

# Chłoniaki T-komórkowe u psów

Rafał Sapierzyński<sup>1</sup>, Urszula Jankowska<sup>2</sup>, Dariusz Jagielski<sup>2</sup>

z Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie<sup>1</sup> oraz Przychodni Weterynaryjnej „Białobrzaska” w Warszawie<sup>2</sup>

Chłoniaki T-komórkowe (chłoniaki z komórek T, T cell lymphoma – TCL) są dużą, niejednorodną grupą złośliwych rozrostów wywodzących się z limfocytów T, charakteryzujących się różnorodną epidemiologią, patogenezą, różnym obrazem klinicznym i zachowaniem biologicznym (wpływem na organizm gospodarza), wymagających różnego podejścia terapeutycznego oraz dających różnorodne rokowanie (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10). Badania przeprowadzone na dużej populacji psów z chłoniakiem (608 przypadków) we Francji wykazały, że chłoniaki wywodzące się z komórek T stanowią 35,4% wszystkich chłoniaków u tego gatunku zwierząt, według innych badań ten podtyp chłoniaków rozpoznaje się w od 26 do 39% przypadków wszystkich rozrostów nowotworowych wywodzących się z limfocytów (1, 6, 7, 9, 11). Badania krajowe wskazują na niższe rozpowszechnienie chłoniaków T-komórkowych u psów, które oszacowano na 22–24% (2, 12, 13). Jeszcze inne badania wskazują, że chłoniaki z komórek T stanowią od 15 do 62% chłoniaków o powolnym przebiegu klinicznym (indolent lymphomas; 3, 14).

Analiza cytologiczna chłoniaków T-komórkowych wykazała przewagę chłoniaków o wysokiej złośliwości (71,7%) nad chłoniakami o niskiej złośliwości (28,3%; 1). Wśród tych pierwszych dominują chłoniaki wielopostaciowe mieszane z komórek małych i dużych oraz chłoniaki limfoblastyczne. Z kolei wśród chłoniaków T-komórkowych o niskiej złośliwości dominują chłoniaki z komórek jasnych i ziarniniaki grzybiaste (1). Duża analiza epidemiologiczna (ocenę przeprowadzono na prawie 1000 chłoniakach) dokonana w Stanach Zjednoczonych wykazała, że spośród wszystkich chłoniaków T-komórkowych u psów około 38% stanowią chłoniaki o powolnym przebiegu, około 6% to chłoniaki o niskiej złośliwości, a pozostałe to chłoniaki o wysokiej złośliwości (10).

Chłoniaki T-komórkowe występują u psów różnych ras, z wyraźną predylekcją u bokserów (w jednym z badań aż 85% wszystkich chłoniaków rozpoznanych u 50 bokserów było chłoniakami T-komórkowymi), prawdopodobnie seterów i według własnych obserwacji także u dogów de bordeaux (1, 6, 7, 8, 15, 16).

## Klasyfikacja chłoniaków T-komórkowych u psów

Podstawowym kryterium rozpoznania chłoniaka z komórek T jest wykazanie na powierzchni komórek rozrostu cząstek różnicowania typowych dla tej subpopulacji limfocytów. Określenie fenotypu limfocytów wymaga przeprowadzenia barwień immunohistochemicznych/immunocytochemicznych z zastosowaniem co najmniej dwu przeciwciał: anty-CD3 (marker limfocytów T) oraz anty-CD79alfa (marker komórek B). W barwieniu tym pozytywna reakcja anty-CD3 i negatywna reakcja anty-CD79alfa upoważnia do rozpoznania chłoniaka wywodzącego się z linii komórkowej T (**ryc. 1**). Badania własne wykazały, że w wielu podtypach chłoniaków ocena mikroskopowa preparatów cytologicznych barwionych metodami rutynowymi (odczynnik Giemsa) pozwala z dużą dozą prawdopodobieństwa oszacować immunofenotyp rozrostu; trafność rozpoznania określono na 90% (17). Pomocne w określaniu podtypu chłoniaków jest też stwierdzenie typowego dla niektórych typów chłoniaków z komórek T rozrostu żyłek pozawłośniczkowych, cechy dobrze widocznej w preparatach histologicznych (**ryc. 2**), ale obserwowanej także w preparatach cytologicznych. Ocena nasilenia proliferacji komórek nowotworowych pozwala zakwalifikować dany rozrost do niskiego lub wysokiego stopnia złośliwości. Oceny takiej można dokonać w oparciu

## T cell lymphomas in dogs

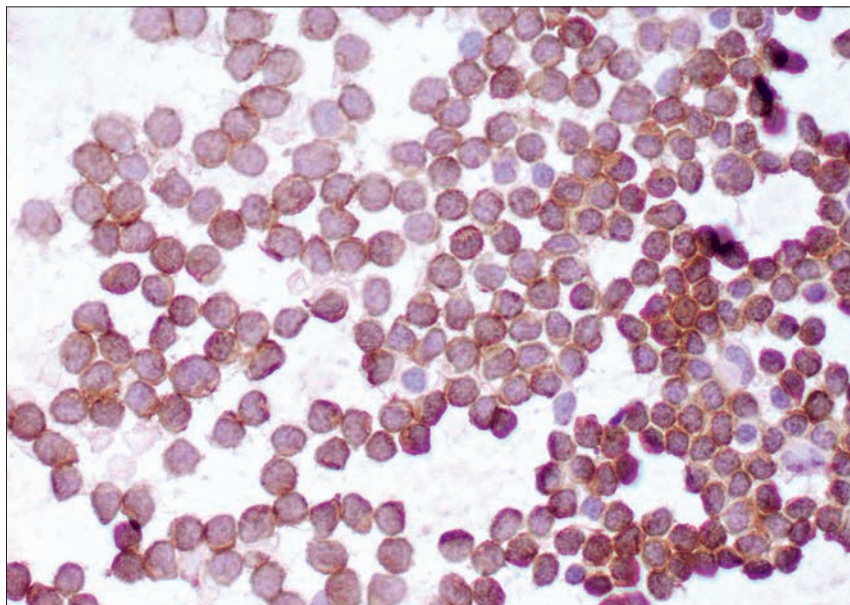
Sapierzyński R.<sup>1</sup>, Jankowska U.<sup>2</sup>, Jagielski D.<sup>2</sup> Department of Pathology and Veterinary Diagnostics Warsaw University of Life Sciences-SGGW<sup>1</sup>, Veterinary Surgery Białobrzaska in Warsaw<sup>2</sup>

In this article we aim at the presentation of important issues associated with the hemopoietic canine neoplasms. Lymphomas are the most common malignant tumours occurring in dogs. They comprise from 7 to 24% of all malignant neoplasms diagnosed in these companion animals. According to estimates, from 13 to 33 per 100 000 dogs may be affected each year. Breeds, that are commonly affected, include Boxers, Scottish terriers, Airedale terriers, Basset hounds, German shepherds, Bulldogs and Bernese mountain dogs. According to the published data, some breeds are more prone to development of tumors of a certain immunophenotype, i.e. Boxers to T-cell lymphoma and German shepherds and Rottweilers to B-cell lymphoma. Various systems of lymphomas classification were used in the past, including anatomical classification, classification basing on histological grade, and classification basing on predominant cell immunophenotype and degree of differentiation (B cell lymphomas, T cell lymphomas, and non-B/non-T cell lymphomas), and cellular morphology (Kiel classification, WHO classification and others). Combination of updated Kiel classification with WHO classification allows to establish, provisional at this moment, histoclinical disease entities originated from neoplastic proliferation of T lymphocytes. In this approach, canine T cell lymphoma is not just a single, neoplastic disease but a heterogeneous group of entities with various pathogenesis, various presentation, various methods of treatment and various prognosis. Nowadays, it is clear that above mentioned systems of classification in veterinary oncology are not sufficient and it is a great need to develop a novel diagnostic approach for canine lymphomas.

