RNK v jedru celice) aktivna genomova segmenta, je lahko poudarjena tudi transkripcija translociranega normalnega protoonkogenega in čezmerna ekspresija njegovega proteinskega produkta (npr. gen *c-myc* pri Burkittovem limfomu). Med translokacijo protoonkogenega lahko pride do njegove mutacije in tako do sinteze drugačnih (nenormalnih) produktov. V obeh primerih (tj. čezmerne ekspresije normalnega genetskega produkta in/ali pojava abnormalnih produktov mutiranih protoonkogenov) pride do motenj regulacije celične rasti, ki postane avtonomna, kar pomeni, da se ne odziva več na normalne regulacijske mehanizme. Avtonomnost celice ob hkratni inaktivaciji antagonistov protoonkogenov (genov supresorjev) pa pomeni pomembno fazo v procesu njene neoplastične preobrazbe. Poleg onkogenega *c-myc* pri Burkittovem limfomu so v patogenezi malignih limfomov udeleženi še drugi onkogeni (BCL-2 pri limfomih celic kličnih centrov limfnih foliklov, BCL-1 in BCL-3 pri kronični limfatični levkemiji tipa B).

V patogenezi Burkittovega limfoma, ki se endemsko pojavlja v centralni Afriki, je udeležen Epstein-Barrov virus (EBV), pri akutni T-celični levkemiji/limfomu (ATL) odraslih, ki je endemska na Karibih in v južni Japonski, pa humani T-limfotropni virus (HTLV-1).

Epstein-Barrov virus kot mitogen limfocitov B sproži njihovo poliklonalno proliferacijo. Pri večini inficiranih se proliferacija spontano ustavi brez vidne bolezni ali kot infekcijska mononukleoza. Pri posameznikih z okvaro imunoregulacije se proliferacija limfocitov B nezadržno nadaljuje, kar zviša tveganje za pojav kromosomskih anomalij (npr. translokacije). Translokacija omogoča aktivacijo onkogenega c-myc. Potrebne so še dodatne mutacije (večstopenjska onkogeneza!), da bi končno prišlo do monoklonalne (neoplastične) proliferacije limfocitov B. Analogno dogajanje opazujemo pri infekciji limfocitov T (limfocitov pomagalec) z virusom HTLV-1, ki lahko sproži nastanek akutne T-celične levkemije/limfoma.

Maligni limfomi se pogosteje razvijajo pri bolnikih s prirojeno ali pridobljeno imunsko neodpornostjo (aids, Sjögrenov sindrom, prejemniki presajenih organov po imunosupresivnem zdravljenju) in med dolgotrajno intenzivno antigensko stimulacijo, ki je običajno posledica motene imunoregulacije (infekcija z Epstein-Barrovim virusom).

Shema 1. Poenostavljena ponazoritev patogeneze malignih limfomov



Maligni limfomi so monoklonske proliferacije limfocitov B ali T. Monoklonalnost, razen v redkih primerih (npr. benigno monoklonsko gamopatijo) enačimo z neoplazijo. Določamo jo imunohistološko in z molekularno-biološkimi metodami (16).

Imunohistološko monoklonalnost limfomov tipa B določa prisotnost samo enega izmed obeh tipov lahkih verig imunoglobulinov.

