

Chłoniaki u psów. Część III. Czynniki genetyczne i prognostyczne w chłoniakach u ludzi i psów

Justyna Sokołowska

z Zakładu Patologii Katedry Nauk Klinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Chłoniaki to rozrosty nowotworowe wywodzące się z limfocytów. Głównym objawem jest powiększenie węzłów chłonnych i/lub zmiany guzowate w narządach pozawęzłowych. Węzły chłonne objęte procesem nowotworowym mają na przekroju jednolity wygląd i lekkoróżową, szarą lub białą barwę. W mięszu węzła mogą być widoczne ogniska martwicy. Pomimo stosunkowo jednolitego obrazu makroskopowego, mikroskopowo guzy te cechują się znaczną heterogennością. Różnorodność ta dotyczy zarówno morfologii komórek nowotworowych, ich fenotypu, jak też obserwowanych nieprawidłowości genetycznych, aktywności proliferacyjnej lub nasilenia apoptozy. Cechy te, a zwłaszcza morfologia i fenotyp, stały się podstawą do klasyfikacji chłoniaków. Określone w ten sposób typy chłoniaków różnią się między sobą stopniem złośliwości, przebiegiem klinicznym i podatnością na leczenie. Określenie typu guza jest również punktem wyjścia do zastosowania odpowiedniego postępowania terapeutycznego, a także dostarcza informacji odnośnie do rokowania, czasu trwania remisji i czasu przeżycia pacjenta.

Jednak rokowanie wynikające z oceny histopatologicznej tkanki nowotworowej nie zawsze znajduje potwierdzenie w przebiegu klinicznym. Istnieją przypadki chłoniaków o jednolitej morfologii, ale o różnym przebiegu klinicznym. Dotyczy to zwłaszcza dużych grup chłoniaków, takich jak rozlane chłoniaki z dużych komórek czy chłoniaki z obwodowych komórek T. Dlatego aby móc w sposób jak najbardziej precyzyjny ocenić czas przeżycia pacjenta lub skuteczność leczenia, poszukuje się dodatkowych wskaźników o znaczeniu prognostycznym.

Nieprawidłowości genetyczne w chłoniakach

W czasie rozwoju i różnicowania limfocytów zachodzą liczne zjawiska genetyczne, takie jak rearanżacje i mutacje genów kodujących immunoglobulinę (Ig) i receptory limfocytów T (TCR), które stanowią bardzo dobre podłoże dla onkogenezy.

Badania przeprowadzone u ludzi wykazały, że w większości nowotworów limfoidalnych, podobnie jak to się dzieje w przypadku innych guzów, nieprawidłowości genetyczne obejmują aktywację protoonkogenów i zaburzenia czynności genów supresorowych. Jednak w przeciwieństwie do innych nowotworów, a zwłaszcza raków, w których dochodzi do uogólnionej niestabilności genomu, genom komórek chłoniaka jest stosunkowo stabilny (1).

Zmiany w budowie chromosomów (mutacje i aberracje) są w chłoniakach zjawiskiem częstym, lecz pomimo, że niektóre z nich występują w sposób charakterystyczny w określonej postaci morfologicznej chłoniaka, nie są swoiste (1). Są to przede wszystkim zmiany o charakterze translokacji, której efektem może być fuzja lub rearanżacja genów. W wyniku fuzji fragmentów kodujących powstaje nowy gen i kodowany przez niego nowy produkt, inny niż w komórkach wyjściowych, o aktywności zbliżonej lub znacznie odbiegającej od białka wyjściowego. W przypadku rearanżacji dochodzi natomiast do deregulacji transkrypcji, wynikającej z podłączenia fragmentu kodującego genu (protoonkogen) pod sekwencję regulatorową innego genu (najczęściej są to geny kodujące immunoglobulinę), zaburzając jego ekspresję w sposób homo- lub heterotopowy. W białaczkach, zarówno limfatycznych, jak i szpikowych, dochodzi najczęściej do fuzji genów, podczas gdy w chłoniakach do ich rearanżacji. Wyjątkami są tu chłoniaki anaplastyczne z dużych komórek T (anaplastic large T cell lymphoma – T-ALCL) i chłoniaki wywodzące się z tkanki limfoidalnej związanej z błonami śluzowymi (MALT – mucosa-associated lymphoid tissue), w których mamy do czynienia z fuzją genów (1). Ostre białaczki są związane z pojedynczą translokacją chromosomalną, natomiast nowotwory wywodzące się z dojrzałych komórek B wykazują często złożone zmiany cytogenetyczne (2).