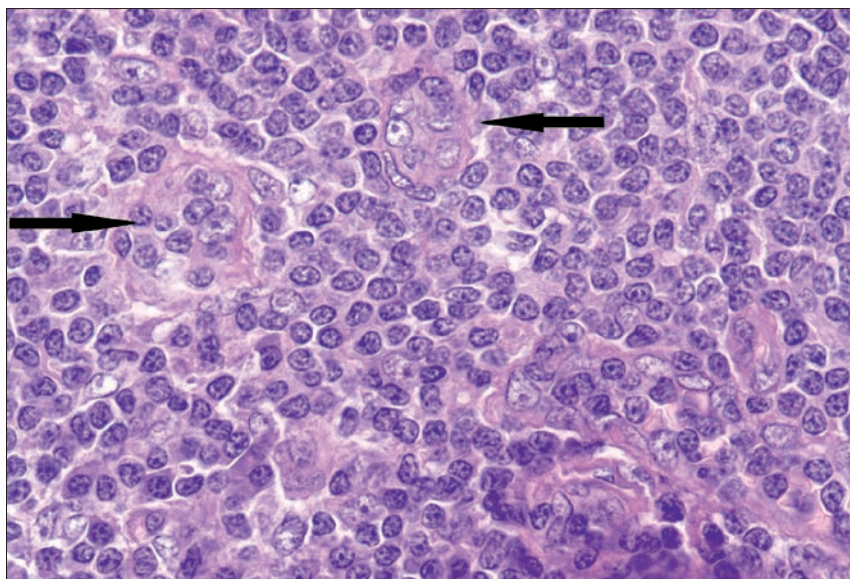
**Keywords:** clear cell lymphomas, canine lymphomas, hypercalcemia, T cell lymphomas.

o analizę wartości indeksów mitotycznych (liczba figur mitotycznych w polu widzenia, zazwyczaj przy powiększeniu 400 lub 500x) lub metodą immunohistochemiczną z zastosowaniem przeciwciała MIB-1. Przeciwciała to wykrywa obecność antygenu Ki67, który jest obecny w jądrach komórek będących w cyklu podziałowym (ryc. 3).

Istnieje wiele systemów klasyfikacji chłoniaków u ludzi i zwierząt, dwie najczęściej stosowane klasyfikacje chłoniaków u psów to klasyfikacja WHO (Światowej Organizacji Zdrowia) oraz klasyfikacja kilońska zaadaptowana dla psów (zasady tych klasyfikacji zostały



**Ryc. 1.** Obraz cytologiczny chłoniaka limfocytarnego, w tym przypadku zastosowano barwienie immunocytochemiczne z zastosowaniem przeciwciał anty CD3 – brązowa barwa cytoplazmy wskazuje, że chłoniak wywodzi się z komórek T; materiał pobrano za pomocą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej (BAC) z węzła chłonnego od psa, powiększenie 100x



**Ryc. 2.** Obraz histopatologiczny chłoniaka z komórek jasnych w węzle chłonnym psa – oprócz nagromadzenia nowotworowych limfocytów widoczny rozrost żyłek pozawołosniczkowych (strzałki); barwienie: hematoksylina-eozyna, powiększenie 200x

przedstawione we wcześniejszej pracy). Podstawowe podtypy chłoniaków według klasyfikacji WHO i klasyfikacji kilońskiej zaprezentowano w tabelach 1 i 2. Połączenie zalet klasyfikacji kilońskiej i WHO pozwala na określenie (na razie prowizorycznych) histoklinicznych jednostek chorobowych przebiegających z nowotworowym rozplemieniem limfocytów T – oznacza to, że chłoniaki T-komórkowe to grupa kilku zupełnie różnych chorób, których nie wolno traktować jak jedną. Poniżej przedstawiono dostępne w literaturze informacje odnośnie do różnych podtypów chłoniaków wywodzących się z limfocytów T u psów.

### Typy chłoniaków T-komórkowych (według klasyfikacji kilońskiej; w nawiasach podano odpowiednik w klasyfikacji WHO)

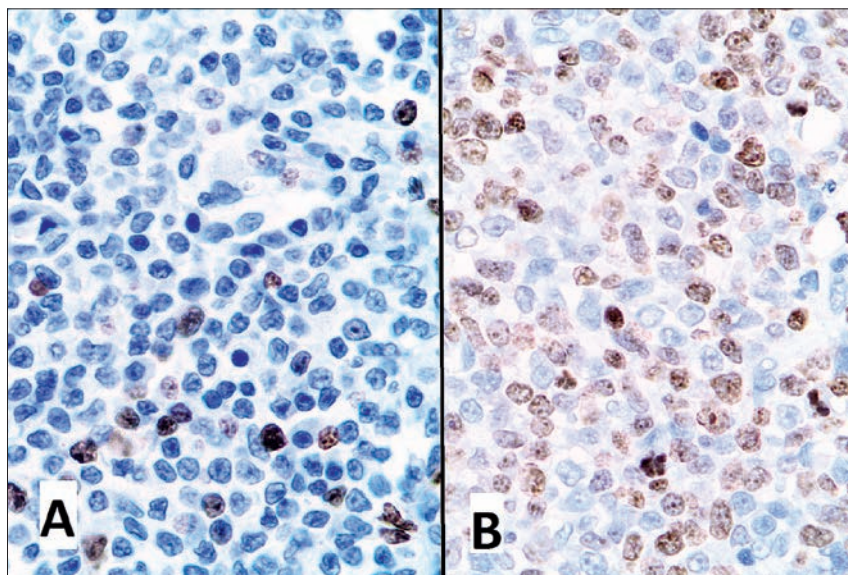
#### Ziarniniak grzybiasty (wg klasyfikacji WHO: ziarniniak grzybiasty/zespół Sezary'ego)

