

Chłoniak limfocytarny jelit / limfocytarne zapalenie jelit u kotów – problemy diagnostyczne

Rafał Sapieryński

z Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Instytutu Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie

Przewlekłe utrzymujące się problemy ze strony przewodu pokarmowego, takie jak wymioty, biegunka, osłabienie lub utrata apetytu oraz związana z tym utrata masy ciała są często obserwowane u starszych kotów (1, 2, 3). W niektórych z takich przypadków główny problem zlokalizowany jest rzeczywiście w obrębie przewodu pokarmowego, ale niekiedy objawy te są związane z lokalizacją pozajelitową, np. w przebiegu zapalenia trzustki, chorób wątroby, niewydolności nerek, nadczynności tarczycy. W przypadku choroby zlokalizowanej w jelitach, stan ten klinicznie bywa określany jako **przewlekła enteropatia** (chronic enteropathy), a na pierwszy plan na liście rozpoznań różnicowych wysuwa się w takich przypadkach idiopatyczne zapalenie jelit (morfologicznie najczęściej zapalenie limfocytarne lub plazmocytarne-limfocytarne, inflammatory/idiopathic bowel disease – IBD) oraz chłoniak limfocytarny (chłoniak o niskiej złośliwości; chłoniak z komórek małych, chłoniak LG, low grade lymphoma – LowGL; 4). Według Jergens i wsp. (5) część przypadków rozpoznanych jako IBD to w rzeczywistości enteropatia reagująca na zmianę diety (food-responsive enteropathy), jako wykaz nadwrażliwości lub nietolerancji pokarmowej, reagująca na wprowadzenie diety eliminującej, bez potrzeby stosowania leków immunosupresyjnych – takie przypadki nie powinny być klasyfikowane jako IBD.

Jedną z metod diagnostycznych, które należy rozważyć u pacjentów z wymienionymi objawami, jest badanie histopatologiczne próbek tkanek pobranych w czasie endoskopii lub laparoskopii diagnostycznej. Zazwyczaj jednak takie działania są poprzedzone mniej inwazyjnymi testami, takimi jak badanie parazytologiczne, biochemiczne, badania obrazowe, a w części przypadków zastosowaniem diety eliminacyjnej lub leków przeciwpasożytniczych (2). Precyzyjne różnicowanie IBD/chłoniak LG jest niezwykle istotne z punktu widzenia rokowania, które jest ostrożne (mediana 416 dni; szansa na przeżycie roku – 59%, szansa na przeżycie 2 lat – 26%) dla kotów z chłoniakiem LG (mediana nie została ustalona; szansa na przeżycie roku – 84%, szansa na przeżycie 2 lat – 75%) dla pacjentów z IBD (1).

W jednym z badań dokonano szczegółowej charakterystyki dużej grupy – 300 kotów wykazujących objawy kliniczne wskazujące na przewlekłą chorobę jelita cienkiego (przewlekłe wymioty, biegunka, utrata masy ciała) z rozpoznaniem w badaniu ultrasonograficznym pogrubieniem ściany jelita cienkiego (6). Od każdego z pacjentów w trakcie laparotomii pobrano co najmniej trzy pełnościenne wycinki z różnych części jelita cienkiego i poddano badaniu

Low grade intestinal lymphoma/lymphocytic enteritis in cats – diagnostic dilemmas

Sapieryński R., Department of Pathology and Veterinary Diagnostics, Institute of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

Lymphoma is the most common alimentary tumor in cats. In comparison to human pathology, just few histoclinical types of tumors were established in felines: type 1 EATL (enteropathy-associated T-cell lymphoma), composed of large, blastic T lymphocytes and type 2 EATL composed of small and medium, monomorphic T lymphoid cells (low grade lymphoma), less common, large B cell lymphomas and large granular lymphomas. In many cases diagnosis of intestinal lymphoma is easy, but differentiation between enteritis and type 2 EATL can be problematic. Histopathology of full-thickness intestinal wall samples, supported by immunohistochemistry is crucial for diagnosis, however, molecular techniques, including PCR for antigen receptor rearrangement (PARR), can also be very helpful. Unfortunately, not in every case the distinct diagnosis can be established.

Keywords: alimentary lymphoma, cat, diagnosis, inflammatory bowel disease.

histopatologicznemu. U części kotów (kiedy było to konieczne do sprecyzowania rozpoznania) przeprowadzono też barwienie immunohistochemiczne dla oceny immunofenotypu komórek nacieku limfocytarnego oraz badanie metodą PARR (PCR w kierunku rearanżacji receptora antygenowego) dla oceny klonalności rozrostu (6). W badaniu wykazano nieznaczną przewagę przewlekłego zapalenia jelita (52%), nad chłoniakiem jelita (43%), stwierdzono też, że zarówno charakterystyka objawów klinicznych, jak i badanie ultrasonograficzne nie pozwalają na różnicowanie pomiędzy IBD i chłoniakiem LG (6).

Pod pojęciem **chłoniaka jelitowego** (pokarmowego) kryją się te przypadki chłoniaków, które wywodzą się z tkanki limfatycznej błony śluzowej żołądka i/lub jelit lub te, w których przewód pokarmowy jest głównym miejscem występowania nacieku nowotworowego, co skutkuje pojawieniem się objawów klinicznych wskazujących na taką lokalizację choroby. Chłoniaki to jedno z najczęściej występujących nowotworów u kotów, są to najpowszechniejsze zmiany rozrostowe jelita u tego gatunku, i jak w każdej lokalizacji mogą one wywodzić się z limfocytów T, limfocytów B lub limfocytów ani-B, ani-T. W przeszłości u kotów dominowały jelitowe chłoniaki B-komórkowe, obecnie jednak ten immunofenotyp chłoniaków występuje rzadziej (2), jak się wydaje przynajmniej po części może to być konsekwencja zmniejszenia częstości zakażeń wirusem białaczki kotów. Prawdopodobne jest też, że dzięki wprowadzeniu dodatkowych metod diagnostycznych

(immunofenotypowanie, ocena klonalności) oraz preferowaniu badania pełnościennych wycinków jelita zamiast endoskopowych biopciatów samej śluzówki zwiększyła się wykrywalność przypadków chłoniaków o niskiej złośliwości, które w przeszłości były klasyfikowane jako ciężkie postaci zapalenia limfocytarnego jelita (7). Z patologii medycznej do patologii weterynaryjnej zapożyczono termin enteropatii powiązanej z chłoniakiem T-komórkowym (EATL – enteropathy-associated T-cell lymphoma), która może przyjmować dwie formy, jako EATL typu 1 (charakteryzuje się naciekiem dużych blastycznych komórek, często z towarzyszącą martwicą i naciekiem zapalnym) lub jako EATL typu 2 (charakteryzuje się naciekiem utworzonych z małych i średniej wielkości limfocytów, bez owrzodzenia i bez odczynowego zapalenia).

Błona śluzowa jelita kotów jest zasiedlana przez liczne komórki immunokompetentne, tworzące tkankę limfatyczną błon śluzowych (MALT – mucosa-associated lymphoid tissue), z których limfocyty T stanowią prawie wszystkie limfocyty śród nabłonkowe i dominującą populację (około 90% komórek) limfocytów blaszki właściwej błony śluzowej. Wobec powyższego nie może dziwić fakt, że zdecydowana większość chłoniaków jelitowych u kotów to nowotwory wywodzące się z limfocytów T. Jak się wydaje, jelitowe chłoniaki T-komórkowe wywodzą się ze śród nabłonkowych limfocytów T $\alpha\beta$, przy czym EATL typu 1 powstają z limfocytów blastycznych, a EATL typu 2 z bardziej dojrzałych lub dojrzałych postaci tych limfocytów.

Według niedawno opublikowanych badań dominującym typem chłoniaków jelitowych u kotów są chłoniaki limfocytarne z dojrzałych limfocytów T (odpowiadają one EATL typ 2) – stanowią one około 75% chłoniaków jelitowych u kotów (8). Rzadziej rozpoznaje się chłoniaki z dużych limfocytów T naciekających całą grubość ściany jelita lub tworzących struktury guzowate (EATL typu 1), a najrzadszą formą są chłoniaki utworzone z dużych ziarnistych limfocytów (z limfocytów T cytotoksycznych lub z limfocytów NK). Kolejną grupą chłoniaków przewodu pokarmowego u kotów są chłoniaki z dużych limfocytów B (najczęściej rozlane chłoniaki centroblastyczne lub immunoblastyczne). W przypadku tych ostatnich, jak i chłoniaków z dużych limfocytów T oraz chłoniaków z limfocytów ziarnistych objawy kliniczne mają bardziej drastyczny przebieg i wynikają albo z pojawienia owrzodzenia guza, albo są konsekwencją zablokowania pasaży jelitowego, gdy guz osiągnie znaczne rozmiary. Zazwyczaj chłoniaki z tej grupy nie stanowią wyzwania diagnostycznego, a rozpoznanie często udaje się ustalić już na podstawie badania cytologicznego biopciatów pobranych w czasie biopsji cienkoigłowej przez powłoki brzusznej (3). Oprócz średnich i dużych rozmiarów komórek oraz obecności wyraźnych jąder, komórki chłoniaków z tej grupy charakteryzuje wysoka aktywność proliferacyjna, która przejawia się obecnością średniolicznych lub licznych figur mitotycznych, tak w preparatach histologicznych, jak i cytologicznych.

