

Difuzni B krupnoćelijski limfom: varijante, podgrupe i podtipovi

Maja Peruničić Jovanović

Služba za patohistologiju, Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija

Apstrakt

Difuzni B krupnoćelijski limfom (DBKL) je najčešći limfoidni tumor i predstavlja klinički, patološki i biološki veoma heterogenu grupu tumora. Novije studije su podelile difuzne B krupnoćelijske limfome u različite morfološke varijante, molekularne i imunofenotipske podgrupe i entitete. Imunofenotipska podela DBKL, na tip porekla germinativnog centra (GCB) i negerminativnih (non-GCB), koristeći kombinaciju antite- la CD10, BCL6 i MUM1, ne korelira u potpunosti sa profilom genske ekspresije, GCB tipa i aktiviranih B ćelija (ABC). Neke studije su pokazale da kombinacija ekspresije CD10, BCL6 i MUM1 može podeliti pacijente sa DBKL u one sa dužim i kraćim preživljavanjem. Klasifikacija Svetske Zdravstvene Organizacije (SZO) iz 2008. godine prepoznaje grupu agresivnih B ćelijskih limfoma koja se ne može klasifikovati ni kao Burkitt-ov limfom ni DBKL, i kategoriju B ćelijskih neoplazmi sa karakteristikama između DBKL i klasičnog Hodgkin-ovog limfoma. Takođe, nova klasifikacija prepoznaje starosno doba pacijenta, mesto nastanka tumora i kliničke faktore u definisanju varijanti DBKL. Klasifikacija SZO iz 2008. je rezultat uspešne međunarodne saradnje između patologa, biologa i kliničara, ali heterogena grupa DBKL će i dalje biti predmet istraživanja.

Ključne reči: difuzan veliki B ćelijski limfom, WHO klasifikacija, genski profil

Uvod

Difuzni B krupnoćelijski limfom (DBKL) je najčešći limfoidni tumor i čini oko 30-40% svih non-Hodgkin limfoma kod odraslih, sa petogodišnjim preživljavanjem oko 50%¹. Predstavlja grupu tumora koja je heterogena po svom kliničkom ishodu, morfološkosti, imunofenotipu, molekularnoj genetici i citogenetici^{1,2}. Morfološka, biološka i klinička heterogenost je prepoznata od strane Svetske Zdravstvene Organizacije (SZO), tako da u Klasifikaciji tumora hematopoetskog i limfoidnog tkiva SZO iz 2008. postoje različite morfološke varijante DBKL, molekularne i imunohistohemijske podgrupe DBKL, kao i različiti klinički entiteti. DBKL koji nisu drugačije specifikovani (not otherwise specified, NOS) obuhvataju one tipove DBKL koji ne pripadaju specifičnim podtipovima ili entitetima¹.

Diffuse large B cell lymphoma: variants, subgroups and subtypes/entities

Maja Perunicic Jovanovic

Department of Pathology, Clinical Center of Serbia, Belgrade, Serbia

Abstract

Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is the most common type of lymphoma worldwide, and represents a clinically, pathologically and biologically very heterogeneous group of tumours. Recent studies have subdivided diffuse large B cell lymphomas into morphological variants, molecular and immunophenotypical subgroups and distinct entities. An immunophenotypical subdivision of DLBCL, into germinal centre-like (GCB) and non-germinal centre-like (non-GCB) subgroups, using a combination of antibodies to CD10, BCL6 and MUM1, does not correlate exactly with gene expression profile of GCB and activated peripheral B-cells (ABC). Some studies reported that combination of CD10, BCL6 and MUM1 expression could subdivide DLBCL patients into long- and short-time survivors. The WHO classification of 2008. recognizes a group of aggressive B-cell lymphomas that are not readily classified as either Burkitt lymphoma (BL) or DLBCL, and provisional category of B-cell neoplasms with features intermediate between DLBCL and classical Hodgkin lymphoma. Furthermore, the new classification recognizes the patient age, site-specific categories, and clinical factors in defining variants of DLBCL. The WHO classification of 2008. is the result of successful international collaboration among pathologists, biologists and clinicians, but heterogeneous group of DLBCL will be the subject of further investigation.