Jest to jedna z postaci skórno chłoniaka T-komórkowego epiteliotropowego, który dotyczy skóry, często przebiega z zajęciem węzłów chłonnych, przy czym limfadenomegalia jest najczęściej regionalna. Ten typ chłoniaka występuje stosunkowo rzadko. Chłoniaki te stanowią około 1,2%

wszystkich chłoniaków u psów i około 11% chłoniaków T-komórkowych (10). Opisano je u psów w różnym wieku, ze średnią 10 lat (1, 18, 19). Większość przypadków cechuje epiteliotropizm (tropizm do nabłonka) i/lub fillikulotropizm (tropizm do mieszków włosowych) w około 86% przypadków, a także zajęcie gruczołów potowych (20). Typowy jest też niski lub umiarkowany stopień proliferacji (indeks mitotyczny około 4/HPF – high power field – duże powiększenie mikroskopu świetlnego, najczęściej 400x), a także fenotyp CD8+/CD4– stwierdzany w 80% przypadków. U ludzi w 90% przypadków komórki tego rozrostu cechuje fenotyp CD4+/CD8–; (1, 10, 20, 21). W obrazie klinicznym ziarniniaka grzybiastego bez względu na podtyp obserwuje się rumień (86,6% przypadków), łuszczenie się naskórka (60% przypadków) i ogniskowe odbarwienia skóry (50% przypadków; 19, 20). W każdym przypadku zmiany obejmują skórę, ale w około połowie są też obecne na błonach śluzowych i połączeniach skórno-śluzówkowych. Czas, jaki mija od pojawienia się pierwszych objawów do rozpoznania, to średnio 5 miesięcy, zazwyczaj we wczesnych stadiach lekarz podejrzewa choroby zapalne skóry. W przypadku ziarniniaka grzybiastego możliwa jest transformacja w formy bardziej złośliwe, przebiegające z obrazem białaczkowym – zespół Sezary'ego, co wiąże się z gorszym rokowaniem (21). W postaci niezaawansowanej rokowanie jest raczej dobre, zwierzęta przeżywają nawet do 2 lat od momentu rozpoznania.

### Chłoniaki wielopostaciowe z komórek małych (wg klasyfikacji WHO: chłoniaki z obwodowych komórek T, bliżej niesprecyzowane)

Występują rzadko, ze średnią wieku powyżej 8 lat, w jednym z badań częściej u samców niż samic (7). Stanowią około 5% chłoniaków T-komórkowych i przebiegają najczęściej z uogólnionym powiększeniem węzłów chłonnych, chociaż mogą też występować w lokalizacji pozawęzłowej (7). W ponad połowie przypadków tych chłoniaków obserwuje się hiperkalcemię (1). Miąższ nowotworu utworzony jest z małych komórek o nieregularnego kształtu jądrach, niekiedy rozszczepionych, ze słabo widocznymi jąderkami oraz jasną, ale skąpą cytoplazmą (ryc. 4). Aktywność proliferacyjna komórek jest niska, figury mitotyczne obserwuje się bardzo rzadko, a odsetek komórek Ki67 dodatnich wynosi około 10% (9). Nie obserwuje się w tych przypadkach rozrostu naczyń włóscinkowych ani tzw. obrazu rozgwieżdżonego nieba – obecność makrofagów wśród komórek limfoidalnych (7).



**Ryc. 3.** Bardzo pomocne w określeniu aktywności proliferacyjnej komórek chłoniaka jest badanie immunohistochemiczne z zastosowaniem przeciwciał MIB-1, które wykrywa antygen Ki67. Brązowa barwa jąder komórkowych wskazuje na dodatnią reakcję. Na rycinie A, która przedstawia chłoniaka o powolnym przebiegu (chłoniak z komórek jasnych), tylko nieliczne komórki wykazują reakcję barwną. Na rycinie B, która przedstawia chłoniaka wielopostaciowego mieszanego (chłoniak o wysokiej złośliwości), reakcję barwną widać w około 50% jąder komórkowych. Powiększenie 200x

### Chłoniaki z komórek jasnych (wg klasyfikacji WHO: chłoniaki z obwodowych komórek T, bliżej niesprecyzowane; podgrupa: chłoniaki strefy T)

Stanowią one od 9 do 38% chłoniaków T-komórkowych i od 3 do nawet 10% wszystkich chłoniaków rozpoznawanych u psów (7, 10, 22). Ponadto chłoniaki

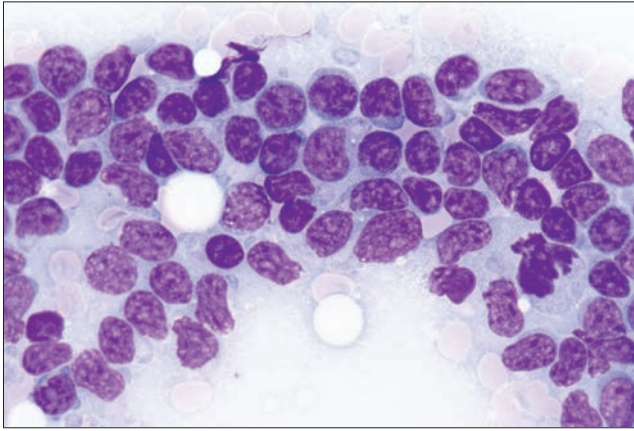
z komórek jasnych stanowią od 15 do ponad 60% chłoniaków o powolnym przebiegu (3, 10, 14). Obserwowano je u osobników dorosłych i starszych, ze średnią wieku 8–10 lat, z taką samą częstością u samców, jak i samic (3, 7, 14). Przebieg choroby jest powolny, najczęściej pacjent trafia do lekarza z uogólnionym, a rzadziej regionalnym powiększeniem węzłów chłonnych, limfocytozą (47% psów) i z reguły bez

**Tabela 1.** Najważniejsze podtypy chłoniaków T-komórkowych według klasyfikacji WHO

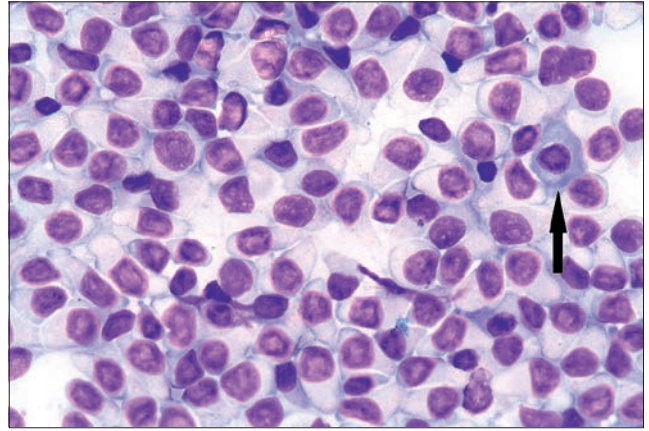
Nowotwory limfoidalne z komórek prekursorowych (precursor lymphoid neoplasms)	Nowotwory z dojrzałych komórek T i NK (mature T- and NK-cell neoplasms)
<ul style="list-style-type: none"> <li>Białaczka/chłoniak limfoblastyczny z komórek T (T lymphoblastic leukemia/lymphoma – T-ALL/LBL)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Białaczka prolimfocytowa z komórek T (T-cell prolymphocytic leukemia – T-PLL)</li> <li>Białaczka z dużych ziarnistych limfocytów T (T-cell large granular lymphocytic leukemia – T-LGL)</li> <li>Chłoniak z komórek T wątrobowo-śledzionowy (hepatosplenic T-cell lymphoma – HSTL)</li> <li>Ziarniniak grzybiasty (mycosis fungoides – MF)</li> <li>Zespół Sezary'ego (Sezary syndrome – SS)</li> <li>Chłoniak z obwodowych komórek T, bliżej nieokreślony (peripheral T-cell lymphoma – PTCL, not otherwise specified – NOS)</li> <li>Chłoniak z komórek T angioimmunoblastyczny (angioimmunoblastic T-cell lymphoma – AITL)</li> </ul>