Idiopatyczne zapalenie jelit (IBD – idiopathic inflammatory bowel disease; zwane też inflammatory bowel disease – bez określenia idiopatyczne) jest jedną

z form zapalenia przewlekłego jelita charakteryzującą się występowaniem stałych lub nawracających objawów ze strony przewodu pokarmowego oraz naciekiem komórkowym zapalnym w błonie śluzowej. IBD jest procesem o podłożu immunologicznym, w który są prawdopodobnie uwikłane czynniki genetyczne oraz bakterie zasiedlające światło jelita chorych kotów. Często u chorych kotów obserwuje się nacieki zapalne także w innych narządach (głównie trzustka i wątroba; 3). Rozpoznanie IBD stawia się na podstawie wykluczenia wszelkich możliwych przyczyn zapalenia limfocytarnego i plazmocytarnego jelit, a badanie histopatologiczne służy w takich przypadkach do określenia charakteru (zapalenie limfocytarne, limfocytarno-plazmocytarne, eozynofilowe oraz inne) i nasilenia nacieku zapalnego (zapalenie o nasileniu łagodnym, umiarkowanym i ciężkim) oraz wykluczeniu chłoniaka, w szczególności chłoniaka limfocytarnego (chłoniak LG; 3).

Poważnym wyzwaniem diagnostycznym w przypadkach nacieków limfocytarnych w ścianie jelit może okazać się odróżnienie ciężkiej postaci idiopatycznego zapalenia limfocytarnego od chłoniaków T-komórkowych utworzonych z komórek małych. Dodatkowo różnicowanie to utrudnia fakt, że nacieki chłoniaka limfocytarnego mogą współistnieć z zapaleniem limfocytarnym oraz tym, że istnieje możliwość przejścia zapalenia limfocytarnego w chłoniaka limfocytarnego.

Aktualnie nie ma jednoznacznie określonych kryteriów różnicowania pomiędzy IBD a chłoniakiem LG.

Bardzo ważną implikacją powyższego jest to, że opisane problemy diagnostyczne w przypadkach nacieków limfocytarnych ściany jelita każą traktować z dużą ostrożnością wynik wcześniejszych badań, w których rozpoznawanie chłoniaków jelitowych z limfocytów małych opierało się jedynie na ocenie morfologicznej biopciatów ściany jelita, które nie obejmowały jej całej grubości, a jedynie warstwy powierzchniowej (7). Wysoce prawdopodobne jest, że określone w takich badaniach metody leczenia, ich efekty czy czynniki rokownicze dotyczące chłoniaków LG/IBD nie mogą być traktowane bezkrytycznie. Zapewne konieczne są dodatkowe badania obejmujące duże grupy kotów, u których rozpoznawanie zarówno IBD, jak i chłoniaków LG będzie opierało się o badanie pełnościennych wycinków jelita popartych przez dodatkowe testy diagnostyczne (immunofenotypowanie oraz ocena klonalności).

W badaniu obejmującym 63 koty z rozpoznaną przewlekłą chorobą jelita, u których zastosowano ocenę immunofenotypu za pomocą barwienia immunohistochemicznego oraz ocenę klonalności metodą PARR, w zależności od liczby użytych testów często weryfikowano wcześniejsze rozpoznania.

– Ocena dokonana jedynie w oparciu o rutynowe badanie histopatologiczne (ocena preparatów

hematoksylina-eozyna): 30% IBD i 59% chłoniaków T-komórkowych, 11% chłoniaków B-komórkowych.

- Ocena dokonana w oparciu o rutynowe badanie histopatologiczne i immunohistochemiczne: 23% IBD i 63% chłoniaków T-komórkowych, 13% chłoniaków B-komórkowych.
- Ocena dokonana w oparciu o rutynowe badanie histopatologiczne, immunohistochemiczne oraz PARR: 19% IBD i 68% chłoniaków T-komórkowych, 12% chłoniaków B-komórkowych.

53% (10 z 19) przypadków, które pierwotnie zostały rozpoznane jako IBD, po przeprowadzeniu barwienia immunofenotypowania za pomocą IHH i oceny klonalności metodą PARR zostało przeklasyfikowanych jako chłoniaki T-komórkowe.

8% (3 z 37) przypadków, które pierwotnie zostały rozpoznane jako chłoniak T-komórkowy, po przeprowadzeniu barwienia immunofenotypowania za pomocą IHH i oceny klonalności metodą PARR zostało przeklasyfikowanych jako IBD.

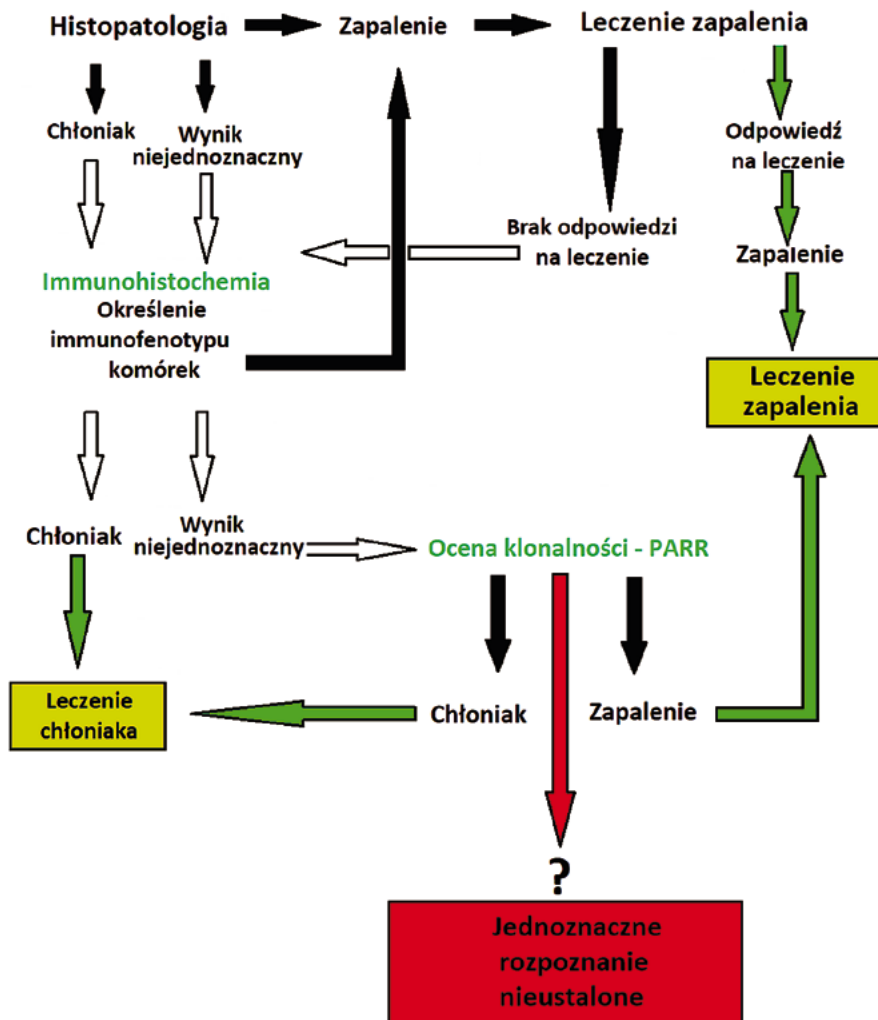
(ponowne badania materiału archiwalnego lub jego uzupełnienie o immunohistochemię lub/i PARR), szczególnie gdy wdrożone leczenie nie przynosi spodziewanego efektu. Co więcej, zapewne w niektórych przypadkach próba terapeutyczna musi być traktowana jako część postępowania diagnostycznego lub też konieczne może być ponowne pobranie materiału do badania histopatologicznego. Dodatkowo barwienie immunohistochemiczne powinno być traktowane jako barwienie obligatoryjne, dla tych przypadków, w których wyniki badania histologicznego nie są jednoznaczne, dlatego też kalkulacja kosztów diagnostyki już na początku powinna obejmować także koszt tego barwienia immunohistochemicznego.

Co istotne, możliwe jest, że cała procedura, która obejmuje także PARR, nie zakończy się uzyskaniem jednoznacznego rozpoznania, ale jedynie sugestią, że badany proces ma charakter zapalny lub nowotworowy (ryc. 1; 9).