Istnienie pewnych określonych aberracji w połączeniu z konkretnym typem chłoniaka jest u ludzi wykorzystywane w diagnostyce tych rozrostów (1, 3, 4). Do naj-

Canine lymphomas. Part III. Genetic and prognostic factors in human and canine lymphomas

Sokołowska J. • Division of Pathology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw Agricultural University.

Lymphomas represent a heterogeneous malignancies of lymphocyte origin. Different types of lymphomas vary in the clinical behavior and prognosis, although often respond well to the chemotherapy. In contrast to carcinoma, lymphomas are usually genetically stable. Some typical aberrations, particularly in genes (*c-myc*, *bcl2*) and proteins (p53, bcl2) controlling apoptosis were identified as prognostic factors in human. Much less is known about mutations in canine lymphomas. Although human and canine lymphomas show similarities, some evidences suggest that the cytopathogenesis of those malignancies may be different. However, several aberration, that may be of prognostic value were identified in dogs. It is also known, that canine T lymphomas have a worse prognosis than B ones. This study discuss the prognostically important aspects of the genetic disorders in human and canine lymphomas as well as the other known prognostic factors.

Keywords: canine lymphoma, prognostic factors, aberrations, Ki67.

bardziej charakterystycznych, będących wykładnikiem nowotworowego charakteru danego rozrostu zalicza się: t(14;18) w chłoniaku z ośrodków rozmnażania (follicular lymphoma – FL), t(11;14) w chłoniaku z komórek płaszczka (mantle cell lymphoma – MCL) i t(8;14), t(8;2) lub t(8;22) w chłoniaku Burkitta (Burkitt's lymphoma-BL; 1, 2, 3, 4, 5, 6). Jeśli chodzi o MCL, to występuje on też wariantcie blastycznym, który morfologicznie przypomina nowotwory z prekursorowych limfocytów B, jest agresywniejszy od zwykłej postaci MCL i w przeciwieństwie do niej, ma tetraploidalny materiał genetyczny, podczas gdy MCL jest diploidalny (3, 6). Fenotyp i translokacje są jednak takie same w obu wariantach. Do chłoniaka Burkitta jest natomiast morfologicznie podobny chłoniak Burkitt-like, ale różni się od niego fenotypowo i cytogenetycznie – ma wiele różnych translokacji, odmiennych jednak od poprzednio wymienionych.

Inna charakterystyczna translokacja to t(2;5) w ALCL. Jej wynikiem jest swoiste białko o niepowtarzalnej strukturze i jednocześnie marker tego chłoniaka – kinaza chłoniaków anaplastycznych (1, 3, 5, 6). Inwersja chromosomu 14 jest natomiast charakterystyczną cechą przewlekłej białaczki limfatycznej z komórek T (chronic lymphocytic leukemia-T-CLL; 3, 5, 6).

Te wymienione translokacje mają charakter pierwotny, leżą u podstaw onkogenezy powyższych jednostek chorobowych, jednak są również spotykane, choć nie tak stale, w innych typach morfologicznych chłoniaków (1, 2, 4). Część aberracji chromosomalnych pojawia się w czasie transformacji rozrostów o niskim stopniu złośliwości w postaci wysoce agresywne (1, 2), np. przejście FL w rozlanego chłoniaka z dużych komórek B (diffuse large B-cell lymphoma – DLBCL) jest często związana z mutacją/delecją genu p53 (1).