**Tabela 2.** Najważniejsze podtypy chłoniaków T-komórkowych według klasyfikacji kilońskiej

Chłoniaki o niskiej złośliwości	Chłoniaki o wysokiej złośliwości
<ul style="list-style-type: none"> <li>Ziarniniak grzybiasty – chłoniak skórny T-komórkowy o niskiej złośliwości</li> <li>Chłoniak z komórek jasnych (chłoniak strefy T)</li> <li>Chłoniak wielopostaciowy z komórek małych</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Chłoniak wielopostaciowy mieszany z komórek małych i dużych</li> <li>Chłoniak wielopostaciowy z komórek dużych</li> <li>Niesklasyfikowany chłoniak o wysokiej złośliwości, plazmocytoidny</li> <li>Chłoniak immunoblastyczny</li> <li>Chłoniak limfoblastyczny (chłoniak z prekursorowych komórek T)</li> </ul>



**Ryc. 4.** Obraz cytologiczny chłoniaka wielopostaciowego z komórek małych – widoczne są małe komórki z nieregularnymi jądrami komórkowymi. Materiał pobrany drogą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej, barwienie barwnikiem Giemsy, powiększenie 400×



**Ryc. 5.** Obraz cytologiczny chłoniaka z komórek jasnych – widoczne są małe komórki z lekko nieregularnymi jądrami komórkowymi oraz dość obfitą, jasną cytoplazmą – która często układa się jednobiegunowo, nadając komórce wygląd zwierciadełka ręcznego. Figury mitotyczne są nieobecne, widoczna też komórka plazmatyczna (strzałka). Materiał pobrany drogą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej, barwienie barwnikiem Giemsy, powiększenie 400×

hiperkalcemii (3, 14). W części przypadków łagodna limfadenomegalia to jedyny objaw kliniczny obserwowany przez wiele miesięcy, a nawet lat – stadium kliniczne IIIa (1, 3, 10), chociaż w jednym z badań wszystkie cztery psy z chłoniakiem T-komórkowym o powolnym przebiegu (czyli chłoniaki z komórek jasnych) doprowadzono do lekarza w stadium Vb, z zajęciem szpiku kostnego (22). Valli i wsp. (10) sugerują, że powodem, dla którego wiele psów z chłoniakiem strefy T często trafia do lekarza w zaawansowanym stadium klinicznym, jest fakt, że przez wiele miesięcy (a być może i lat) u pacjentów nie obserwuje się objawów, takich jak brak apetytu i spadek aktywności fizycznej. W związku z tym właściciele zwierząt nie szukają pomocy weterynaryjnej (10). Istnieją doniesienia sugerujące, że chłoniaki z komórek jasnych/chłoniaki strefy T mogą ulegać ewolucji z formy o klinicznie niskiej złośliwości w formy o wysokiej złośliwości klinicznej (22).

W obrazie cytologicznym chłoniaki z komórek jasnych mają typową morfologię, posiadają one bowiem jasną, dość obfitą cytoplazmę, często zlokalizowaną po jednej stronie jądra komórkowego (przypominają wyglądem lusterko ręczne) i niekiedy zawierają drobne azurofilne ziarnistości cytoplazmatyczne (ryc. 5). Jądra komórkowe są okrągłe lub lekko nieregularne. Istnieją pewne rozbieżności odnośnie do informacji na temat występowania jąder w komórkach chłoniaków z komórek jasnych. W badaniach cytologicznych przeprowadzonych przez autorów francuskich jąderka były wyraźnie widoczne w obrębie jąder komórkowych, w innych badaniach stwierdzono, że są one obecne, ale słabo widoczne, z kolei w pracy obejmującej analizę histopatologiczną były nieobecne, a w jeszcze innych badaniach autorzy nie

podawali informacji odnośnie do obecności jąderka w komórkach tych rozrostów (1, 3, 22, 23). Nasilenie proliferacji komórek jest niskie (w badaniu cytologicznym obserwuje się 0–1 figurę mitotyczną w polu widzenia przy powiększeniu 400–500×). W badaniach immunocytochemicznych preparatów histologicznych odsetek komórek Ki67 dodatnich wynosi od 5 do 15,8%, z kolei analiza cytometryczna wykazała, że wynosi on 3,3%, (7, 10, 14, 22). W obrazie histopatologicznym zajętego węzła chłonnego obserwuje się monotonną populację małych i średnich komórek, z obfitą i jasną cytoplazmą, gromadzących się w strefie T węzła chłonnego, które uciskają na otaczające grudki chłonne. Torebka węzła jest spłaszczona, ale nie obserwuje się naciekania otaczającej tkanki tłuszczowej. Jądra komórkowe są owalne, mogą zawierać płytkie zagłębienie, chromatyna jądrowa jest drobnoziarnista, bez widocznych jąderka; mitozy są nieliczne, 0–1/HPF (23). W przypadku tego typu chłoniaków nie stwierdza się obrazu „rozgwieźdzonego nieba”, a rozrost drobnych żyłek pozawłóścińcowych obserwowany jest w praktycznie każdym przypadku (7).

Obecnie nie istnieje jednoznaczny pogląd co do strategii postępowania z pacjentem, u którego rozpoznano chłoniaka z komórek jasnych. Nie wydaje się, aby leczenie wpływało na przebieg choroby; ani nie wydłuża, ani nie poprawia jakości życia pacjentów z chłoniakiem z komórek jasnych; w jednym z badań żaden z 10 obserwowanych psów nie padł z powodu chłoniaka (3). Jednak autorzy tych badań sugerują, że w przypadkach bardziej zaawansowanych histologicznie chłoniaków z komórek jasnych mogą one wykazywać bardziej agresywny przebieg i w związku z tym mogą wymagać chemioterapii ogólnej. W starszych badaniach (5) mediana czasu

przeżycia psów z chłoniakiem z komórek jasnych leczonych za pomocą złożonego schematu chemioterapeutycznego wyniosła 21 miesięcy (od 12 do 26 miesięcy), a mediana trwania pierwszej remisji 12 miesięcy (od 6 do 24 miesięcy). Z kolei w badaniu obejmującym chłoniaki o powolnym przebiegu okres przeżycia dla psów z chłoniakiem z komórek jasnych, które nie były leczone za pomocą chemioterapii, wynosił od 5 do 52 miesięcy (średnia 21 miesięcy). Z kolei dla grupy leczonych i nieleczonych chłoniaków mediana całkowitego okresu przeżycia wyniosła 33 miesiące (14). Wynika z tego, że w przypadku chłoniaków z komórek jasnych złożona chemioterapia nie wydłuża czasu przeżycia, w stosunku do pacjentów leczonych za pomocą prednizonu i chlorambucilu.