Obraz kliniczny, obraz makroskopowy i badania obrazowe

Na uwagę zasługuje to, że w rozpoznawaniu przyczyny przewlekłych wymiotów/biegunki u kotów, u których podejrzewa się IBD/chłoniaka LG konieczne może być zweryfikowanie wcześniejszego rozpoznania

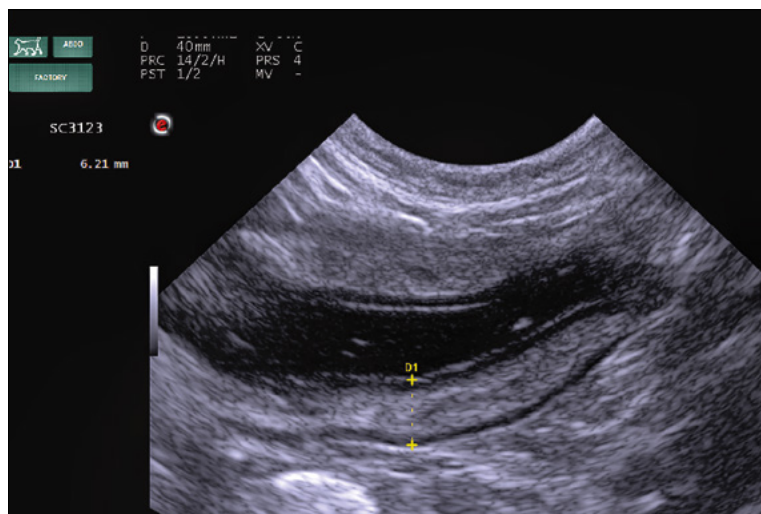
Chłoniaki o niskiej złośliwości oraz IBD obserwuje się z reguły u kotów w średnim wieku lub starszych (7,5–13-letnich), chociaż zapalenie pojawia się



Ryc. 1. Schemat (algorytm) postępowania diagnostycznego u kotów z naciekami limfocytarnymi jelita. Należy zwrócić uwagę, że w niektórych przypadkach nie zostanie określone jednoznaczne rozpoznanie, nawet gdy zastosuje się wszelkie możliwe testy diagnostyczne (opracowano na podstawie: Kiupel M., Smedley R.S., Pfent C., Xie Y., Xue Y., Wise A.G., de Vaul J.M., Maes R.K.: Diagnostic algorithm to differentiate lymphoma from inflammation in feline small intestinal biopsy samples. *Vet. Pathol.* 2011, **48**, 212–222)



Ryc. 2. Jednym z objawów klinicznych chorób naciekowych jelit jest znaczna utrata masy ciała, tak jak w przypadku Dodusia, 17-letniego kocura, z chłoniakiem limfocytarnym jelita cienkiego. U kota nie obserwowano wymiotów, sporadycznie zdarzała się biegunka, a podczas omacywania jamy brzusznej wyczuwalny był twardej wielkości śliwki



Ryc. 3. Badania obrazowe nie dają możliwości różnicowania pomiędzy chłoniakiem limfocytarnym i zapaleniem limfocytarnym, na rycinie obraz ultrasonograficzny jelita cienkiego ze zgrubieniem ściany (6,21 mm) – w badaniu histopatologicznym rozpoznano chłoniaka limfocytarnego

u osobników w różnym wieku, koty z chłoniakiem są zazwyczaj starsze niż te z zapaleniem (ryc. 2; 1, 2, 3, 4, 8). Nie wykazano jak dotąd predyspozycji płciowej czy rasowej dla chłoniaków jelitowych, z kolei zapalenie częściej obserwuje się u domowych kotów krótkowłosych, domowych kotów długowłosych, persów i kotów syjamskich (8). Wyniki badania klinicznego oraz bezpośrednia ocena makroskopowa błony śluzowej jelita wykonana w trakcie badania endoskopowego lub podczas laparotomii diagnostycznej nie pozwalają na różnicowanie między zapaleniem i chłoniakiem limfocytarnym (2). Zarówno u kotów z IBD, jak i chłoniakiem LG objawy kliniczne nie korespondują ani z nasileniem nacieku zapalnego/nowotworowego, ani z jego rozmieszczeniem w obrębie jelita.

Podobnie obraz ultrasonograficzny nie pozwala na odróżnienie IBD od jelitowej formy chłoniaka LG, w obu przypadkach obraz USG jelita objętego zmianami może być prawidłowy (choć zdarza się to nieco

częściej w przypadku zapalenia niż chłoniaka) lub też obserwuje się nieznaczne zgrubienie ściany jelita przy zachowanej strukturze warstwowej (częściej przy chłoniaku niż przy zapaleniu; 2). Niekiedy jednak, w dłuższych trwających przypadkach chłoniaka LG, zgrubienie ściany jelita może być znaczne i widoczne zarówno w badaniu RTG, jak i USG (ryc. 3). Powiększenie węzłów chłonnych w trakcie badania ultrasonograficznego jamy brzusznej obserwuje się zarówno u kotów z zapaleniem, jak i chłoniakiem jelita (1, 2, 7). Z kolei u kotów z chłoniakiem jelitowym o wysokiej złośliwości zazwyczaj stwierdza się zgrubienie ściany, niekiedy masywne i guzowate, połączone z utratą struktury warstwowej (1, 2, 7).

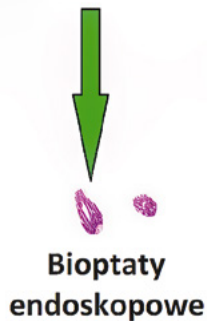
Jednym z czynników, które należy brać pod uwagę w przypadku różnicowania IBD/chłoniak LG jest odpowiedź terapeutyczna na leczenie przeciwzapalne. W przypadku gdy pełna diagnostyka niezbędna do takiego różnicowania nie może z różnych powodów być wdrożona, wprowadza się leczenie ukierunkowane na idiopatyczne zapalenie jelita, a brak spodziewanej odpowiedzi skłania lekarza do zmiany rozpoznania w kierunku chłoniaka. Niestety, takie postępowanie może utrudnić postawienie prawidłowego rozpoznania w przyszłości, dlatego też gdy planuje się pobranie materiału do badania histopatologicznego od kotów z IBD/chłoniakiem LG, należy odstąpić od podawania jakichkolwiek leków, które mogą zmieniać obraz histopatologiczny (leki przeciwzapalne, szczególnie glikokortykosteroidy mogą zmniejszać nasilenia i zasięg nacieku zapalnego) i być przyczyną błędnej diagnozy.

Badanie cytologiczne

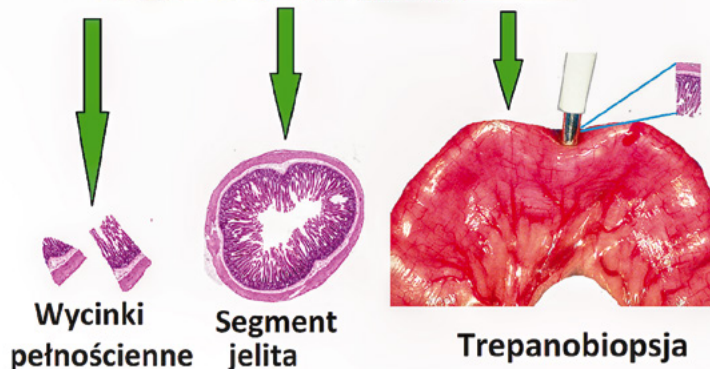
Badanie cytologiczne biopłatów cienkoigłowych w wielu przypadkach pozwala na rozpoznanie chłoniaka o wysokiej złośliwości (chłoniaki z dużych limfocytów oraz chłoniaki z limfocytów ziarnistych), jednak zazwyczaj bywa niewystarczające do rozpoznania chłoniaka LG i różnicowania tych ostatnich z przypadkami IBD (10). W badaniach przeprowadzonych u psów wykazano, że ocena cytologiczna materiału pobranego w trakcie badania endoskopowego jelita (materiał stanowiły rozciery biopłatów śluzówki jelita) charakteryzuje się dużą przydatnością w różnicowaniu pomiędzy zapaleniem limfocytarno-plazmocytnym a chłoniakiem, a także miała ona dużą wartość prognostyczną (11). Inaczej sprawa wygląda u kotów, w badaniu obejmującym przypadki zmian naciekowych limfocytarnych jelita u tego gatunku zgodność badania cytologicznego (materiał do badań stanowiły rozciery biopłatów endoskopowych śluzówki dwunastnicy) oceniono na umiarkowaną (1, 10). Generalnie badanie to charakteryzowało się niską lub umiarkowaną czułością (60–34%), ale dość wysoką specyficznością (87–90%), jednak nie wydaje się, aby badanie to dawało jakieś dodatkowe korzyści jako dopełnienie do badania histopatologicznego (1, 10). Pobranie wartościowego materiału do badania cytologicznego ze zmienionej naciekowo ściany jelita może być trudne, po pierwsze ze względu na stosunkowo niewielkie rozmazy zmiany, a po drugie stosunkowo dużą spoistość nacieku, co uniemożliwia aspirowanie

Pobieranie materiału do badania mikroskopowego

Endoskopia



Laparotomia diagnostyczna



Ryc. 4. Metody pobierania materiału do badania histopatologicznego z jelita w przypadku podejrzenia chłoniaka/IBD (opis w tekście)

dostatecznej liczby komórek. Ponadto, badanie cytologiczne nie daje informacji odnośnie do architektury tkankowej oraz odnośnie do lokalizacji nacieku w obrębie ściany jelita, co może być kluczowe dla rozpoznania (patrz niżej). Za chłoniakiem może przemawiać monotonna populacja małych limfocytów z niewielkimi blastami, z kolei obecność w materiale plazmacytów, dość licznych blastów i innych komórek nacieku zapalnego sugeruje zapalenie – niestety wynik oceny cytologicznej zawsze należy traktować tylko jako przesłankę i powinien być on poparty badaniem histopatologicznym.