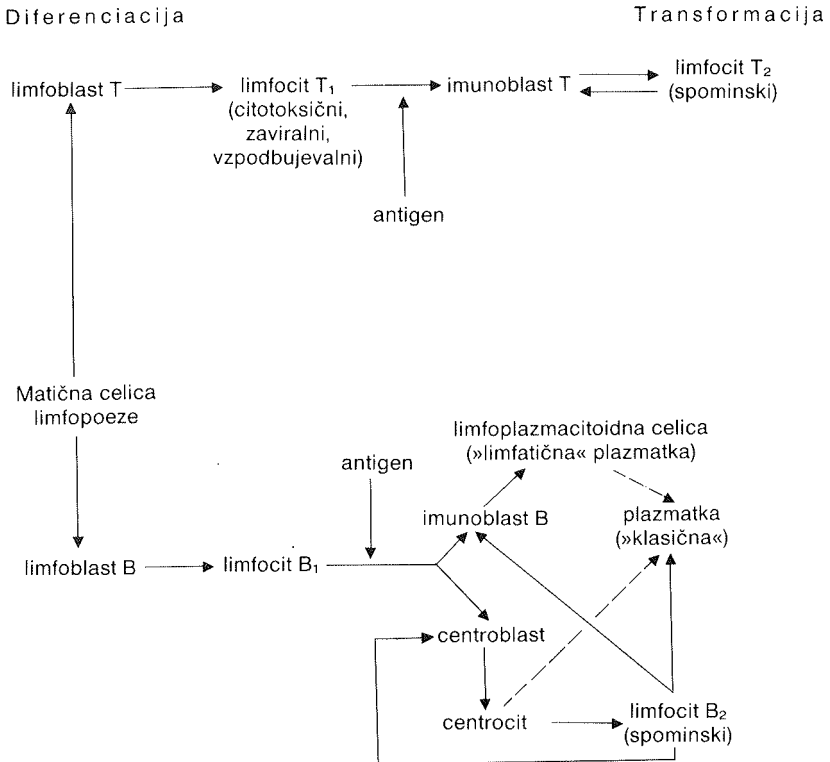
Pri limfomih tipa T monoklonalnost imunohistološko dokazujemo le posredno, predvsem z aberantnimi imunofenotipi (17), ki pomenijo izgubo enega ali več pan-T označevalcev, hkratio prisotnost med seboj sicer izključujočih se antigenov — npr. CD4 in CD8, ali pa pojav antigenov, ki so značilni za limfocite B. Neposredno jo dokazujemo le molekularno-biološko z ugotavljanjem specifične prerazporeditve genov na sedmem in štirinajstem kromosomu, ki kodirajo sintezo beta in alfa verig receptorjev T na membranih limfocitov T. S podobnimi metodami lahko opredelimo kot limfome tipa B tudi primere brez imunohistološko dokazanih membranskih ali citoplazemskih imunoglobulinov (Ig-negativni limfomi tipa B). V takšnih primerih ugotavljamo specifične prerazporeditve genov na štirinajstem, drugem in dvaindvajsetem kromosomu, ki kodirajo (sicer neučinkovito) sintezo težkih in lahkih verig imunoglobulinov. Ti geni so prisotni v genomu vseh somatskih celic in razpršeni po omenjenih kromosomih. V procesu diferenciacije limfocitov B in T v centralnih limfatičnih organih se ti geni razporedijo na ustreznem kromosomu drug poleg drugega, vmesne dele kromosoma pa odstranijo jedrni encimi endonukleaze. Šele v takšni razporeditvi genov je možna transkripcija na sporočilno RNK in sinteza tistih celičnih sestavin, ki so specifične zgoj za limfocite (npr. imunoglobulini, receptor T).

Med normalno diferenciacijo in transformacijo limfocitov B in T zasledujemo dinamiko pojavljanja in izginjanja membranskih in citoplazemskih antigenov, s katerimi ne ugotavljamo le njihovega izvora (B, T), ampak tudi stopnjo diferenciacije, aktivacije in njihove funkcionalne in regulacijske lastnosti (18). Danes določamo antigenski profil limfocitov s številnimi, predvsem visoko specifičnimi monoklonskimi protitelesi in občutljivimi immunoencimatskimi detekcijskimi metodami, na celičnih razmazih, histoloških rezinah (kriostatskih, parafinskih) in v pretočnem citomeru.

Znanih je že več tisoč monoklonskih protiteles proti levkocitnim antigenom. Zaradi preglednosti so jih na štirih mednarodnih konferencah (Pariz 1982, Boston 1984, Oxford 1986 in Dunaj 1989) razvrstili v skupine s podoben reaktivnostjo (clusters of differentiation — CD). Od zadnje konference na Dunaju leta 1989 razlikujemo 78 takšnih skupin (19).

Neoplastične (limfomske) celice lahko različno posnemajo mikroskopsko podobo in imunofenotip svojih normalnih različic, ki nastajajo med diferenciacijo in transformacijo. To velja predvsem za maligne limfome tipa B. Manj razvidno je analogno vzporejanje malignih limfomov tipa T, ker so očitno mehanizmi celične imunosti kompleksnejši. O tem pričata njihova pestra morfologija in številni aberantni fenotipi.