Key words: diffuse large B cell lymphoma, WHO classification, gene expression profil

Promene u klasifikaciji limfoma, koje su rezultat novih saznanja nastalih na osnovu kliničkih i laboratorijskih istraživanja, su pokušaj da se bolje definiše heterogenost ovih bolesti. Klasifikacija limfoma iz 2008. godine, predviđa prepoznavanje ranih i in situ lezija, prepoznavanje starosne dobi kao karakteristike određenih limfomskih entiteta, kako kod starijih osoba tako i kod dece, kao i prepoznavanje „border-line“ kategorija². Takođe, u Četvrto izdanje klasifikacije Tumora Hematopoetskog i Limfoidnog tkiva, uključeni su i neki provizionalni entiteti ^{1,2} (Tabela 1.).

Tip	Morfološke varijante
<i>Difuzni B krupnoćelijski limfom, (DBKL) NOS</i>	Centroblastni
	Imunoblastni
	Anaplastični
	Retke morfološke varijante
	Molekularne podgrupe
	GCB tip
	ABC tip
	Imunohistohemijske podgrupe
	CD5 + DBKL
	GCB
<i>Difuzni B krupnoćelijski limfom, podtipovi</i>	Non-GCB
	DBKL T-cell/histiocyte-rich tip
	Primarni DBKL centralnog nervnog sistema
	Primarni kutani DBKL, leg type
<i>Ostali limfomi krupnih B ćelija</i>	EBV pozitivni DBKL starijih
	Primarni medijastinalni B krupnoćelijski limfom
	Intravaskularni B krupnoćelijski limfom
	DBKL udružen sa hroničnom inflamacijom
	Limfomatoidna granulomatoza
	Intravaskularni B krupnoćelijski limfom
	ALK+ B krupnoćelijski limfom
	Plazmablastni limfom
	Krupnoćelijski limfom udružen sa HHV8+ Castleman-ovom bolešću
	Primarni efuzioni limfom
“Borderline” limfomi	
B-ćelijski limfom, neklasifikovan, sa karakteristikama između DBKL i Burkitt-ovog limfoma	
B-ćelijski limfom, neklasifikovan, sa karakteristikama između DBKL i Hodgkin-ovog limfoma	

Tabela 1. Klasifikacija tumora hematopoetskog i limfoidnog tkiva

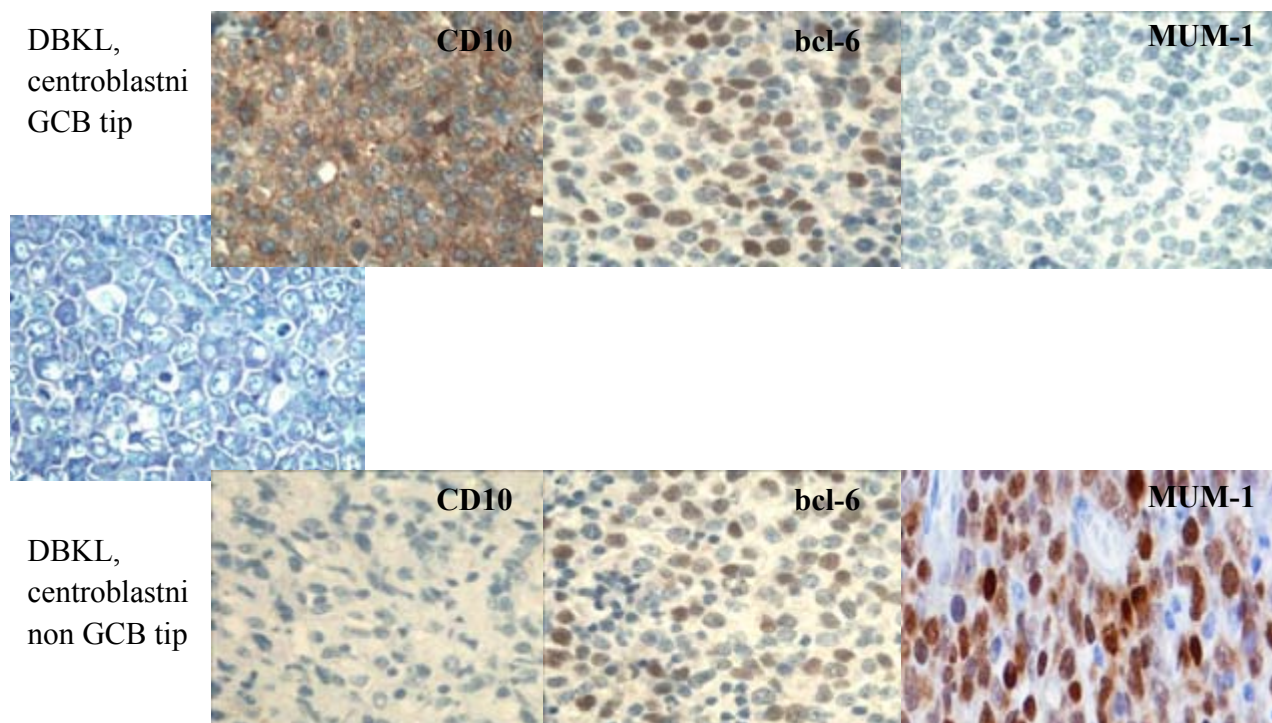
Difuzni B krupnoćelijski limfom, NOS (Diffuse large B cell lymphoma, not otherwise specified; DLBCL, NOS)