Badanie histopatologiczne

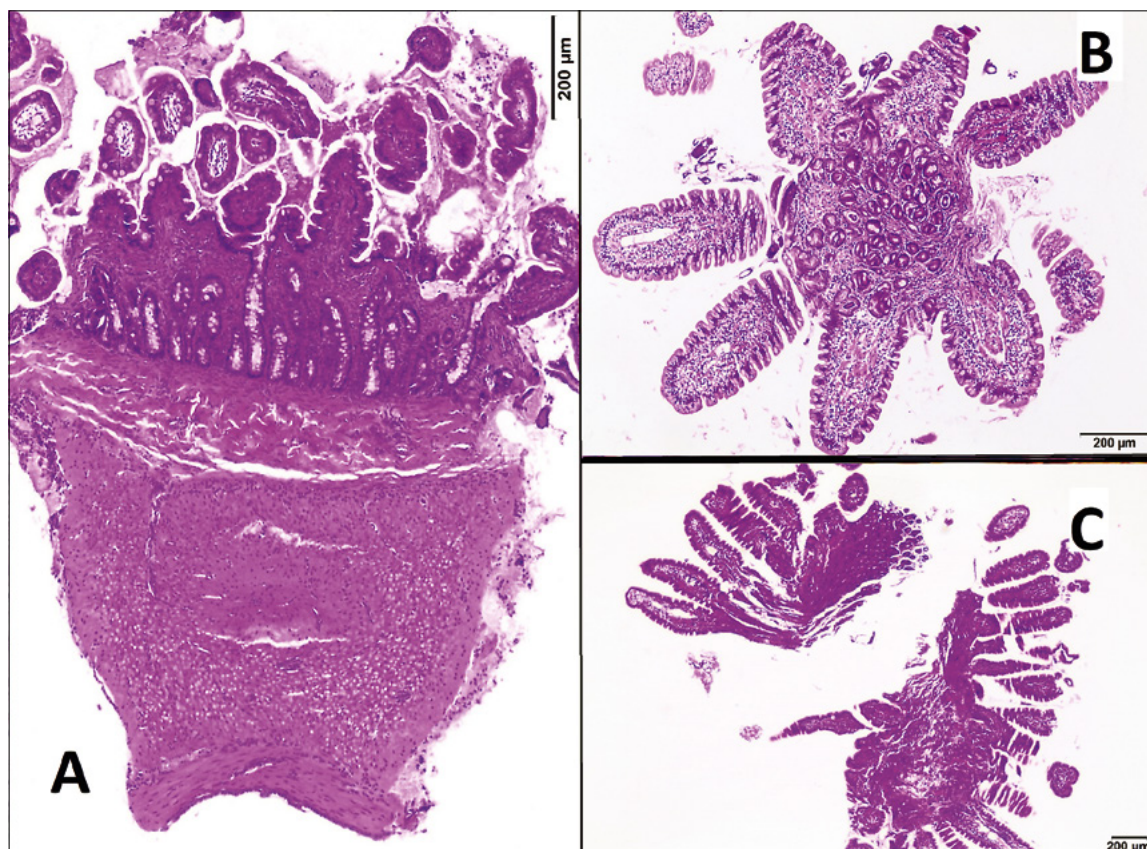
Podstawą rozpoznania i odróżniania poszczególnych limfocytarnych zmian naciekowych jelita jest badanie histopatologiczne tkanek pobranych z jelita objętego zmianami morfologicznymi, z reguły także z powiększonego węzła chłonnego krezkowego. Materiał do badania histopatologicznego można pobrać w trakcie biopsji endoskopowej lub chirurgicznej (ryc. 4).

Biopsja endoskopowa

Pozwala na uzyskanie małych fragmentów błony śluzowej jelita, niekiedy obejmujące warstwę podśluzową, a w wyjątkowych przypadkach także górne obszary błony mięśniowej. Endoskopia umożliwia bezpośrednią ocenę morfologiczną śluzówki i pobranie próbek ze zmian o wyraźnych zmianach struktury morfologicznej. Niestety, nie cały przewód pokarmowy jest dostępny endoskopowo – zazwyczaj udaje się pobrać wycinki z żołądka, dwunastnicy, okrężnicy i odbytnicy, trudniejsze jest pobranie wycinków śluzówki jelita czczego (jedynie odcinek początkowy)

oraz biopłatów jelita biodrowego (w tym przypadku pacjent musi być specjalnie przygotowany, a u małych kotów może być niemożliwe wprowadzenie endoskopu przez ujście biodrowo-okrężnicze do jelita biodrowego – w tym przypadku endoskop wprowadza się przez odbyt; 9). Zarówno chłoniak, jak i zapalenie jelita rzadko są obserwowane w dwunastnicy kotów (2), z kolei w przypadku badania endoskopowego jelita biodrowego materiał często pobiera się na ślepo (w jednym z badań nie było możliwe ze względów technicznych pobranie próbki pod kontrolą wzziernika; 4). Szansa na rozpoznanie chłoniaka LG zmienia się w zależności od tego, który odcinek jelita poddano badaniu, w przypadku biopsji endoskopowej badanie biopłatów z dwunastnicy jest często niewystarczające do rozpoznania chłoniaka, gdyż proces jest wykrywalny tylko w biopłatach pobranych z jelita biodrowego (4).

Istotną rolę dla możliwości uzyskania wiarygodnego rozpoznania ma przy tej metodzie uzyskanie próbek dobrej jakości (jej wielkość, orientacja, obecność artefaktów – np. zmiażdżenie próbki kleszczykami). Rozpoznanie można uznać za wiarygodne wtedy, gdy pobrano wystarczającą próbkę o prawidłowej orientacji (ryc. 5). Za próbkę wystarczającą uznaje się taką, w której zawarte są co najmniej trzy nieuszkodzone kosmki jelitowe, blaszka właściwa błony śluzowej sięgająca aż do blaszki mięśniowej (z lub bez blaszki mięśniowej). Jeżeli próbka zawiera przynajmniej jeden nieuszkodzony kosmek jelitowy oraz niecałkowitą grubość blaszki właściwej błony śluzowej i nie sięga do blaszki mięśniowej, określa się ją jako marginalną (ryc. 5B). Jeżeli zaś próbka zawiera jedynie kosmki jelitowe lub blaszkę właściwą błony śluzowej, określa się ją jako niewystarczającą (ryc. 5C; 12). Na możliwość rozpoznania wpływa też doświadczenie



Ryc. 5. W zależności od metody pobrania, próbki jelita pobrane do badania histopatologicznego mogą mieć różną jakość, od pełnowartościowych wycinków obejmujących całą grubość ściany jelita (ryc. A), poprzez próbkę o umiarkowanej przydatności (ryc. B), która zawiera kilka kosmków jelitowych i fragment blaszki właściwej, do próbki o małej przydatności (ryc. C), w której są wprawdzie obecne dość liczne kosmki jelitowe, ale blaszka właściwa jest skąpa i w dodatku jej struktura jest nieczytelna z powodu artefaktów związanych ze zmiążdżeniem kleszczykami w trakcie biopsji

operatora (w przypadku niedoświadczonego operatora niewystarczające próbki uzyskano w 26% badań endoskopowych) oraz sprzęt użyty do pobrania próbki. Zwiększenie szansy na pobranie dobrej jakości wycinków śluzówki jelita daje zastosowanie kleszczyków o większych rozmiarach (2,4 mm), w porównaniu do kleszczyków mniejszych (1,8 mm) standardowo używanych u kotów (12). Stwierdzono także, że pobranie próbek przy użyciu większych kleszczyków nie jest technicznie trudniejsze, chociaż u niektórych pacjentów mogą się pojawić problemy z pobraniem próbek dobrej jakości. Wydaje się także, że wielkość kleszczyków użytych do pobrania wycinków śluzówki dwunastnicy nie ma tak dużego znaczenia przy rozpoznawaniu chłoniaków jelitowych (12), jednak nie wiadomo, czy odnosi się to także do chłoniaków LG, czy tylko do chłoniaków z komórek dużych.

W każdym przypadku do badania należy pobrać liczne biopaty [w badaniach Bottero i wsp. (12) pobierano średnio 5–12 próbek z dwunastnicy, średnio 6 próbek z jelita czczego; w badaniach Scott i wsp. (4) pobierano średnio 5 próbek śluzówki dwunastnicy], dlatego że nie zawsze biopat ma jakość wystarczającą do oceny, a ponadto zmiany mogą mieć różne nasilenie w różnych fragmentach badanego jelita. Według niektórych autorów przewagą biopsji endoskopowej jest stosunkowo mała inwazyjność metody, jednak uwzględniając fakt, że może ona być niediagnostyczna i może być konieczność jej powtórzenia (kolejne znieczulenie i dodatkowy koszt) nie jest to już takie oczywiste.

Badania Scott i wsp. (4) wykazały także, że rozpoznanie może różnić się w zależności od miejsca pobrania próbki, tzn. przykładowo gdy materiał pobiera się z dwunastnicy, rozpoznanie jest „norma” lub „zapalenie”, ale już pobranie od tego samego kota biopatów z jelita biodrowego wykazuje obecność obrazu typowego dla chłoniaka LG – generalnie zgodność wyników badania biopatów dwunastnicy i jelita biodrowego oceniono w tej pracy jako słabą (4). Co więcej, w części przypadków nie da się określić jednoznacznego rozpoznania, a proces naciekowy jelita zostaje w takich przypadkach określony co najwyżej jako „prawdopodobny chłoniak z komórek małych” (4). W przypadku stosowania tej metody pobrania materiału do badania histopatologicznego/immunohistochemicznego generalnie szansa na uzyskanie jednoznacznego rozpoznania i różnicowania chłoniak LG/zapalenie nie jest wysoka.