Oprócz zmian pierwotnych, w danych typach chłoniaka występują również liczne zmiany wtórne, obecnie również już dosyć dobrze poznane u ludzi. Są one zazwyczaj niekorzystne prognostycznie (4). Do takich aberracji zalicza się m.in. obecność chromosomu Philadelphia (Ph), powstałego w wyniku translokacji t(9;22), a będącego pierwotną aberracją chromosomalną w przewlekłej białaczce szpikowej (chronic myeloblastic leukemia – CML), jednakże stwierdzanym również w prekursorowej ostrej limfoblastycznej białaczce z komórek B (precursor B – acute lymphoblastic leukemia – B-ALL). Na poziomie cytogenetycznym nie ma różnic w chromosomie Ph pochodzącym z przypadków ALL i CML, jednak na poziomie molekularnym takie różnice mogą występować (7). Stwierdzenie obecności chromosomu Ph w przypadkach B-ALL jest związane z niekorzystnym rokowaniem (3, 6). Również czynnikiem niekorzystnym rokowniczo jest trisomia chromosomu 12 w przypadkach przewlekłej białaczki limfatycznej z komórek B (chronic lymphocytic leukemia – B-CLL), podczas gdy nieprawidłowości w obrębie 13q są związane z lepszą prognozą (1, 4).

DLBCL to bardzo duża i niejednorodna grupa chłoniaków, cechująca się wyraźną różnorodnością morfologiczną, fenotypową, jak też różnicami w przebiegu klinicznym, co może sugerować, że zawiera odrębne, jeszcze nierozpoznane jednostki chorobowe. Badania genetyczne wykazały, że DLBCL różni się profilem genetycznym komórek nowotworowych i zachowaniem biologicznym. Na tej podstawie podzielono je na 2 grupy: ośrodkowe, z genetycznym profilem charakterystycznym dla komórek ośrodków rozmnażania i dobrym rokowaniem, oraz pozaośrodkowe posiadające profil aktywowanych komórek B i złe rokowanie (8).

Podobnie, w przypadku B-CLL metodami genetycznymi wykazano, że komórki nowotworowe także nie stanowią jednolitej populacji. Wyodrębniono ich 2 podtypy genetyczne: bez mutacji w zmiennym regionie genów immunoglobulin (dziewięć komórek B) i ze zmutowanym regionem IgV (komórki B pamięci). Podtypy te różnią

się pod względem zachowania klinicznego. Przypadki B-CLL wywodzące się z dziewięć komórek B cechują się znacznie krótszym okresem przeżycia niż, wywodzące się z komórek B pamięci (9).

Jeśli chodzi o psy, to dane dotyczące zmian cytogenetycznych są bardzo ograniczone. Analiza kariotypu przeprowadzona u 61 psów z chłoniakiem wykazała głównie zmiany ilościowe chromosomów (trisomia, monosomia), z których trisomia chromosomu 13 miała znaczenie prognostyczne. Jej obecność była związana ze skróceniem okresu pierwszej remisji i czasu przeżycia. Wydaje się, że w przeciwieństwie do chłoniaków niezłaziennych u ludzi, w których pierwotne aberracje chromosomalne mają przede wszystkim charakter strukturalny, u psów zmiany te są głównie ilościowe. Dane te mogą świadczyć, że na poziomie cytogenetycznym patogeneza chłoniaków psów i ludzi jest odmienna (10).

U psów brak jak dotąd danych na temat możliwych translokacji chromosomalnych czy też reorganizacji genów w chłoniakach.

Czynniki prognostyczne

Oszacowanie klinicznego zachowania danego guza ma fundamentalne znaczenie dla podjęcia terapii. W przypadku guzów o powolnym rozwoju stosuje się radioterapię, leczenie z zastosowaniem pojedynczych chemioterapeutyków lub pozostawia się je bez leczenia. Leczenie nowotworów o agresywnym przebiegu polega na zastosowaniu skojarzonej chemioterapii, która jest związana z wysoką toksycznością dla pacjenta (11). Guzy o niskim stopniu złośliwości słabo reagują na zastosowane leczenie, ale charakteryzują się długim czasem przeżycia pacjenta, podczas gdy w przypadku rozrostów o wysokim stopniu złośliwości choroba postępuje szybko, prowadząc do śmierci, jednak guzy te stosunkowo łatwo poddają się leczeniu i osiągają remisję (12, 13).