Co więcej, badania Valli i wsp. (10) wykazały, że mediana czasu przeżycia dla chłoniaków leczonych za pomocą chemioterapii była krótsza niż dla pacjentów pozostawionych bez leczenia. Mediana okresu przeżycia dla pacjentów niepoddanych chemioterapii wyniosła 29 miesięcy, a dla poddanych chemioterapii wynosiła od 10 do 13 miesięcy w zależności od zastosowanego schematu leczenia (10). Jest jednak prawdopodobne, że pacjenci, którzy byli poddani chemioterapii, mogli znajdować się w bardziej zaawansowanym stadium klinicznym, a psy niepoddane chemioterapii mogły znajdować się w mniej zaawansowanej postaci choroby. W części przypadków chłoniaków ze strefy T/chłoniaków z komórek jasnych mięsz nowotworu oprócz komórek małych zawiera domieszkę komórek nieco większych i wydaje się, że te przypadki zachowują się bardziej agresywnie klinicznie niż chłoniaki utworzone jedynie z komórek małych. Jednak analiza wartości indeksów mitotycznych nie wykazała różnic nasilenia proliferacji

między tymi dwoma podtypami nowotworów (10). Zarówno wartość indeksów mitotycznych, jak i odsetek komórek Ki67 dodatnich nie były czynnikami o wartości prognostycznej w grupie psów z chłoniakami ze strefy T (14).

Ostatnio opublikowane badania wykazały istnienie unikalnej grupy chłoniaków T-komórkowych o powolnym przebiegu, których komórki charakteryzują się immunofenotypem CD45<sup>-</sup> oraz obrazem histologicznym typowym dla chłoniaków ze strefy T (czyli chłoniaków z komórek jasnych; 23). W innym badaniu stwierdzono podobnie, jedynie w jednym na 26 przypadków chłoniaków z komórek jasnych stwierdzono obecność antygenu CD45 na powierzchni komórek nowotworowych, a autorzy sugerują, że jest to cecha (brak cząstek CD45), która potwierdza nowotworowy charakter rozrostu (22). Średnia wieku psów z tym rozrostem wynosiła 10 lat, sporą część psów stanowiły golden retrievery (45% wszystkich analizowanych przypadków). Dość często u chorych psów obserwowano limfocytosę (w 50% przypadków), ale w żadnym przypadku nie stwierdzono hiperkalcemii (23). Mediana okresu przeżycia w tej grupie psów wyniosła 21 miesięcy (23).

#### **Chłoniaki wielopostaciowe mieszane z komórek małych i dużych (wg klasyfikacji WHO: chłoniaki z obwodowych komórek T, bliżej niesprecyzowane)**

Są one najpowszechniejszym typem chłoniaków T-komórkowych u psów i stanowią do 24% tych rozrostów oraz od 6,5 do 13,6% wszystkich chłoniaków u psów (1, 7, 10). Nowotwory te rozpoznaje się u psów starszych, ze średnią wieku 9–10 lat, z podobną częstością u obu płci; bokserzy są rasą psów szczególnie predysponowaną do występowania chłoniaków pleomorficznych

mieszanych (6, 7, 24). Pacjenci prawie zawsze dotknięci są uogólnionym powiększeniem węzłów chłonnych, czemu najczęściej towarzyszą objawy ogólne, rzadko obserwuje się lokalizację pozawęzłową (7). W ponad połowie przypadków u chorych psów występuje hiperkalcemia, a w 1/4 przypadków wodopiersie z obecnością komórek nowotworowych w płynie wysiękowym (1, 22). Czas, jaki mija od pojawienia się pierwszych objawów klinicznych do rozpoznania, wynosi najczęściej 15 dni, a pacjenci trafiają do lekarza w stadium IIIb-Vb (6, 22). Chłoniakom wielopostaciowym mieszanym stosunkowo często towarzyszy zajęcie szpiku kostnego.

Miąsz nowotworu utworzony jest z komórek różnej wielkości, z nieregularnym jądrem komórkowych i jasną lub umiarkowanie zasadochłonną, niezbyt obfitą cytoplazmą (ryc. 6). Aktywność proliferacyjna jest umiarkowana lub znaczna, a jąderka są dobrze widoczne w większych komórkach. Wartość indeksów mitotycznych w badaniu histopatologicznym wynosi 9–11/HPF, a odsetek komórek Ki67 dodatnich 35,5% (7, 9). Zazwyczaj nie obserwuje się rozrostu żyłek pozawłośniczkowych ani obrazu „rozgwieżdzonego nieba” (7). Badania z zastosowaniem immunofenotypowania wykazały, że wiele z tych nowotworów wykazuje ekspresję CD4<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup> i charakteryzuje się agresywnym przebiegiem klinicznym (24).

W cytowanych poprzednio badaniach Ponce i wsp. (5) mediana czasu przeżycia psów z chłoniakiem pleomorficznym mieszanym leczonych za pomocą złożonego schematu chemioterapeutycznego wyniosła 14 miesięcy (od 9 do 16 miesięcy), a mediana trwania pierwszej remisji 10 miesięcy (od 6 do 14 miesięcy). W innym badaniu w grupie chłoniaków o fenotypie CD4<sup>+</sup>/CD45<sup>+</sup>, z których większość była chłoniakami pleomorficznymi mieszanymi, mediana

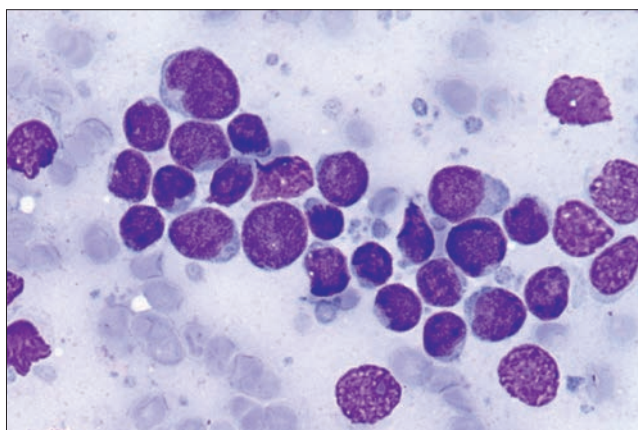
całkowitego okresu przeżycia wyniosła nieco ponad 5 miesięcy (24).