Shema 2. Poenostavljeno zaporedje sprememb med diferenciacijo in transformacijo limfocitov B in T (20, 21)



Opomba: prekinjena črta pomeni le hipotetično možnost razvoja.

Limfociti T₁ so prvi zreli (periferni) limfociti T po diferenciaciji v timusu. Njihovo funkcijo določajo površinski antigeni, med katerimi sta najbolj pomembna CD₄ in CD₈. Prisotnost enega izmed obeh antigenov izključuje drugega, zato razlikujemo limfocite pomagalce z antigenom CD₄ in limfocite zaviralce z antigenom CD₈, ki na antagonistični način sodelujejo v regulaciji limfopoeze celic B. Limfociti T₁ brez antigenov CD₄ in CD₈ delujejo citotoksično (limfociti ubijalci). Limfociti T₁ so praviloma udeleženi v primarnem, limfociti T₂ pa v sekundarnem (hitrejšem in izdatnejšem) imunskem odzivu na antigen, ki je sprožil transformacijo v sistemu celične imunosti. Proces je v perifernih limfatičnih organih omejen na predele, ki jih naseljujejo limfociti T.

Vmesni položaj med transformacijo limfocitov T_1 v limfocite T_2 zavzemajo imunoblasti T.

Primarni imunski odziv limfocitov B_1 se odvija zunaj limfnih foliklov perifernih limfatičnih organov/tkiv s transformacijo prek imunoblastov B v plazmatke ali limfoplazmacitoidne celice, ki so vmesna oblika med limfociti in klasičnimi plazmatkami. Izločajo imunoglobuline in se morda spreminjajo tudi v plazmatke. Zato jih imenujemo tudi limfatične plazmatke.

Sekundarni imunski odziv poteka v limfnih foliklih s tvorbo ključnih centrov, ki jih sprva tvorijo predvsem centroblasti. Z delitvami nastajajo iz centroblastov centroцити, ki se ne delijo več. Limfociti B_2 , ki nastajajo iz centroцитов, se lahko spremenijo v plazmatke (osrednje efektivne celice limfopoeze tipa B z izločanjem imunoglobulinov), lahko pa so (analogno z dogajanjem med limfopoezo celic T) kot spominske celice udeležene v sekundarnem imunskem odzivu.

Poseben tip limfocitov B so monocitoidne celice (22), ki nastajajo iz perifernega sloja limfocitnega plašča sekundarnih limfnih foliklov v bezgavki. Limfocitni plašč sestavljajo limfociti B_1 in B_2 , ki v obliki kolobarja obkrožajo ključni center. Od limfocitov B_1 in B_2 se ločijo morfološko in imunofenotipsko. V starejši terminologiji jih imenujejo celice nezrele sinusne histiocitoze, ki jih poznamo kot eno od značilnih sprememb pri limfadenitisu zaradi toksoplazmoze.

Morfološka in imunofenotipska raznolikost malignih limfomov se klinično razodevata v razlikah poteka bolezni, prognoze in odzivnosti na zdravljenje. Zato jih je potrebno za oceno prognoze bolezni in racionalno načrtovanje zdravljenja razvrstiti v bolezenske enote z značilno morfologijo in imunskim profilom. Razvrščanje malignih limfomov v sistem, ki bi bil klinično relevanten, je bilo in je eno izmed osrednjih nalog na področju patologije teh novotvorb. Številni sistemi oz. klasifikacije in njihove modifikacije odsevajo stopnjo razvoja patologije v določenem času. Uporaba zgolj morfoloških metod v bližnji preteklosti je botrovala nastanku številnih morfoloških klasifikacij malignih limfomov, od katerih je najbolj znana Rappaportova (23), ki je v svoji modificirani obliki ponekod še vedno v uporabi (predvsem v ZDA).