Czynniki prognostyczne w chłoniakach u ludzi

W starszych systemach klasyfikacyjnych (kiloński, WF) podstawowe informacje dotyczące rokowania zawarte są w stopniach złośliwości. Systemy te wyróżniają, w oparciu o kryteria histologiczne, chłoniaki o niskiej, pośredniej i wysokiej złośliwości. Podział na grupy różniące się stopniem złośliwości jest oparty na związku pomiędzy wyższym histopatologicznym stopniem złośliwości guza, a co za tym idzie bardziej agresywnym przebiegiem i jego większą aktywnością proliferacyjną (13, 14, 15).

Najnowsze schematy klasyfikacji (REAL, WHO) zrezygnowały z podziału na stop-

nie złośliwości, ponieważ niejednokrotnie jednolite morfologicznie typy chłoniaków różnią się między sobą aktywnością proliferacyjną i agresywnością przebiegu. Zmienność ta niekiedy wiąże się z morfologią (np. MCL, FL), ale często zależy od innych cech, takich jak umiejscowienie, fenotyp, obecność swoistych markerów wykrywalnych na poziomie molekularnym lub genetycznym (6). Za przykład chłoniaków posiadających podobną morfologię i fenotyp, lecz różne właściwości genetyczne mogą posłużyć chłoniaki anaplastyczne i limfoblastyczne.

W przypadku chłoniaków anaplastycznych tym markerem jest kinaza chłoniaków anaplastycznych. Występuje ona w około 70% przypadków u ludzi dorosłych i 90% u dzieci. Jej obecność dobrze rokuje, a przy braku wymagana jest intensywna chemioterapia (3, 6).

Rokowanie w chłoniaku limfoblastycznym jest uzależnione od ploidii DNA jego komórek. Stwierdzenie diploidii lub hiperploidii (47–50 chromosomów) wiąże się z przeciętnym rokowaniem, hipoploidia i pseudoploidia z nieprawidłowościami chromosomów i obecnością chromosomu Philadelphia rokują nieopomyślnie, podczas gdy hiperploidia (>50 chromosomów) przemawia za pomyślniejszym rokowaniem (3, 6).

Występowanie nieprawidłowej zawartości DNA jest jednym z wskaźników nowotworzenia. W badaniach dotyczących chłoniaków u ludzi procent nowotworów, w których stwierdzono takie nieprawidłowości waha się od 19 (16) do około 60% (17, 18). Przyjmuje się, że zjawisko to dotyczy ogółem około 30–40% przypadków tych guzów, a więc występuje z niższą częstością niż ma to miejsce w innych złośliwych guzach litych (16). Aneuploidia jest wykrywana w 10–20% chłoniaków o niskim stopniu złośliwości i w około 50–60% chłoniaków pośredniego i wysokiego stopnia złośliwości (14, 18, 19). Stwierdzono też, że chłoniaki o pośrednim i wysokim stopniu złośliwości, które powstały w wyniku transformacji nowotworowej wykazywały wyższy poziom aneuploidii niż te o podobnych cechach histopatologicznych, ale powstające *de novo* (14). Wskazuje się też na częstszy udział aneuploidii w chłoniakach z komórek B niż T, choć różnice te nie są znaczące (14).

Badania wskazują, że istnieje też znaczny odsetek chłoniaków o diploidalnym rozkładzie DNA, występujący niezależnie od stopnia złośliwości (16, 18, 19).

Przyjmuje się, że w przypadku chłoniaków aneuploidia jest bardziej użyteczna w diagnostyce niż w rokowaniu (14, 19, 20). Wyjątkiem jest wspomniany chłoniak limfoblastyczny, w którym rokowanie jest uzależnione od stwierdzonych nieprawidłowości zawartości DNA.