#### **Chłoniaki wielopostaciowe z komórek dużych (wg klasyfikacji WHO: chłoniaki z obwodowych komórek T, bliżej niesprecyzowane)**

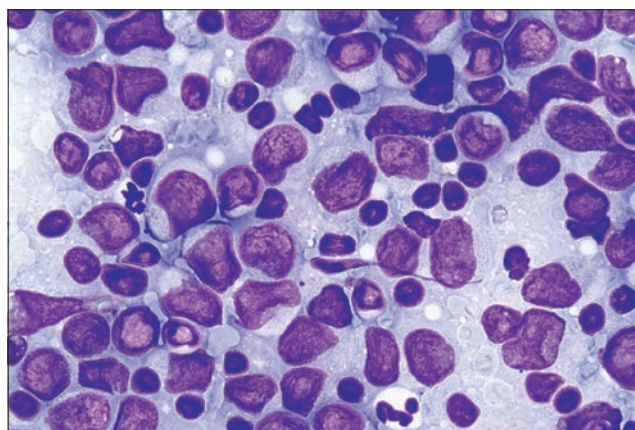
Występują raczej rzadko, stanowią około 2% wszystkich chłoniaków i około 13% chłoniaków T-komórkowych u psów (7). Rozpoznawane są u osobników w różnym wieku, ze średnią poniżej 7 lat, nieco częściej u samców (7). Klinicznie charakteryzują się uogólnioną limfadenopatią (praktycznie w każdym przypadku) i splenomegalią (w około 2/3 przypadków), a w połowie przypadków obserwuje się hiperkalcemię (1, 7). W obrazie mikroskopowym dominują komórki duże z nieregularnym jądrem komórkowym, jasną, umiarkowanie obfitą cytoplazmą (ryc. 7). Nowotwór cechuje się wysoką aktywnością mitotyczną (indeks mitotyczny około 13/HPF), z odsetkiem komórek Ki67 dodatnich wynoszącym 54,5% (7, 9). Dość często obserwuje się rozrost żyłek pozawłośniczkowych, z kolei nie stwierdza się obrazu „rozgwieżdzonego nieba” (7).

#### **Niesklasyfikowane chłoniaki plazmocytoïdne o wysokiej złośliwości (wg klasyfikacji WHO: chłoniaki z obwodowych komórek T, bliżej niesprecyzowane)**

Stanowią one około 9% przypadków chłoniaków T-komórkowych u psów oraz około 3% wszystkich chłoniaków u tego gatunku zwierząt (7). Rozpoznawano je u osobników w wieku od roku do 11 lat, jednak najczęściej chorują młode dorosłe osobniki (ze średnią 6 lat), z podobną częstością u obu płci (1, 4, 5, 7). Przebieg choroby jest zazwyczaj agresywny (od wystąpienie pierwszych objawów



**Ryc. 6.** Obraz cytologiczny chłoniaka wielopostaciowego mieszanego z komórek małych i dużych – widoczne są komórki o różnej wielkości – jądra tych komórek mają nieregularny kształt. Cytoplazma jest umiarkowanie zasadochłonna i niezbyt obfita. Materiał pobrany drogą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej, barwienie barwnikiem Giemsy, powiększenie 400×



**Ryc. 7.** Obraz cytologiczny chłoniaka wielopostaciowego z komórek dużych – widoczne są różnej wielkości komórki, jednak większość z nich to komórki duże z nieregularnym jądrem komórkowych. Materiał pobrany drogą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej, barwienie barwnikiem Giemsy, powiększenie 400×

do rozpoznania mija około tygodnia), chociaż objawy kliniczne są najczęściej nieswoiste, często obserwuje się znacznego stopnia osłabienie i całkowity brak apetytu. Limfadenomegalia jest prawie zawsze uogólniona, zdecydowanie rzadziej bywa regionalna, węzły chłonne są najczęściej znacznie powiększone, a pacjenci trafiają do lekarza w stadium IIIa-Vb (4, 5, 7). W około połowie przypadków dodatkowo obserwuje się zajęcie śródpiersia, śledziony i szpiku kostnego (w części przypadków z obrazem białaczkowym), w niewielkiej części przypadków rozrost rozpoczyna się poza węzłami chłonnymi. Hiperkalcemię stwierdza się u około 40% psów z niesklasyfikowanym chłoniakiem plazmocytoïdym (1, 4).

Cytologicznie rozrosty charakteryzują się obecnością blastów różnej wielkości (z przewagą komórek małych i średnich), z dość obfitą, silnie zasadochłonną i często „plazmocytoïdną” cytoplazmą, niekiedy zlokalizowaną jednobiegunowo (ryc. 8; 1, 4). Jądra komórkowe są okrągłe lub umiarkowanie nieregularne, często zlokalizowane mimośrodkowo, czasami bywają podwójne, a jąderka choć obecne, nie zawsze są dobrze widoczne. Prawie zawsze w obrazie histologicznym stwierdza się rozrost żyłek pozawłośniczkowych (7). W każdym przypadku obserwuje się wysoką aktywność mitotyczną (10/HPF; 1, 4, 7). Badania immunohistochemiczne z użyciem przeciwciał anty Ki67 potwierdziły wysoką aktywność proliferacyjną, od 50 do 82% komórek znajduje się w cyklu podziałowym (4). W związku z tym, że komórki tego typu chłoniaka mają wygląd „plazmocytoïdny” (oznacza to, że przypominają komórki plazmatyczne, czyli limfocyty o fenotypie B), to według

niektórych autorów do ich rozpoznania niezbędne jest badanie immunocytochemiczne potwierdzające obecność antygenu CD3.

Chociaż reakcja na chemioterapię pojawiła się we wszystkich przypadkach chłoniaków niesklasyfikowanych plazmocytoïdnych, to okres wolny od choroby jest krótki (mediana 3 miesiące) i wynosi od 2 do 7 miesięcy, z kolei czas trwania pierwszej remisji wynosi od 1 do 6 miesięcy (mediana 2 miesiące; 4, 5).

### **Chłoniaki immunoblastyczne (wg klasyfikacji WHO: brak odpowiednika; chłoniaki z obwodowych komórek T, bliżej niesprecyzowane)**

Występują rzadko i praktycznie zawsze przebiegają z uogólnionym powiększeniem węzłów chłonnych (1, 7). Komórki nowotworowe naciekają równomiernie utkanie węzła chłonnego, są duże, z nieregularnymi jądrami, skąpą lub dość obfitą cytoplazmą, często o nieregularnym układzie i słabej barwliwości. Jąderka są duże, pojedyncze lub mnogie. Indeks mitotyczny jest bardzo wysoki (18/HPF), typową cechą jest też obecność rozrostu żyłek pozawłośniczkowych, brak jest obrazu „gwieżdzistego nieba” (1, 7). Dane na temat klinicznych i morfologicznych aspektów tego typu chłoniaków u psów są skąpe.