W świetle dostępnych informacji wydaje się, że biopaty błony śluzowej jelita pobrane w trakcie badania endoskopowego mogą być niewystarczające do postawienia rozpoznania chłoniaka z małych limfocytów, wiele z przypadków chłoniaków może być rozpoznawanych w badaniu histopatologicznym jako zapalenie limfocytarne (1). Co więcej, w ostatnio opublikowanych badaniach wykazano, że kryteria oceny histopatologicznej opracowane przez WSAWA (World Small Animal Veterinary Association) do oceny błony śluzowej jelita mogą wymagać weryfikacji (13). W badaniu tym stwierdzono bowiem, że stosując omawiane

kryteria do oceny wycinków endoskopowych błony śluzowej dwunastnicy pobranych od kotów klinicznie zdrowych, możliwe jest błędne rozpoznanie IBD lub L chłoniak LG (wyniki fałszywie dodatnie). Nacieki limfocytarne błony śluzowej jelita stwierdzono u wszystkich z 20 badanych kotów, przy czym u połowy z nich naciek został określony jako łagodny lub umiarkowany, a u dwóch pacjentów rozpoznano chłoniaka LG (13). Co znamienne, u 17 z tych 20 kotów w trakcie długookresowej obserwacji (trwającej od 219 do 869 dni) nie stwierdzono objawów klinicznych sugerujących przewlekłą chorobę przewodu pokarmowego, co sugeruje, że obecność nacieków limfocytnym nawet o znacznym nasileniu dwunastnicy u kotów może być zjawiskiem fizjologicznym (13). Z drugiej strony zastosowanie IHH i PARR do oceny histologicznej zwiększa szanse postawienia prawidłowego rozpoznania w biopsjach błony śluzowej pobranych w trakcie endoskopii (9).

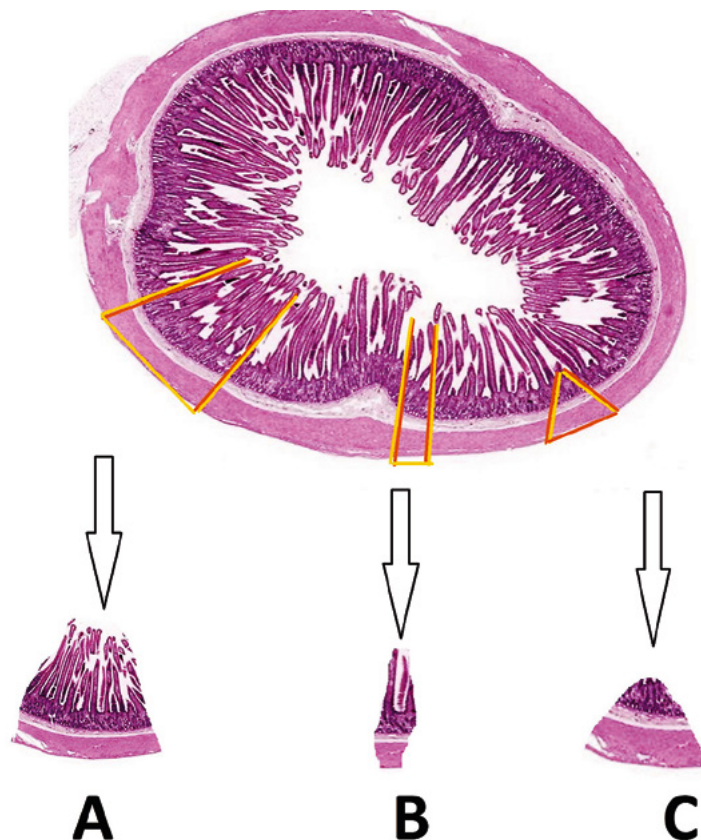
Obecność nacieków limfocytnym nawet o znacznym nasileniu dwunastnicy u kotów może być zjawiskiem fizjologicznym i nie musi świadczyć o zapaleniu.

Biopsja chirurgiczna: wycinek ściany jelita, wycinek segmentu jelita lub trepanobiopsja

Zdecydowanie większą wartość diagnostyczną mają pełnościennie wycinki obejmujące całą grubość ściany jelita (ryc. 5A), a szczególnie wycinki segmentu zajętego jelita, dlatego że (jak to opisano poniżej) jednym z podstawowych parametrów różnicowania jest obecność nacieku poniżej błony śluzowej, szczególnie jej obecność w błonie surowiczej (14). Jednak z uwagi na fakt, że zarówno IBD, jak i chłoniak LG nie zawsze w jednoznaczny sposób zmieniają wygląd makroskopowy jelita i zmiany mogą być wieloogniskowe, niekiedy konieczne jest pobranie więcej niż jednej próbki w czasie zabiegu laparotomii diagnostycznej. W czasie zabiegu, gdy pobiera się wycinek ściany jelita, trzeba dołożyć starań, żeby był on odpowiedniej wielkości, a cięcie przeprowadzono w odpowiedni sposób. Próbkę powinna obejmować wszystkie warstwy ściany jelita, w tym minimum 5–10 kosmków jelitowych, w przypadku trepanobiopsji sugerowane jest użycie większych trepanów (6 mm). Do najczęściej popełnianych błędów w czasie tej procedury chirurgicznej należą zbyt mała wielkość próbki oraz pobranie próbki klinowej, która obejmuje głównie warstwy zewnętrzne (błona surowicza i błona mięśniowa), a zawiera znikomą ilość błony śluzowej (ryc. 6). Wycinek pobiera się po stronie jelita przeciwległej do przyczepu krezki. Zawraczaj w trakcie laparotomii pobiera się też wycinki węzłów chłonnych krezkowych, o ile są one powiększone lub w inny sposób zmienione makroskopowo.

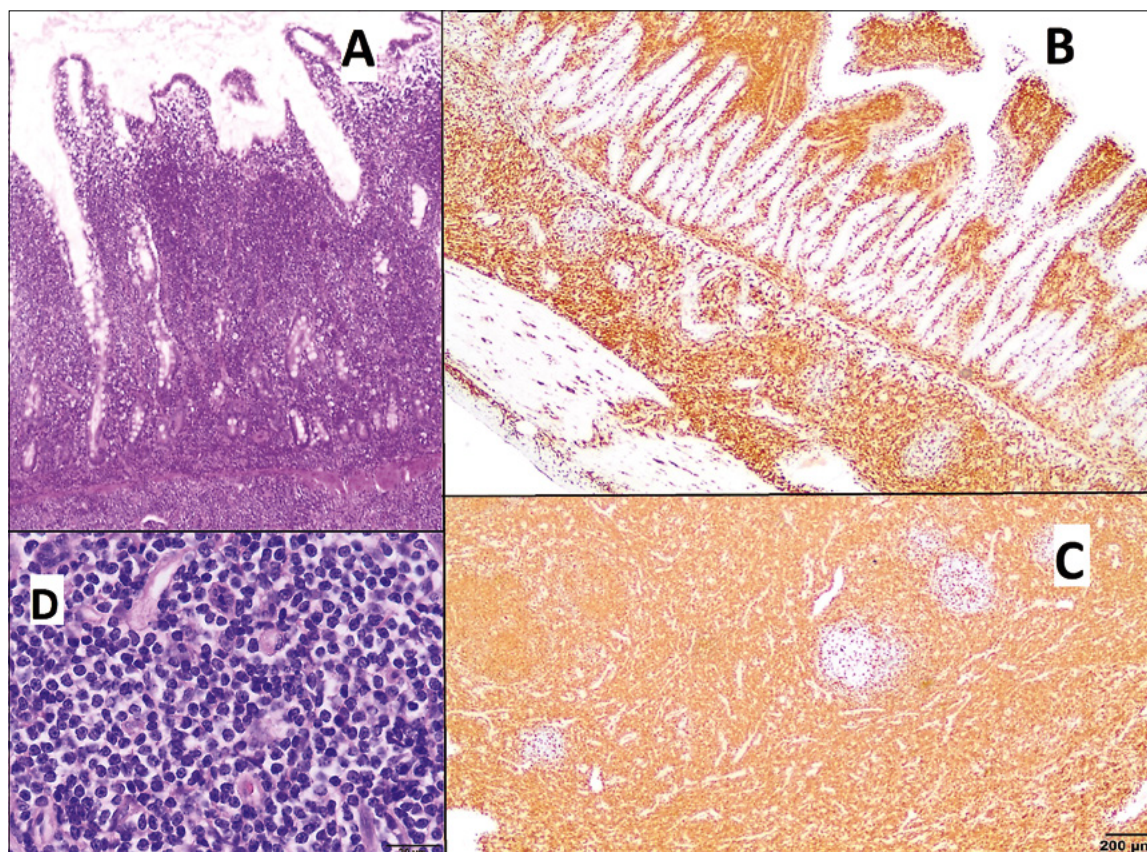
Barwienie rutynowe

Według kryteriów stosowanych w przeszłości, rozpoznanie chłoniaka limfocytnego stawiano na podstawie stwierdzenia monomorficznej populacji komórek