Difuzni B krupnoćelijski limfom je neoplazma difuznog tipa rasta, sastavljena od krupnih limfoidnih ćelija koje ekspresiraju B ćelijske antigene (CD20, CD79 α , ili Pax-5)¹. Obično nastaju de novo, kao primarni, ali mogu nastati i transformacijom manje agresivnih limfoma kao što su hronična limfocitna leukemija, folikularni limfom, limfom marginalne zone ili limfoplazmocitni limfom. Najčešće se javlja u sedmoj deceniji života, ali se može videti i kod dece. Nešto je češći kod muškaraca u odnosu na žene. Bolest se prezentuje kao brzorastuća nodalna ili ekstrapnodalna tumorska masa, kod imunokompetentnih, ali i kod pacijenata sa različitim oblicima imunosupresije ^{1,2}.

Imunohistohemijaska analiza je postala integralni deo dijagnostičke hematopatologije i neophodna je u dijagnostici limfoma^{3,4}. Ograničen panel antitela (CD20, CD79a, CD10, BCL-6, MUM-1/IRF-4 i CD138) može mnogo pomoći u svrstavanju različitih tipova limfoma u skladu sa morfološkim izgledom i stepenom diferencijacije⁴. Određeni markeri korespondiraju sa setom ključnih proteina uključenih u ćelijski ciklus, apoptozu i B ćelijsku diferencijaciju^{4,5}.

U poslednjih 10 godina, na osnovu istraživanja u oblasti molekularne genetike i imunohistohemije, napravljen je veliki napredak u subklasifikaciji DBKL u klinički relevantne grupe: porekla germinativnog centra (GCB) i non-GCB tip ili aktiviranih B ćelija (ABC). Stadijum diferencijacije B limfocita na kome se dešava neoplastična transformacija može definisati biološko ponašanje i ishod bolesti kod pacijenata sa DBKL. Mnoge studije su pokazale da podela DBKL na grupu tumora koji imaju profil B ćelija porekla germinativnog centra (GCB) i na grupu tumora koji imaju profil aktiviranih B ćelija (ABC odnosno "non GCB") ima klinički značaj, odnosno da pacijenti iz GCB grupe imaju značajno bolje preživljavanje. Odkako su prepoznati biološki podtipovi DBKL na bazi „gene expression profiling”, istraživanje kliničkog značaja ovakve podele je postalo predmet mnogih studija^{6,7,8}. Međutim, ovakve analize nisu lako primenljive u svakodnevnoj praksi, jer zavise od dostupnosti zamrznutih uzoraka, kao i sofisticiranih laboratorijskih metoda.

Hans i saradnici su predložili algoritam koji je baziran na imunohistohemijskoj ekspresiji sledećih markera: CD10, bcl-6 i MUM-1/IRF4, a pomoću koga se mogu razlikovati različite grupe DBKL⁸. Kombinovanom analizom ekspresije ovih antitela u skladu sa predloženim algoritmom može biti surogat za "gene expression" potpis prognostički različitih tipova⁸. Difuzni B krupnoćelijski limfomi porekla germinativnog centra (GCB) su imunohistohemijski CD10+ (>30% ćelija) ili CD10-, BCL-6+ i IRF4/MUM-1-¹. Svi ostali slučajevi se svrstavaju u non-GCB tip (Slika 1.).