### **Chłoniaki limfoblastyczne (wg klasyfikacji WHO: chłoniak z komórek prekursorowych – białaczka/chłoniak limfoblastyczny z komórek T)**

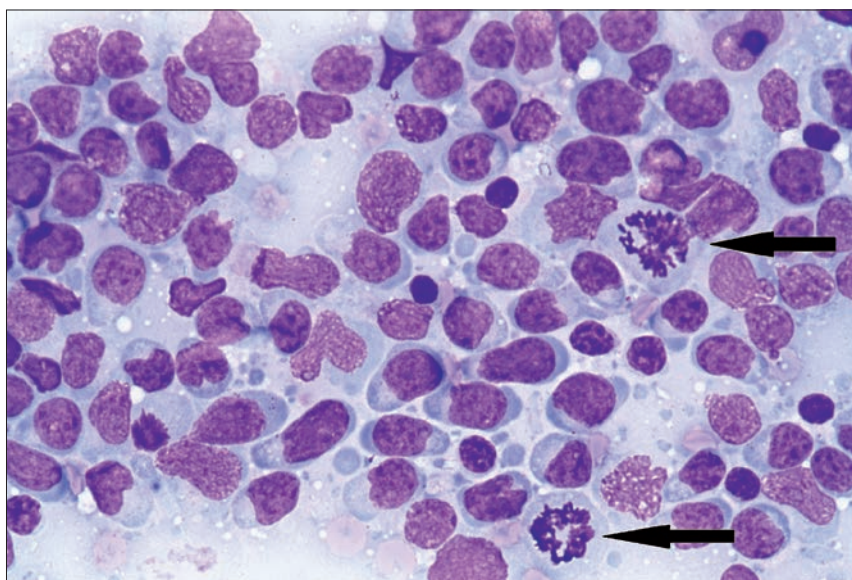
Stanowią one od 8 do 24% chłoniaków T-komórkowych i 2–3% wszystkich

chłoniaków u psów (1, 7, 10), przy czym jest to najpowszechniej rozpoznawany typ chłoniaków u bokserów (powyżej 75% chłoniaków T-komórkowych w jednym z badań; 16). Średnia wieku chorych psów nieco powyżej 6 lat – niższa niż dla wszystkich innych typów chłoniaków, rozrosty obserwuje się nieco częściej u samców niż samic (1, 7). Wydaje się, że u psów, podobnie jak to jest u ludzi, T-komórkowe chłoniaki limfoblastyczne zdecydowanie przeważają nad B-komórkowymi chłoniakami limfoblastycznymi, a w niektórych badaniach były to wszystkie rozpoznane chłoniaki blastyczne u psów (1, 7). Jednak, w badaniach obejmujących dużą populację psów z chłoniakiem, limfoblastyczne chłoniaki T-komórkowe wprawdzie przeważały nad limfoblastycznymi chłoniakami B-komórkowymi, ale nie były to jedyne chłoniaki z komórek prekursorowych u psów (10).

Badania z zastosowaniem immunofenotypowania wykazały, że wiele z tych nowotworów wykazuje ekspresję antygenów CD4+/CD45+ i charakteryzuje się agresywnym przebiegiem klinicznym (24). Sprawia to, że pacjenci z chłoniakiem T-komórkowym limfoblastycznym trafiają do lekarza najczęściej w zaawansowanym stadium klinicznym (stadium IVb-Vb), z nasilonymi objawami klinicznymi, takimi jak osłabienie znacznego stopnia, brak apetytu, utrata masy ciała, wymioty oraz duszność (5). W około połowie przypadków obserwuje się zajęcie śródpiersia, wątroby, śledziony i szpiku kostnego (w ponad połowie przypadków chłoniak przebiega z obrazem białaczkowym i cytopenią; 7). Obserwowana limfadenomegalia jest prawie zawsze uogólniona, rzadko regionalna, a u części pacjentów obserwuje się hiperkalcemię (7).

W obrazie cytologicznym obserwuje się monotonną populację komórek średniej wielkości, o umiarkowanie zasadochłonnej, skąpej cytoplazmie, z okrągłym lub nieco nieregularnym jądrem komórkowym (jądra mają niekiedy wygląd rozszczepiony), rozproszoną chromatyną i niewyraźnymi jąderkami (1, 10). Stałą cechą jest tu wysoka aktywność mitotyczna (10–15/HPF), w cyklu komórkowym (komórki Ki67 dodatnie) znajduje się prawie 44% komórek nowotworowych (7, 9, 10). W nielicznych przypadkach obserwuje się rozrost żyłek pozawłośniczkowych, niekiedy występuje „obraz rozgwieżdzonego nieba” (7). W związku z tym, że komórki blastyczne bez względu na immunofenotyp mają taki sam wygląd, do jednoznacznego rozpoznania niezbędne jest określenie immunofenotypu za pomocą immunocytochemii/immunohistochemii.

Chłoniaki limfoblastyczne T-komórkowe zazwyczaj dobrze reagują na złożone protokoły terapeutyczne, z medianą czasu trwania pierwszej remisji wynoszącej 8 miesięcy,



**Ryc. 8.** Obraz cytologiczny chłoniaka niesklasyfikowanego plazmocytoïdnego z komórek T – widoczne są średniej wielkości komórki, o mniej lub bardziej nieregularnych jądrach komórkowych. Typową cechą tych komórek jest plazmocytoïdny wygląd – zasadochłonna cytoplazma z przejaśnieniem przyjądrowym. Widoczne są też dwie figury mitotyczne (strzałki). Materiał pobrany drogą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej, barwienie barwnikiem Giemsa, powiększenie 400×

jednak całkowity czas przeżycia nie jest znacząco dłuższy, wynosi bowiem od 8,5 do 11 miesięcy (mediana 9 miesięcy; 5).

## Leczenie i rokowanie

Obecnie brak jest szeroko akceptowanych schematów postępowania w przypadku chłoniaków z komórek T, a w szczególności dla ich poszczególnych podtypów. Wspomniane wcześniej badania ankietowe wykazały, że w leczeniu chłoniaków T-komórkowych stosowane są różne protokoły terapeutyczne, a około 1/3 onkologów stosuje w przypadku chłoniaków T-komórkowych protokoły inne niż w przypadku chłoniaków B-komórkowych. Rzadziej w leczeniu stosuje się doksorubicynę i cyklofosfamid, a częściej lomustynę, mechłoretaminę i prokarbazynę (25).

W badaniu obejmującym 27 psów z wieloogniskowym chłoniakiem T-komórkowym (bez określenia podtypu) leczonych za pomocą schematu CHOP mediana całkowitego okresu przeżycia wyniosła prawie 8 miesięcy (8). Jedynym obserwowanym czynnikiem prognostycznym w tej grupie zwierząt było występowanie trombocytopenii w momencie przyjęcia pacjenta (mediana okresu przeżycia dla psów z trombocytopenią prawie 11 miesięcy, w porównaniu do 7 miesięcy bez trombocytopenii; 8).