Innymi markerami mogącymi dostarczyć informacji użytecznych prognostycznie są geny lub białka zaangażowane w regulację procesów apoptozy. Badania wykazały, że ekspresja białka p53 w rozlanych chłoniakach z komórek B była związana ze skróceniem czasu przeżycia pacjentów, a jednoczesna ekspresja białek p53 i bcl2 – z dodatkowym pogorszeniem prognozy (21). Wykazano również, że jednoczesna deregulacja genów *c-myc* i *bcl2* prowadzi do powstania wysoce złośliwego fenotypu, który jest zazwyczaj oporny na chemioterapię (2).

W ocenie zachowania guza bardzo ważne miejsce mają wskaźniki proliferacji komórek nowotworowych, a wśród nich takie parametry, jak: liczba komórek w fazie S cyklu komórkowego, ekspresja białek zależnych od cyklu (Ki-67, PCNA), indeks mitotyczny czy oznaczenie regionów organizatorów jąderkowych (AgNORs).

W chłoniakach istnieje bardzo silny związek między niską wartością indeksu Ki-67 i obrazem morfologicznym guza wskazującym na jego niski stopień złośliwości oraz wysoką wartością indeksu Ki-67 a wysokim stopniem złośliwości (13, 15). Podobnie liczba komórek będących w fazie S cyklu komórkowego koreluje ze stopniem złośliwości tych nowotworów (11, 14, 15). Wskazuje się też na skłonność pacjentów z chłoniakami o wysokim stopniu złośliwości i o bardzo wysokim indeksie Ki-67 do dłuższego przeżycia i mniejszego prawdopodobieństwa nawrotu, w porównaniu z chorymi z chłoniakiem o tym samym stopniu złośliwości, ale o niższym indeksie Ki-67. Jest to związane z zależnością między liczbą proliferujących komórek i podatnością na chemioterapię, gdyż guzy wolno rosnące, o niewielkiej liczbie dzielących się komórek, źle reagują na konwencjonalne leczenie, a osiągnięte remisje są zazwyczaj krótkotrwałe, podczas gdy guzy szybko rosnące, a więc takie, w których liczba dzielących się komórek jest bardzo wysoka, dobrze poddają się leczeniu, a remisje są długotrwałe. Porównując pacjentów z chłoniakami o niskim stopniu złośliwości, chorzy z guzami o wyższym indeksie Ki-67 przeżywali krócej niż ci z chłoniakami o stosunkowo niskim indeksie Ki-67 (13).

Chłoniaki o tym samym stopniu złośliwości (11) lub jednego typu morfologicznego mogą być dodatkowo podzielone na grupy różniące się pod względem prognostycznym (20, 22, 23), także na podstawie odsetka komórek w fazie S cyklu komórkowego. Jest to zwłaszcza istotne w dużych, niejednorodnych pod względem morfologii, fenotypu i przebiegu klinicznego grupach chłoniaków, takich jak chłoniaki z obwodowych limfocytów T (22) czy rozlane chłoniaki z dużych komórek (20).

Wykazano, że pacjenci z chłoniakami o wysokim stopniu złośliwości i mniejszej liczbie komórek w fazie S cyklu komórkowego przeżywali znacznie dłużej niż chorzy z dużą liczbą komórek w fazie S. Stwierdzono też, że pacjenci z dużą liczbą komórek w fazie S mieli krócej trwające remisje (14, 20, 22, 23).

Inną metodą oceny aktywności proliferacyjnej komórek jest metoda oznaczenia AgNORs (NOR-fragmenty DNA kodujące rybosomalny RNA, a białka związane z tymi obszarami jąder komórkowych wykazują argyrofilność, przez co można je wykazać techniką srebrzenia). W przypadku chłoniaków wykazano istnienie związku między liczbą komórek w fazie S cyklu i liczbą AgNORs (24). Stwierdzono też odwrotną korelację między ilością a wielkością AgNORs. W chłoniakach o wysokim stopniu złośliwości AgNORs są liczne, ale niewielkie, podczas gdy w chłoniakach o niskim stopniu złośliwości są nieliczne, ale duże (25). Wykazano też korelację między liczbą AgNORs a przeżyciem, wystąpieniem i czasem trwania remisji. Stwierdzono, że w grupie pacjentów z chłoniakami o wysokim stopniu złośliwości, wysoka liczba AgNORs jest związana ze słabą reakcją na leczenie. Stwierdzono też, że liczba AgNORs dostarcza informacji o długości remisji w grupie pacjentów, którzy osiągnęli pierwszą całkowitą remisję – u pacjentów z najniższą liczbą AgNORs czas trwania remisji jest najdłuższy (26).