Z razvojem imunologije se je uveljavilo spoznanje, da so maligni limfomi novotvorbe limfocitov in da jih ne moremo več opredeljevati le z merili klasične morfologije. Na tej osnovi sta nastali Lukes-Collinsova (24) in Kielska klasifikacija malignih limfomov (25), ki se je uveljavila predvsem v Evropi in jo uporabljamo tudi na Onkološkem inštitutu v Ljubljani. Kielska klasifikacija, ki jo je razvil K. Lennert iz Kiela (ZR Nemčija), temelji na združitvi spoznanj sodobne imunologije in patologije ter uporabi morfoloških in imunoloških metod. Načela, ki tvorijo ogrodje Kielske klasifikacije, so povzeta v šestih točkah:

1. Pomembnejša od načina rasti (nodularna/difuzna rast) je opredelitev celic, ki tvorijo maligni limfom (npr. limfociti, limfoplazmacitoidne celice, centroцити, centroblasti, imunoblasti itd.).

2. Maligne limfome delimo na tiste z nizko stopnjo malignosti in tiste z visoko stopnjo malignosti. Maligne limfome nizke stopnje malignosti sestavljajo predvsem male celice (s končajem -citi, npr. limfociti, centrociti) in le posamezne velike celice (s končajem -blasti, npr. centroblasti, imunoblasti).

Maligne limfome visoke stopnje malignosti tvorijo predvsem srednje velike in velike celice (-blasti, npr. limfoblasti, centroblasti, imunoblasti).

3. Delimo jih na maligne limfome tipa B in tipa T. Imunofenotip je deloma razviden že iz same morfologije (npr. imunocitom, centrocitni maligni limfom, centroblastno-centrocitni maligni limfom, fungoidna mikoza, limfom cone T, limfom tipa angioimunoblastne limfadenopatije, centroblastni limfom, Burkittov limfom), deloma pa ga moramo določiti imunološko (npr. skupina limfocitnih, imunoblastnih in limfoblastnih malignih limfomov).
4. Skoraj vse tipe malignih limfomov lahko vsaj v poznih fazah bolezni spremlja levkemična krvna slika. Malignih limfomov z levkemijo in brez nje histološko ne moremo razlikovati. Zato Kielska klasifikacija vključuje limfoidne levkemije in »solidne« limfome.
5. Serumski paraproteini so prisotni pri tistih malignih limfomih, ki so grajeni iz limfoplazmacitoidnih celic in/ali plazmatk (imunocitom, plazmacitni limfom). Tudi nekatere klinične sindrome s paraproteinemijo (npr. Waldenströmovo makroglobulinemijo, bolezni težkih in lahkih verig) opredeljujemo po njihovi celični sestavi.
6. Maligne limfome visoke stopnje malignosti, ki nastanejo na novo, imenujemo primarni. Visoko maligni limfomi vseh tipov, razen limfoblastnega, se lahko razvijejo sekundarno (sinhrono, metahrono) iz malignih limfomov nizke stopnje malignosti (npr. razvoj visoko malignega centroblastnega limfoma iz nizko malignega centroblastno-centrocitnega limfoma). Gre za evolucijo istega neoplastičnega klona in ne za pojav drugega klona, kar bi lahko pomenilo nastanek druge novotvorbe (npr. razvoj visoko malignega ne-Hodgkinovega limfoma tipa B sočasno s Hodgkinovo boleznijo).

Med posameznimi tipi malignih limfomov so številne vmesne, prehodne oblike, ki jih nobena znana klasifikacija ne more uvrstiti v svoje kategorije in oceniti njihovega biološkega potenciala. Klasifikacija širokega spektra bolezenskih enot malignih limfomov je pogosto nasilno poenostavljanje, hkrati pa neizogibna osnova za ustrezne klinične postopke. Tudi Kielska klasifikacija je izpostavljena kritični presoji. Za patologe, ki nanje redko naletijo in ne razpolagajo s tehnično optimalnimi standardnimi preparati oziroma v svojih laboratorijih nimajo vpeljanih vsaj nekaterih osnovnih imunohistoloških metod, je cielska klasifikacija preveč zapletena in zato uporabna morda le v omejenem obsegu (npr. za razlikovanje med visoko in nizko malignimi limfomi). Zato je razumljivo, da je stopnja diagnostičnega soglasja med dvema ali več patologi, k na področju malignih limfomov tipa T (26). Vprašljiv je tudi klinični pomen posameznih, predvsem redkejših oblik, ki so v literaturi opisane le sporadično ali pri manjšem številu bolnikov. Morda bodo ta problem