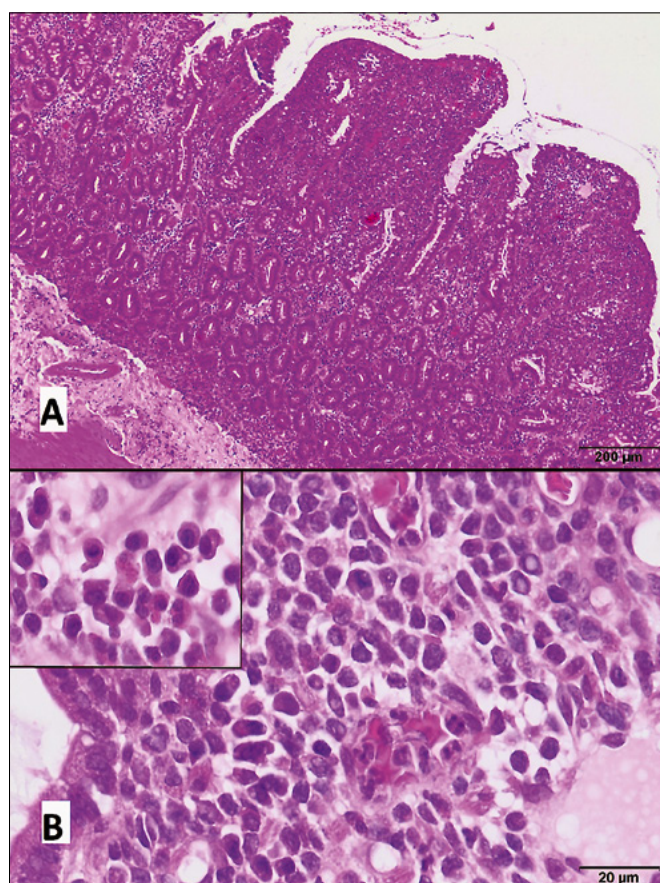


Ryc. 6. Schemat obrazujący możliwe sposoby pobierania wycinków ściany jelita w trakcie biopsji chirurgicznej. Wycinek A charakteryzuje się dużą przydatnością diagnostyczną, zawiera bowiem szeroki fragment obejmujący wszystkie warstwy ściany jelita – w trakcie pobierania wycinka należy dołożyć wszelkich starań, aby pozyskać taką właśnie próbkę. Wycinek B zawiera wprawdzie wszystkie warstwy ściany jelita, ale jest bardzo wąski, toteż rozpoznanie w takiej sytuacji może być utrudnione. Wycinek C to tzw. wycinek klinowy, który także zawiera wszystkie warstwy ściany jelita, ale tylko minimalną ilość błony śluzowej – taki sposób pobrania wycinka widuje się często na szkiełkach histologicznych, niekiedy przesłany wycinek zawiera jedynie mięśniówkę jelita!

limfoidalnych (jednolita populacja małych dojrzałych limfocytów), bez obecności plazmocytów, która powodowała zgrubienie, skrócenia oraz zlewanie się sąsiednich kosmków jelitowych, z poszerzeniem przestrzeni pomiędzy kryptami jelitowymi, z lub bez zajęcia błony podśluzowej, z nasilonym epiteliotropizmem (ryc. 7; 1, 4). Z kolei naciek ograniczony do błony śluzowej, w którym obserwuje się oprócz limfocytów także mniej lub bardziej liczne plazmocyty oraz komórki limfoidalne blastyczne przemawia za zapaleniem limfocytnym (lub limfocytno-plazmocytarnym; ryc. 8). Obecność nacieku monomorficznego limfocytnego obserwuje się także jednak w przypadku zapalenia limfocytnego, a z drugiej strony w niektórych przypadkach chłoniaków nacieki limfocytny ma charakter polimorficzny (obecne są w nacieku komórki blastyczne i plazmocyty; 9). Choć aktywność proliferacyjna komórek chłoniaka LG jest wyższa niż ta, którą widuje się w przypadku nacieku zapalnego, to ten parametr też nie pozwala na różnicowanie IBD/chłoniak LG (9). Ważnym parametrem histologicznym przemawiającym za chłoniakiem w barwieniu rutynowym jest rozmieszczenie nacieku limfocytnego w obrębie ściany jelita – nacieki komórkowy zlokalizowany poniżej błony śluzowej



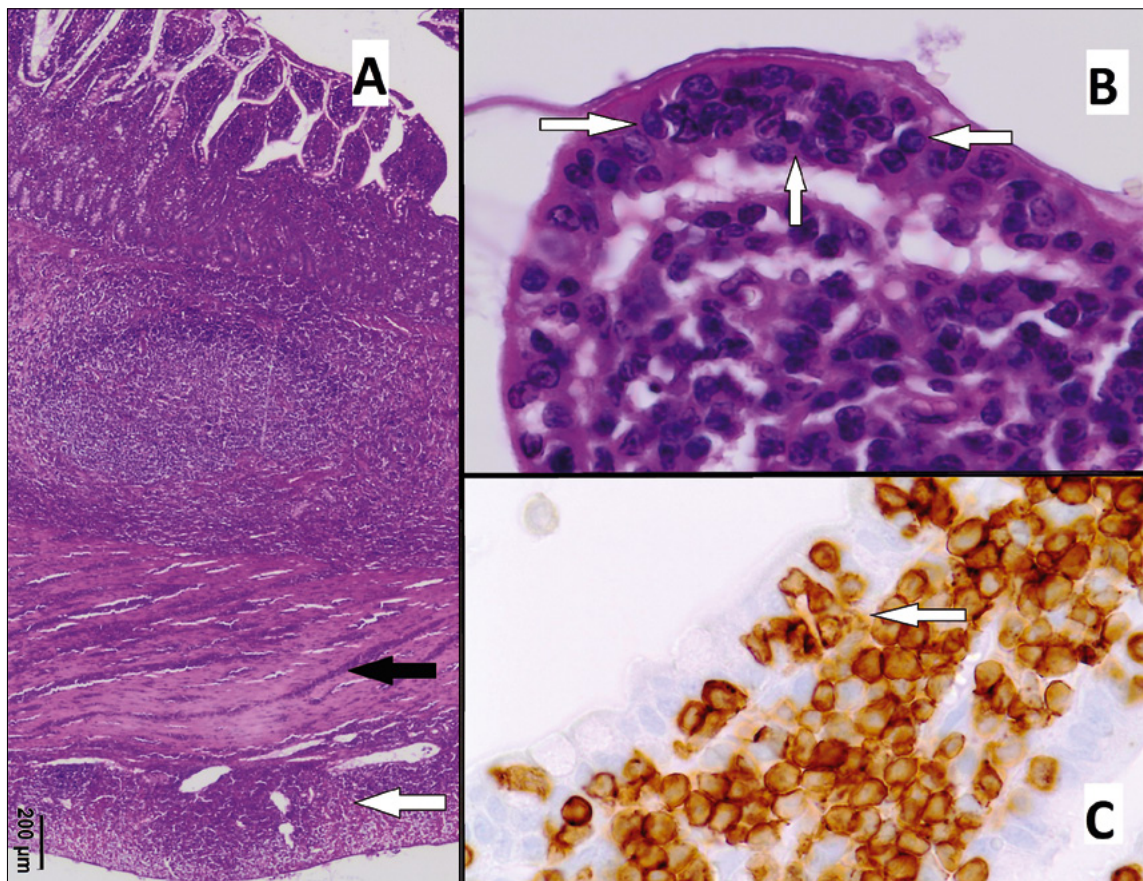
Ryc. 7. Obraz histopatologiczny chłoniaka limfocytarnego jelita cienkiego kota. Na rycinie A widoczny skrawek zabarwiony metodą hematoksylina-eozyna, który ukazuje gęsty monomorficzny naciek limfocytów w błonie śluzowej oraz poniżej blaszki mięśniowej w błonie podśluzowej. Na rycinie B i C wynik barwienia immunohistochemicznego z użyciem przeciwciał anti-CD3 – brązowa barwa cytoplazmy komórek nacieku ukazuje, że zdecydowana większość limfocytów to limfocyty T (na rycinie C widoczne nieliczne grudkowate skupiska niewybarwionych limfocytów – są to pozostałości grudek chłonnych utworzonych z limfocytów B). Na rycinie D duże powiększenie ukazujące monotonną pod względem morfologicznym populację małych limfocytów T



(naciek obejmujący błonę podśluzową i warstwę mięśniową, a szczególnie błonę surowiczą; **ryc. 9A**) – w jednym z badań w każdym przypadku, gdy naciek limfocytarny był widoczny w błonie podsurowiczej, rozpoznano chłoniaka (swoistość 100%; 9). Z drugiej strony naciek widoczny jedynie w górnych warstwach ściany jelita możliwości chłoniaka nie wyklucza – jedynie 59% chłoniaków T-komórkowych przebiegało z naciekiem warstwy mięśniowej ściany jelita.

Epiteliotropizm (obecność limfocytów śród nabłonkowych) jest innym parametrem uwzględnianym w różnicowaniu ID/ chłoniak LG. O ile wzrost liczby limfocytów śród nabłonkowych w nabłonku powierzchniowym widoczny jest zarówno w przypadkach zapalenia i chłoniaków, to już obecność gniazd limfocytów (pięć lub więcej limfocytów w skupisku; **ryc. 9B**) częściej obserwowano przy chłoniaku (różnica istotna statystycznie), a obecność płytek limfocytarnych (skupiska limfocytów obejmują pięć i więcej kolejnych enterocytów) obserwowana już tylko w przypadku chłoniaków, a nie widywano ich u kotów z IBD (9). Podobnie nasilenie epitheliotropizmu w obrębie krypt było większe u kotów z chłoniakiem T-komórkowym – gniazda i płytki limfocytarne obserwowano jedynie w nabłonku krypt jelitowych kotów z chłoniakiem T-komórkowym, a nie

Ryc. 8. Obraz histopatologiczny limfocytarnego zapalenia jelita u kota. Na rycinie A widoczny dość gęsty naciek komórkowy zapalny ograniczony do błony śluzowej, z kolei na rycinie B i we wstawce widoczne duże powiększenie wybranych obszarów błony śluzowej jelita, gdzie w nacieku widoczne są także plazmocyty – taki obraz histologiczny zdecydowanie przemawia za zapaleniem, a nie za chłoniakiem



Ryc. 9. Obraz mikroskopowy ukazujący cechy histologiczne za typowe dla chłoniaka limfocytarnego T komórkowego. Na rycinie A widoczny fragment przekroju przez segment jelita cienkiego, zabarwiony metodą hematoksylina-eozyna, w którym widoczna jest cała grubość ściany jelita. Na szczególną uwagę zasługuje tu obecność nacieku limfocytarnego pomiędzy wiązkami mięśniowymi w warstwie mięśniowej ściany jelita (czarna strzałka) oraz w błonie podsurowiczej (biała strzałka). Co ciekawe, w centrum obrazu, w błonie podśluzowej znajduje się duża grudka chłonna (siedlisko limfocytów B) – prawidłowa struktura jelita. Na rycinie B widoczne jest duże skupisko limfocytów śród nabłonkowych (ograniczone białymi strzałkami, epiteliotropizm). Na rycinie C, dzięki barwieniu immunohistochemicznemu z użyciem przeciwciał anti-CD3, widać wyraźnie, że wszystkie limfocyty naciekające widoczny kosmek jelitowy, razem z limfocytami śród nabłonkowymi (jedno skupisko oznaczone strzałką), to limfocyty T

obserwowano ich u pacjentów z zapaleniem lub chłoniakiem B-komórkowym.