Czynniki prognostyczne w chłoniakach u psów

Dane dotyczące czynników prognostycznych chłoniaków psów nie są liczne, a wyniki uzyskiwane przez poszczególnych autorów czasem różnią się od siebie.

Nie ma zgodności co do prognostycznego znaczenia histopatologicznego stopnia złośliwości, zarówno w klasyfikacji kilońskiej, jak i WF u psów (27). W pracy Teske i wsp. (28) przeprowadzonej na dużej grupie psów (138 osobników) stwierdzono, że chłoniaki klasyfikowane według systemu kilońskiego jako rozrosty o wysokim stopniu złośliwości charakteryzowały się znacząco wyższą częstością występowania pełnej remisji i krótszym okresem jej trwania niż w przypadku nowotworów sklasyfikowanych jako guzy o niskim stopniu złośliwości. Stało się to mniej wyraźne, gdy zastosowano system WF. Jednak ten ostatni pozwolił na dokładniejsze określenie czasu przeżycia pacjentów, który był znacząco krótszy w przypadku chłoniaków o wysokim stopniu złośliwości niż chłoniaków o niskim stopniu złośliwości. Podobne wyniki uzyskano w badaniach nad wartością prognostyczną obu tych klasyfikacji u ludzi.

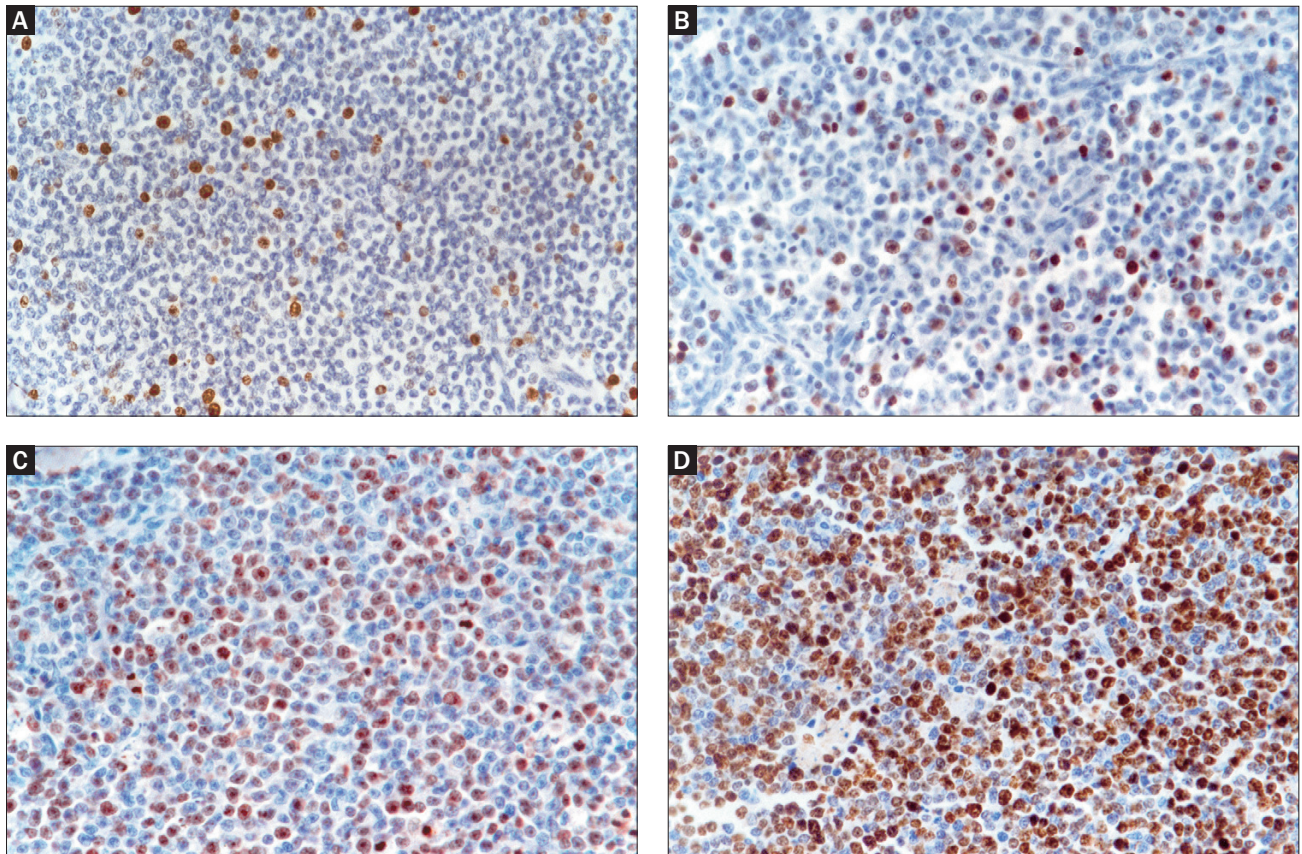
Również w przypadku najnowszej klasyfikacji WHO opracowanej dla zwierząt, do dnia dzisiejszego nie jest znana jej wartość prognostyczna, ponieważ nie zostały przeprowadzone żadne badania służące ocenie jej przydatności klinicznej (29).