Slika 1. Imunohistohemijski profil DBKL

DBKL koji imaju profil B ćelija porekla germinativnog centra (GCB) imaju bolju prognozu od onih koji su non-GCB tip (imaju profil aktiviranih B ćelija (ABC))⁸, iako neke studije ne potvrđuju ovu hipotezu⁹.

Novi entiteti

U definisanju nekoliko novih entiteta, starosno doba i mesto nastanka tumora igraju veliku ulogu. Promene u klasifikaciji B ćelijskih limfoma su nastale kao rezultat prepoznavanja važnosti mesta nastanka tumora kao i određenih kliničkih karakteristika¹⁰.

EBV+ DBKL starijih osoba je klinički agresivan tumor, koji najverovatnije nastaje zbog oslabljenog imunološkog statusa. Češće se javlja na ektranodalnim lokalizacijama. Tumorske ćelije su polimorfne, mogu podsećati na Hodgkin-ove i Reed-Stenberg-ove, uz čestu nekrozu i inflamatorni infiltrat. DBKL udružen sa hroničnom inflamacijom je drugi EBV+ tumor sa određenim kliničkim karakteristikama, koji nastaje u specifičnim situacijama, najčešće na terenu prolongirane hronične inflamacije.

Druge specifične kategorije DBKL vezane za mesto nastanka su DBKL centralnog nervnog sistema i primarni kutani DBKL, „leg type“. Primarni kutani DBKL, „leg type“ pokazuje profil aktiviranih B ćelija (ABC) u većini slučajeva. Takođe, primarni CNS DBKL pokazuje specifičan genski potpis, na osnovu kojeg se izdvaja kao poseban entitet.

“Borderline” limfomi

Savremene studije su skrenule pažnju na biološko, morfološko i imunohistohemijsko preklapanje između klasičnog Hodgkin-ovog limfoma i nekih B krupnoćelijskih limfoma, posebno primarnog medijastinalnog B krupnoćelijskog limfoma (PMBL) i medijastinalnog klasičnog Hodgkinovog limfoma, (cHL) tip nodularne skleroze. „gene expression profiling“, analize su potvrdile biološku povezanost ovih tumora. Obe neoplazme nastaju u medijastinumu, kod mlađih osoba^{1,2,10}.

Klasifikacija SZO iz 2008. prepoznaje kategoriju tumora nazvanu B ćelijska neoplazma, sa karakteristikama između DBKL i Hodgkin-ovog limfoma. Ovi tumori nastaju najčešće kod mlađih muškaraca i ponašaju se agresivnije od PMBL i cHL.

Takođe, prepoznata je grupa limfoma koju nije moguće klasifikovati ni kao Burkitt ni kao DBKL. Ova kategorija je nazvana B-ćelijski limfom, sa karakteristikama između DBKL i Burkitt-ovog limfoma^{1,2,10}. Ovi limfomi se javljaju kod odraslih osoba i pokazuju imunofenotip germinativnog centra i podsećaju na Burkitt-ov limfom ali nemaju citomorfološke karakteristike Burkitt-ovog limfoma. Ovaj entitet takođe uključuje slučajeve sa translokacijom i myc i bcl-2 („double hit“). Finalnu dijagnozu je moguće postaviti kao skup morfoloških, imunofenotipskih i molekularnih karakteristika^{1,2,10}.

Terapija

Standardni terapijski pristup za pacijente sa DBKL je CHOP (cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine, prednisone) ili u kombinaciji sa rituximab-om (R-CHOP)^{1,6,9,10,11}. Pri donošenju odluke koji terapijski protokol primeniti, rukovodimo se mnogobrojnim parametrima u cilju tzv. individualizacije terapije. Svakako da najveći značaj imaju prognostički indeksi, odnosno, Internacionalni Prognostički Indeks (IPI) za agresivne limfome, a na osnovu kojih se bolesnici dele u one sa niskim, srednjim ili visokim rizikom za nastanak progresije bolesti¹¹. Internacionalni Prognostički Indeks (IPI), se bazira na pet nezavisnih prognostičkih faktora, uključujući starosnu dob, Ann Arbor tumorski stadijum, nivo serumske laktat dehidrogenaze (LDH), performans status i broj ektranodalnih lokalizacija.