Do parametrów histologicznych, które charakteryzowały się 100% specyficznością dla chłoniaka, w porównaniu do zapalenia jelita należały nacieki wewnętrzznacyniowe, naciek w błonie surowiczej, płytki limfocytarne w nabłonku powierzchniowym, gniazda i płytki limfocytarne w nabłonku krypt. Z kolei do parametrów histologicznych, które charakteryzowały się 100% specyficznością dla chłoniaka limfocytarnego T-komórkowego należały gniazda i płytki limfocytarne w nabłonku krypt.

Barwienie immunohistochemiczne

Immunofenotypowanie z zastosowaniem przeciwciał anti-CD3 i anti-CD79 α jest pierwszym badaniem dodatkowym, pomocnym w różnicowaniu IBD/chłoniak LG. Wydaje się, że stwierdzenie monotonnej pod względem immunofenotypu populacji limfocytów przemawia za chłoniakiem (ryc. 7B i 7C), w przypadku gdy populacja jest mieszana, bardziej prawdopodobne jest zapalenie limfocytarne. Niestety nie

określono jak dotąd, jaki odsetek komórek o danym immunofenotypie jest jednoznaczny wskaźnikiem chłoniaka lub IBD. Istotną zaletą barwienia immunohistochemicznego przeciwciałem anty CD3 jest to, że pozwala ono na potwierdzenie epiteliotropizmu komórek limfoidalnych, i precyzyjną oceną jego nasilenia (ryc. 9C), co, jak podano wyżej, jest jednym z parametrów rozpoznania chłoniaka (9). Należy też pamiętać, że monotonna pod względem immunofenotypu populacja komórek limfoidalnych może być obserwowana w przypadkach zapalenia jelita, a także stwierdza się ją w błonie śluzowej dwunastnicy kotów klinicznie zdrowych, które w ogóle nie wykazują objawów klinicznych sugerujących chorobę jelita, dlatego też wynik immunohistochemii zawsze musi być rozpatrywany w kontekście wyników innych testów, w tym przebiegu choroby i reakcji na stosowane leczenie (1, 9, 13).

Diagnostyka molekularna

Już od wielu lat procedurą, która może ułatwić różnicowanie pomiędzy IBD i chłoniakiem LG jest ocena klonalności rozrostu metodą PARR – ocena rearanżacji receptora antygenowego ciężkich łańcuchów Ig oraz receptora limfocytów gamma. Podstawa teoretyczna

stosowania tej metody wynika z faktu, że każdy limfocyt posiada unikalną konstrukcję receptora antygenowego gamma (T-cell gamma receptor, TCR – limfocyty T) lub miejsc wiążących antygeny we fragmentach zmiennych ciężkich łańcuchów immunoglobulin (immunoglobulin heavy chain – IgH; limfocyty B). Wobec powyższego istnieje uzasadnione przeświadczenie, że jeżeli populacja limfocytów jest populacją nowotworową (wywodzi się z jednej stransformowanej komórki – jest jednym klonem), to wszystkie komórki badanego rozrostu posiadają taką samą konstrukcję receptora antygenowego gamma (w przypadku limfocytów T) lub miejsc wiążących antygeny we fragmentach zmiennych immunoglobulin (w przypadku limfocytów B) – populacja monoklonalna. Jeżeli zaś naciek limfoidalny ma charakter zapalny (odczynowy), to w jego skład wchodzi kłony wielu różnych limfocytów (limfocyty posiadają antygeny o różnej konstrukcji) – populacja poliklonalna. Metoda PARR jest rzadko wymagana do rozpoznawania EATL typ 1 (chłoniaki blastyczne), ale bywa nieodzowna w procesie diagnostycznym EATL typ 2 (chłoniaki limfocytarne; 7, 15, 16).

Dużą zaletą tej metody jest możliwość jej wykonania w biopsjach cienkoigłowych, świeżych wycinkach tkankowych, wycinkach utrwalonych w formalinie, a także wycinkach zatopionych w parafinie (z bloczków parafinowych). Wyniki badania PARR nie są same w sobie wystarczające do różnicowania IBD/chłoniak LG, muszą uwzględniać także wyniki rutynowej histopatologii oraz immunofenotypowania w barwieniu immunohistochemicznym (1, 7, 16). Rozważając zlecenia badania PARR, należy uwzględnić możliwość wyników fałszywie ujemnych (chłoniak przy braku monoklonalności) lub fałszywie dodatnich (zapalenie w przypadku monoklonalności; 1). Szacuje się, że metoda PARR pozwala na wykrycie chłoniaka LG u 60–86% kotów z chłoniakiem (1, 16). Pośród potencjalnych przyczyn wyników fałszywie ujemnych należy wymienić wcześniejsze leczenie glikokortykosteroidami oraz fragmentację DNA w komórkach chłoniaka pod wpływem utrwalania w formalinie lub też współistnienie zapalenia limfocytarnego (1). Co ciekawe, monoklonalna populacja limfocytów może też być obserwowana u kotów, u których nie stwierdza się ani zapalenia, ani chłoniaka LG. W jednym z badań obecność monoklonalnej populacji limfocytów T sugerującej rozpoznanie chłoniaka LG w biopsjach śluzówki dwunastnicy stwierdzono u 12 z 20 klinicznie zdrowych kotów (13). Jedynie u 2 spośród tych 12 kotów w czasie długookresowej obserwacji rozwinęła się kliniczna enteropatia (utrata masy ciała, wymioty), która była powodem eutanazji po 295 i 654 dniach (13). U obu tych kotów badanie histopatologiczne wykonane w trakcie badania wskazywało na chłoniaka z małych limfocytów.

Wyjaśnieniem występowania wyników fałszywie ujemnych u kotów z EATL typu 2 (chłoniak limfocytarny T-komórkowy) może być zjawisko krzyżowej rearanżacji genów kodujących TCR i IgH, które było obserwowane w chłoniakach u ludzi, psów i kotów (15). W takich przypadkach badanie próbek tkankowych z podejrzeniem chłoniaka limfocytarnego

T-komórkowego wykrywa klonalną rearanżację IgH (nietyпова dla limfocytów T), a nie wykrywa klonalnej rearanżacji TCR (typowa dla limfocytów T), dlatego też w takim przypadku wykonanie analizy PARR jedynie dla genów TCR wskazuje na rozrost poliklonalny i „wyklucza” występowanie chłoniaka – wynik fałszywie ujemny. Dlatego też, jak zasugerowali Andrews i wsp. (15), w przypadku gdy wyniki badania histologicznego i immunohistochemicznego wskazują na chłoniaka LG T-komórkowego, a wyniki PARR dla TCR wskazują na rozrost poliklonalny, zasadne jest wykonanie PARR dla IgH. Autorzy ci wykazali występowanie takiej krzyżowej rearanżacji genów u 8,7% kotów z EATL typu 2, chociaż wydaje się, że może to być wartość niedoszacowana (15). Występowanie poliklonalnej rearanżacji TCR w chłoniakach T-komórkowych może być spowodowane współistniejącym zapaleniem z naciekiem limfocytów T w błonie śluzowej badanego jelita (15).

Badanie klonalności metodą PARR jest przydatną metodą różnicującą IBD/chłoniak LG, jednak wyniki muszą być interpretowane w oparciu o wyniki badania histopatologicznego i immunohistochemicznego.

Ostatnio opublikowano pracę, w której oceniono diagnostyczne zastosowanie metody PARR w ocenie klonalności rozrostów limfoidalnych u kotów (University of Colorado, Fort Collins, Department of Microbiology, Immunology and Pathology, College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences; 17). Oceniano rearanżację genów dla receptora antygenowego limfocytów gamma T (TRG) oraz genów kodujących części zmienne łańcuchów ciężkich immunoglobulin limfocytów B. Do badania użyto wyselekcjonowanych starterów do amplifikacji odpowiednich genów Ig i TRG. Badanie przeprowadzono na reprezentatywnej próbie rozrostów limfocytów B i T: chłoniaków B-komórkowych, chłoniaków T-komórkowych oraz przypadków kontrolnych bez stwierdzonego chłoniaka. Wykazano wysoką czułość (97%) i idealną specyficzność (100%) proponowanej metody PARR w wykrywaniu rozrostów T-komórkowych oraz wysoką czułość (87%) i wysoką specyficzność (98%) w wykrywaniu rozrostów B-komórkowych. Jest to wynik obiecujący, jednak musi być traktowany z ostrożnością jako możliwy do użycia do różnicowania IBD/chłoniak LG, ponieważ analizę przeprowadzono w nowotworach stosunkowo homogennych (np. białaczki limfocytarne, chłoniaków nerek), do analizy włączono też przypadki chłoniaków blastycznych i nie przeprowadzono dokładnej klasyfikacji histologicznej rozrostów (17). Wobec czego konieczne są badania, które obejmowałyby ocenę zastosowania tej procedury PARR w diagnostyce różnicowej chłoniak LG/IBD jelita u kotów.