Shema 3. *Modificirana Kielska klasifikacija malignih limfomov*

B	T
Nizkomaligni limfomi	
Limfocitni	Limfocitni
Kronična limfocitna levkemija	Kronična limfocitna levkemija
Prolimfocitna levkemija	Prolimfocitna levkemija
Dlakasto-celična levkemija	Cerebriformni (fungoidna mikoza, Sezaryjev sindrom)
Imunocitom	Limfoepitelioidni (Lennertov)
Plazmacitni	Tipa angioimunoblastne limfadenopatije
Centroblastno-centrocitni	Tipa cone T
Centrocitni (celic limfocitnega plašča)	Pleomorfni, malih celic
Monocitoidni	
Visokomaligni limfomi	
Centroblastni	Pleomorfni, srednje velikih in velikih celic
Imunoblastni	Imunoblastni
Burkittov	
Velikocelični anaplastični (CD 30 pozitivni)	Velikocelični anaplastični (CD 30 pozitivni)
Limfoblastni	Limfoblastni (konvolutni)
Redki tipi	Redki tipi

razrešile prospektivne kliničnopatološke študije, ki bodo zajele več bolnikov in daljše obdobje. Kielska klasifikacija je uporabna predvsem za opredelitev nodalnih malignih limfomov. Morfologija ekstranodalnih malignih limfomov pogosto odstopa od morfologije nodalnih, kar verjetno odseva razlike med obema komponentama imunskega sistema v organizmu. To velja zlasti za maligne limfome (27, 28), ki vznikajo iz limfocitov sluznic oz. epitelijev nekaterih organov (mucosa-associated lymphoid tissue ali MALT), ki predstavljajo precejšen del ekstranodalnih limfomov (prebavila, pljuča, ščitnica, žleze slinavke, dojka). Maligne limfome MALT-a (MALT-ome) lahko v Kielski klasifikaciji vzporejamo z nekaterimi oblikami monocitoidnega limfoma B. Vrednost Kielske klasifikacije je vprašljiva tudi takrat, ko skušamo v njene enote razvrstiti tiste maligne limfome, ki vznikajo pri bolnikih z okvarami imunskega sistema. To velja zlasti za maligne limfome pri bolnikih z aidsom (29) in profilaktično imunosuprimiranih prejemnikih alotransplantatov (30).

Literatura

1. Gerard-Marchant R, Hamlin I, Lennert K, Rilke F, Stansfeld AG, van Unnik JAM: Classification of non-Hodgkin's lymphomas. (Letter to the Editor) *Lancet* ii: 406—408, 1974.
2. Lennert K. s sodelovanjem Mohri N, Stein H, Kaiserling E, Muller-Hermelink HK: Malignant lymphomas other than Hodgkin's disease (Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie, Vol 1, part 3 B) Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1978.
3. Nakamura N, Tominaga K, Abe M, Wakasa H: A case of lymphoblastic lymphoma with pre-B cell phenotype. *Acta Haematol* 86: 53—54, 1991.
4. Picozzi VJ, Coleman CN: Lymphoblastic lymphoma. *Sem Oncol* 17: 96—103, 1990.
5. Cabrera MA: Immunologic classification of acute lymphoblastic leukemia. *Am J Ped Hematol/Oncol* 12: 283—291, 1990.
6. Quintanilla-Martinez L, Zuberberg LR, Harris N: Prethymic adult lymphoblastic lymphoma. *Am J Surg Pathol* 16: 1075—1084, 1992.
7. Weisenburger DD, Harrington DS, Armitage JO: B-cell neoplasia. A conceptual understanding based on the normal humoral response. *Pathol Ann* 25: 99—115, 1990.
8. Chott A, Augustin I, Wrba F, Hanak H, Ohlinger W, Radaszkiewicz T: Peripheral T-cell lymphomas: a clinico-pathological study of 75 cases. *Hum Pathol* 21: 1117—1125, 1990.
9. Haioun C, Gaulard P, Bourquelot P, Roudot-Thoraval F, Divine M, Lavaud A, Bagod M, Vasile N, Farcet JP, Reyes F: Clinical and biological analysis of peripheral T-cell lymphomas: a single institution study. *Leuk Lymph* 7: 449—455, 1992.
10. Cotran RS, Kumar V, Robbins S: Robbins pathologic basis of disease, 4th edition. WB Saunders, Philadelphia-London-Toronto-Montreal-Sydney-Tokyo, 1989.
11. Potter M: Pathogenetic mechanisms in B-cell non-Hodgkin's lymphomas in humans. *Cancer Res (Suppl)* 52: 5522—5528, 1992.
12. Cotter FE, Zucca E: Altered gene expression and oncogenesis of B-cell neoplasia. *Ann Oncol* 2: 335—342, 1991.
13. Pearson GR: Recent advances in research on the Epstein-Barr virus and associated diseases. V: Fairbanks VF (ed): *Current Hematology and Oncology*, Vol 4, Chicago, Year Book Medical Publishers (1986).
14. Louie S in sod: Immunodeficiency and the pathogenesis of non-Hodgkin's lymphoma. *Sem Oncol* 7: 267, 1980.
15. Erlich GD, Poesz BJ: Clinical and molecular parameters of HTLV-1 infection. *Clin Lab Med* 8: 65, 1988.
16. Weiss LM, Spagnolo DV: Assessment of clonality in lymphoid proliferations. *Am J Pathol* 142: 1679—1682, 1993.
17. Pallesen G: Immunophenotypic markers for characterizing malignant lymphoma, malignant histiocytosis and tumors derived from accessory cells. *Cancer Rev* 8: 1—65, 1988.
18. Boyd AW: Human leukocyte antigens: on structure, function and nomenclature. *Pathology* 19: 329—337, 1987.
19. Erber WN: Human leukocyte differentiation antigens: review of the CD nomenclature. *Pathology* 22: 61—69, 1990.