Zaključak

U svim kliničkim modelima, uključujući IPI indeks, postoji značajna heterogenost u ishodu, koja se ogleda u različitom preživljavanju pacijenata sa identičnim prognostičkim skorom^{2,7,11}. Iako značajan procenat pacijenata sa DBKL može biti uspešno lečen kombinacijom različitih terapijskih procedura, ne postoji dostupan ni biološki ni klinički skor koji bi razlikovao pacijente koji mogu biti lečeni standardnom terapijom i one pacijente koji zahtevaju novi terapijski pristup^{7,11}.

Mnoge studije su pokazale da podela DBKL na grupu tumora koji imaju profil B ćelija porekla germinativnog centra (GCB) i na grupu tumora koji imaju profil aktiviranih B ćelija (ABC odnosno "non GCB") ima klinički značaj, odnosno da pacijenti iz GCB grupe imaju značajno bolje preživljavanje. Umesto skupe i teško dostupne tehnologije "cDNA microarray gene expression profiling" može se koristiti imunohistohemijska analiza, pomoću koje je moguće klasifikovati DBKL u molekularno i prognostički različite grupe. Ovakav pristup omogućava široku praktičnu primenu u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Od izuzetnog značaja je identifikovati, u vreme postavljanja dijagnoze, one pacijente koji mogu imati koristi od agresivnijeg terapijskog pristupa.

Promene u klasifikaciji limfoma iz 2008. su nastale kao rezultat saradnje između patologa, kliničara, biologa u pokušaju da se poboljša preciznost dijagnostikovanja i terapijski pristup^{1,2,10}. Dati su odgovori na moga pitanja ali istovremeno otvorena nova koja će biti predmet istraživanja u budućnosti, posebno u heterogenoj grupi DBKL, NOS.

Literatura:

1. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H., Thiele J., Vardiman J.W. (Eds): WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC: Lyon 2008
2. Jaffe E.S.: The 2008 WHO classification of lymphomas: implication for clinical practice and translational research. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009;523-31.
3. Pileri S A, Dirnhofer S, Went Ph, Ascani S, Sabattini E, Marafioti T, Tzankov A, Leoncini L, Falini B & Zinzani P L. Diffuse large B-cell lymphoma: one or more entities? Present controversies and possible tools for its subclassification. *Histopathology* 2002;41: 482-509
4. Garcia F. C, MD; Swerdlow H.S, MD. Best practices in Contemporary Diagnostic immunohistochemistry. Panel Approach to Hematolymphoid Proliferations. *Arch Pathol Lab Med* 2009; 133:756-765.
5. Russell A. Higgins, MD; Jennofer E. Blankenship, MD; Marsha C. Kinney, MD: Application of Immunohistochemistry in the Diagnosis of Non-Hodgkin and Hodgkin Lymphoma. *Arch Pathol Lab Med* 2008;132:441-461.
6. Lossos IS, Morgensztern D. Prognostic biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2006;24:995-1007.
7. De Yong D, Rosenwald A, Chhanabhai M, Gaulard P, Klapper W, Lee A, et al. Immunohistochemical prognostic markers in diffuse large B-cell lymphoma: validation of tissue microarray as prerequisite for broad clinical applications- A study from Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *J Clin Oncol*. 2007; 25:805-812.
8. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood*. 2004;103:275-282.
9. Gustaaf W. van Imhoff et al. Prognostic Impact of Germinal Center-Associated Proteins and Chromosomal Breakpoints in poor-Risk Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Journal of Clinical Oncology*, 2006;25:4135-4142.
10. Jaffe S. E. and Pittaluga S.: Aggressive B-Cell Lymphomas: A Review of New and Old Entities in the WHO Classification. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2011;2011:506-14.
11. Biasoli I, Morais JC, Scheliga A, Milito CB, Romano S, Land M et al. CD10 and Bcl-2 expression combined with the International Prognostic index can identify subgroups of patients with diffuse large-cell lymphoma with very good or very poor prognoses. *Histopathology*. 2005; 46(3):328-33.