Aktualnie różnicowanie IBD/chłoniak LG wymaga przeprowadzenia diagnostyki wielostopniowej, począwszy od badania histopatologicznego, następnie

immunofenotypowania, a w uzasadnionych przypadkach oceny klonalności np. metodą PARR oraz finalnie interpretacji wyników wszystkich tych badań. Żaden z wymienionych powyżej testów interpretowany bez uwzględnienia innych nie jest wystarczający do postawienia jednoznacznego rozpoznania.

Potencjalnym problemem z jelitowymi chłoniakami LG u kotów jest możliwość ich progresji w kierunku chłoniaków o wysokiej agresywności (large-cell lymphoma), co zdarza się w około 7–14% przypadków. W ostatnio opublikowanym badaniu taką progresję stwierdzono u 9,9% kotów, które poddano terapii z powodu chłoniaka z komórek małych (18). Średni okres, jaki minął od momentu rozpoznania chłoniaka limfocytarnego do chłoniaka blastycznego, wyniósł 543 dni, mediana okresu przeżycia od rozpoznania 615 dni, a mediana okresu przeżycia od momentu wykrycia progresji 24,5 dnia. Wyraźne różnice między „stadium” low grade i high grade odnotowano w parametrach uzyskanych w badaniu krwi, mianowicie wartość hematokrytu, stężenie albumin i stężenie białka całkowitego były niższe u pacjentów znajdujących się w „stadium” high grade, a klinicznie u takich pacjentów stwierdzono spadek masy ciała (18).

Inne możliwości różnicowania

W badaniach immunohistochemicznych błony śluzowej jelita wykazano istotną statystycznie różnicę w immunoekspresji białka Bcl-2 w limfocytach nacieku zapalnego jelita oraz komórkach chłoniaka, jednak generalnie nasilenie immunoekspresji Bcl-2 było wysokie w obu przypadkach, co niestety nie daje możliwości użycia tego markera jako parametru różnicującego IBD/chłoniak LG (19). W badaniach tych jednak nie stosowano oceny klonalności do klasyfikowania nacieku, a ponadto badanie obejmowało chłoniaki o różnych stopniach złośliwości. Jedynym istotnym wnioskiem, który płynie z tej pracy, jest to, że Bcl-2 może być potencjalnym punktem uchwytu do terapii celowanej u kotów z IBD, jak i z chłoniakiem (19). W badaniach oceniających nasilenie ekspresji mRNA genów kodujących MDR1 i COX-2 w biopsjach śluzówki dwunastnicy wykazano statystycznie istotne różnice pomiędzy kotami z rozpoznaniem IBD i chłoniakiem LG (wyższe nasilenie ekspresji mRNA dla MDR1 i COX-2 w przypadku chłoniaków; 20). Nie wykazano z kolei, aby ocena aktywności dehydrogenazy mleczanowej we krwi kotów z chorobami naciekowymi jelit umożliwiała różnicowanie pomiędzy zapaleniem limfocytarnym/IBD i chłoniakiem (2).

Piśmiennictwo

- Sabattini S., Bottero E., Turba M.E., Vicchi E., Bo S., Bettini G.: Differentiating feline inflammatory bowel disease from alimentary lymphoma in duodenal endoscopic biopsies. *J. Small Anim. Pract.* 2016, 57, 396–401.
- Terragni R., Morselli-Labate A.M., Vignoli M., Bottero E., Brunetti B., Saunders J.H.: Is serum total LDH evaluation able to differentiate between alimentary lymphoma and inflammatory bowel disease in real world clinical setting? *PLOSOne*, 17 March 2016; doi: 10.1371/journal.pone.015641.
- Jergens A.E.: Feline idiopathic inflammatory bowel disease: what we know and what remains to be unraveled. *J. Feline Med. Surg.* 2012, 14, 445–458.
- Scott K.D., Zoran D.L., Mansell J., Norby B., Willard M.D.: Utility of endoscopic biopsies of the duodenum and ileum for diagnosis of inflammatory bowel disease and small cell lymphoma in cats. *J. Vet. Intern. Med.* 2011, 25, 1253–1257.
- Jergens A.E., Crandell J.M., Evans R., Ackerman M., Miles K.G., Wang C.: A clinical index of disease activity in cats with chronic enteropathy. *J. Vet. Intern. Med.* 2010, 24, 1027–1033.
- Norsworthy G.D., Estep J.S., Hollinger C., Steiner J.M., Lavallee J.O., Gassler L.N., Restine L.M., Kiupel M.: Prevalence and underlying causes of histologic abnormalities in cats suspected to have chronic small bowel disease: 300 cases (2008–2013). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2015, 247, 629–635.
- Munady J.S., Lohr C.V., Kiupel M.: Tumors of the alimentary tract. W: Meuten D.J.: *Tumors in Domestic Animals*, 5th edit., Wiley Blackwell, Ames, 2017, 569–576.
- Paulin M., Couronne L., Beguin J., le Poder S. i wsp.: Feline low-grade alimentary lymphoma: an emerging entity and a potential animal model for human disease. *BMC Vet. Res.* 2018, 14, 36.
- Kiupel M., Smedley R.S., Pfent C., Xie Y., Xue Y., Wise A.G., de Vaul J.M., Maes R.K.: Diagnostic algorithm to differentiate lymphoma from inflammation in feline small intestinal biopsy samples. *Vet. Pathol.* 2011, 48, 212–222.
- Mangelsdorf S., Teske E., v Bomhard W., Stockhaus C.: Cytology of endoscopically obtained biopsies for the diagnosis of chronic intestinal diseases in cats. *Tierarztl. Prax. Ausg. K Kleintiere Heimtiere.* 2015, 43, 15–20.
- Maeda S., Tsuboi M., Sakai K., Ohno K., Fukushima K., Kanemoto H., Hiyoshi-Kanemoto S., Goto-Koshino Y., Chambers J.K., Yonezawa T., Uchida K., Matsuki N.: Endoscopic cytology for the diagnosis of chronic enteritis and intestinal lymphoma in dogs. *Vet. Pathol.* 2017, 54, 595–604.
- Bottero E., Mussi E., Pieramati C., De Lorenzi D., Silvestri S., Lepri E.: Comparison of 2 differently sized endoscopic biopsy forceps in the evaluation of intestinal disease in cats. *J. Vet. Intern. Med.* 2019, 33, 523–530.
- Marsilio S., Ackerman M.R., Lidbury J.A., Suchodolski J.S., Steiner J.M.: Results of histopathology, immunohistochemistry, and molecular clonality testing of small intestinal biopsy specimens from clinically healthy client-owned cats. *J. Vet. Intern. Med.* 5 February 2019, DOI: 10.1111/jvim.15455.
- Evans S.E., Bonczynski J.J., Broussard J.D., Han E., Baer K.E.: Comparison of endoscopic and full-thickness biopsy specimens for diagnosis of inflammatory bowel disease and alimentary tract lymphoma in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2006, 229, 1447–1450.
- Andrews C., Operacz M., Maes R., Kiupel M.: Cross lineage rearrangement in feline enteropathy-associated T-cell lymphoma. *Vet. Pathol.* 2016, 53, 559–562.
- Gress V., Wolfesberger B., Fuchs-Baumgartinger A., Nedorost N., Saalmüller A., Schwendenwein I., Rütgen B.C., Hammar S.E.: Characterization of the T-cell receptor gamma chain gene rearrangements as an adjunct tool in the diagnosis of T-cell lymphomas in the gastrointestinal tract of cats. *Res. Vet. Sc.* 2016, 107, 261–266.
- Rout E.D., Burnett R.C., Yoshimoto J.A., Avery P.R., Avery A.C.: Assessment of immunoglobulin heavy chain, immunoglobulin light chain, and T-cell receptor clonality testing in the diagnosis of feline lymphoid neoplasia. *Vet. Comp. Pathol.* 2019, doi: 10.1111/vcp.12767.
- Wright K.Z., Hohenhaus A.E., Verrilli A.M.: Feline large-cell lymphoma following previous treatment for small-cell gastrointestinal lymphoma: incidence, clinical signs, clinicopathologic data, treatment of a secondary malignancy, response and survival. *J. Feline Med. Surg.* 2019, 21, doi: 10.1177/1098612X18779870, first published June 7, 2018.
- Swanson C.M., Smedley R.C., Saavedra P.V., Kiupel M., Kitchell B.E.: Expression of the Bcl-2 apoptotic marker in cats diagnosed with inflammatory bowel disease and gastrointestinal lymphoma. *J. Feline Med. Surg.* 2012, 14, 741–745.
- Castro-López J., Teles M., Fierro C., Allenspach K., Planellas M., Pastor J.: Pilot study: duodenal MDR1 and COX2 gene expression in cats with inflammatory bowel disease and low-grade alimentary lymphoma. *J. Feline Med. Surg.* 2018, 8, 759–766.

Dr hab. Rafał Sapierzyński, prof. nadzw. SGGW, e-mail: sapieh@wp.pl