20. Veldman JE, Keuning FJ, Molenaar I: Site of initiation of the plasma cell reaction in the rabbit lymph node. Ultrastructural evidence for two distinct antibody forming cell precursors. *Virchows Arch (B)* 28: 187—202, 1978a.
21. Veldman JE, Molenaar I, Keuning FJ: Electron microscopy of cellular immunity reactions in B-cell deprived rabbits. Thymus derived antigen reactive cells, their micro-environment and progeny in the lymph node. *Virchows Arch (B)* 28: 217—228, 1978b.
22. Stein H, Lennert K, Mason DY, Liangru S, Ziegler A: Immature sinus histiocytes. Their identification as a novel B-cell population. *Am J Pathol* 117: 44—52, 1984.
23. Rappaport H.: Tumors of the hematopoietic system. Atlas of tumor pathology, sect 3, fasc 8, Armed forces institute of pathology, Washington, 1966.
24. Lukes RJ, Collins RD.: A functional approach to the classification of malignant lymphoma. *Recent Results Cancer Res* 46: 18—30, 1974.
25. Lennert K, Feller AC: Histopathology of non-Hodgkin's lymphomas, 2nd edition. Springer, Berlin—Heidelberg—New York—London—Paris—Tokyo—Hong Kong—Barcelona—Budapest, 1992.
26. Hastrup N, Hamilton-Dutoit S, Ralfkiaer E, Pallesen G: Peripheral T-cell lymphomas: an evaluation of reproducibility of the updated Kiel classification histopathology 18: 99—105, 1991.
27. Isaacson P, Wright DH: Extranodal malignant lymphomas arising from mucosa-associated lymphoid tissue. *Cancer* 53: 2515—2524, 1984.
28. Isaacson P, Spencer J: Malignant lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. *Histopathology* 11: 445—462, 1987.
29. Hamilton-Dutoit S, Pallesen G, Franzmann MB, Karkov J, Black F, Skinhoj P, Pedersen C: AIDS-related lymphoma. Histopathology, immunophenotype and association with Epstein-Barr virus as demonstrated by in situ nucleic acid hybridization. *Am J Pathol* 138: 149—163, 1991.
30. Frizzera G, Hanto DV, Gajl-Peczalska KJ, Rosai J, McKenna RW, Sibley RK, Holahan KP, Lindquist LL: Polymorphic diffuse B-cell hyperplasias and lymphomas in renal transplant recipients. *Cancer Res* 41: 4262—4279, 1981.