## Piśmiennictwo

- Foulner-Fleury C., Ponce F., Felman P., Blavier A., Bonnefont C., Chabanne L., Marchal T., Cadore J.L., Goy-Thollot I., Ledieu D., Ghranati I., Magnol J.P.: Canine T-cell lymphomas: a morphological, immunological, and clinical study of 46 new cases. *Vet. Pathol.* 2002, **39**, 92–109.
- Jagielski D., Lechowski R., Hoffman-Jagielska M., Wiñarczyk S.: A retrospective study of the incidence and prognostic factors of multicentric lymphoma in dogs (1998–2000). *J. Vet. Med. A.* 2002, **49**, 419–424.
- Valli V.E., Vernau W., de Lorimier L.P., Graham P.S., Moore P.F.: Canine indolent nodular lymphoma. *Vet. Pathol.* 2006, **43**, 241–56.
- Ponce F., Magnol J.P., Marchal T., Chabanne L., Ledieu D., Bonnefont C., Felman P., Fournel-Fleury C.: High-grade canine T-cell lymphoma/leukemia with plasmacytoid morphology: a clinical pathological study of nine cases. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2003, **15**, 330–337.
- Ponce F., Magnol J.P., Ledieu D., Marchal T., Turinelli V., Chalvet-Monfray K., Fournel-Fleury C.: Prognostic significance of morphological subtypes in canine malignant lymphomas during chemotherapy. *Vet. J.* 2004, **167**, 158–166.
- Pastor M., Chalvet-Monfray K., Marchal T., Keck G., Magnol J.P., Fournel-Fleury C., Ponce F.: Genetic and environmental risk indicators in canine non-Hodgkin's lymphomas: breed associations and geographic distribution of 608 cases diagnosed throughout France over 1 year. *J. Vet. Intern. Med.* 2009, **23**, 301–310.
- Ponce F., Marchal T., Magnol J.P., Turinelli V., Ledieu D., Bonnefont C., Chabanne L., Pastor M.L., Delignette M.L., Fournel-Fleury C.: A morphological study of 608 cases of canine malignant lymphoma in France with a focus on comparative similarities between canine and human lymphoma morphology. *Vet. Pathol.* 2010, **47**, 414–443.
- Rebhun R.B., Kent M.S., Borroffka S.A.E.B., Frazier S., Skorupski K., Rodriguez C.O.: CHOP chemotherapy for the treatment of canine multicentric T-cell lymphoma. *Vet. Comp. Oncol.* 2010, **9**, 38–44.
- Poggi A., Miniscalco B., Morello E., Comazzi S., Gelain M.E., Aresu L., Riondato F.: Flow cytometric evaluation of ki67 for the determination of malignancy grade in canine lymphoma. *Vet. Comp. Oncol.* 2013, doi: 10.1111/vco.12078.
- Valli V.E., Kass P.H., San Myint M., Scott F.: Canine lymphomas: association of classification type, disease stage, tumor subtype, mitotic rate, and treatment with survival. *Vet. Pathol.* 2013, **50**, 738–748.
- Guija de Arespacochaga A., Schwendenwein I., Weissenböck H.: Retrospective study of 82 cases of canine lymphoma in Austria based on the working formulation and immunophenotyping. *J. Comp. Path.* 2007, **136**, 186–192.
- Dzimira S.: Immunocytochemical and cytomorphometric diagnostics of malignant lymphomas in dogs. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.* 2007, **51**, 71–78.
- Sapierzynski R.: Practical aspects of immunocytochemistry in canine lymphomas. *Pol. J. Vet. Sci.* 2010, **13**, 661–668.
- Flood-Knapik K.E., Durham A.C., Gregor T.P., Sanchez M.D., Durney M.E., Sorenmo K.U.: Clinical, histopathological and immunohistochemical characterization of canine indolent lymphoma. *Vet. Comp. Oncol.* 2012, **11**, 272–286.
- Lurie D.M., Lucroy M.D., Griffey S.M., Simonson E., Madewell B.R.: T-cell-derived malignant lymphoma in the boxer breed. *Vet. Comp. Oncol.* 2004, **2**, 171–175.
- Lurie D.M., Milner R.J., Suter S.E., Vernau W.: Immunophenotypic and cytomorphologic subclassification of T-cell lymphoma in the boxer breed. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2008, **125**, 102–107.
- Sapierzynski R., Dolka I., Fabisiak M.: High agreement of routine cytopathology and immunocytochemistry in canine lymphomas. *Pol. J. Vet. Sci.* 2012, **15**, 247–252.
- Foulner-Fleury C., Magnol J.P., Bricaire P., Marchal T., Chabanne L., Delverdier A., Bryon P.A., Felman P.: Cytohistological and immunological classification of canine malignant lymphomas: comparison with human non-Hodgkin's lymphomas. *J. Comp. Pathol.* 1997, **117**, 35–59.
- Bhang D.H., Choi U.S., Kim M.K., Choi E.H., Kang M.S., Hwang C.Y., Kim D.Y., Youn H.Y., Lee H.W.: Epitheliotropic cutaneous lymphoma (mycosis fungoides) in a dog. *J. Vet. Sci.* 2006, **7**, 97–99.
- Fontaine J., Heimann M., Day M.J.: Canine cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma: a review of 30 cases. *Vet. Dermatol.* 2010, **21**, 267–275.
- Fontaine J., Boves C., Bettenay S., Mueller R.S.: Canine cutaneous epitheliotropic T-cell lymphoma: a review. *Vet. Comp. Oncol.* 2009, **7**, 1–14.
- Martini V., Poggi A., Riondato F., Gelain M.E., Aresu L., Comazzi S.: Flow-cytometric detection of phenotypic aberrancies in canine small clear cell lymphoma. *Vet. Comp. Oncol.* 2013, doi: 10.1111/vco.12043.
- Seelig D.M., Avery P., Webb T., Yoshimoto J., Bromberek J., Ehrhart E.J., Avery A.V.: Canine T-zone lymphoma: unique immunophenotypic features, outcome, and population characteristics. *J. Vet. Intern. Med.* 2014, **28**, 878–886.
- Avery P.R., Burton J., Bromberek J.L., Seelig D.M., Elmshie R., Correa S., Ehrhart E.J., Morley P.S., Avery A.C.: Flow cytometric characterization and clinical outcome of CD+ T-cell Lymphoma in dogs: 67 cases. *J. Vet. Intern. Med.* 2014, **28**, 538–546.
- Regan R.C., Kaplan M.S.W., Bailey D.B.: Diagnostic evaluation and treatment recommendations for dogs with substage-a high-grade multicentric lymphoma: results of a survey of veterinarians. *Vet. Comp. Oncol.* 2012, **11**, 287–295.

Dr hab. Rafał Sapierzynski, prof. nadzw. SGGW,  
e-mail: sapiehp@wp.pl