Większość przeprowadzonych badań nie analizuje związku między typem morfologicznym a czasem przeżycia oraz długością trwania remisji (28, 30, 31, 32, 33, 34). Stwierdzono jedynie różnice odnośnie do badanych parametrów w stosunku do grup chłoniaków o różniących się stopniem histopatologicznej złośliwości (28, 31). Ponieważ większość chłoniaków jest klasyfikowana jako rozrosty o wysokim stopniu złośliwości (12, 28, 30, 31, 34, 35, 36, 37, 38) oszacowanie zachowania biologicznego danego rozrostu u psów, tylko na podstawie morfologii nie jest wystarczające. Dlatego też poszukiwane są dodatkowe czynniki o znaczeniu prognostycznym.

Wykazano, że w chłoniakach psów fenotyp T, choć dużo rzadszy (27, 28, 30, 33, 34, 35, 36, 38, 39) jest najważniejszym niezależnym czynnikiem prognostycznym związanym z niekorzystnym rokowaniem (27, 28, 30, 31, 32, 33, 34, 37). Wśród innych czynników wymieniana się stadium kliniczne choroby w chwili jej rozpoznania (28, 30).

Istnieje bardzo mało prac w zakresie badania ploidii DNA komórek chłoniaków u psów. Teske i wsp. (40), stwierdzili w chłoniakach u psów wysoki odsetek przypadków diploidalnych (70,2%), a aneuploidię obserwowali jedynie w 21,3% przypadków. Uzyskane w badaniach własnych (39) dane wskazują na zdecydowanie częstsze występowanie zmian w zawartości DNA w komórkach chłoniaka u psów. Stwierdzono je w 95,5% przypadków, z czego aż 80% z nich wykazywało typowy rozkład aneuploidalny, a tylko 11,1% rozkład okołodiploidalny. Chłoniaki o okołodiploidalnej zawartości DNA w badaniach przeprowadzonych przez Teske (40) stanowiły 8,5%, co jest porównywalne z wynikami uzyskanymi w badaniach własnych (11,1%; 39). Omawiane prace (39, 40) wskazują na niski odsetek przypadków hipoploidalnych u psów, podobnie jak ma to miejsce u ludzi (14). Nie stwierdzono natomiast w żadnym z przypadków rozkładów o charakterze poliploidalnym (39, 40), które, choć niezbyt często, są spotykane w chłoniakach u ludzi (17, 18). Omawiane prace (39, 40) wskazują również na częstsze występowanie przypadków aneuploidalnych w chłoniakach o fenotypie T niż B.

Nie wykazano korelacji pomiędzy ploidią DNA a czasem przeżycia (40), co może wskazywać, że, podobnie jak to ma miejsce u ludzi, również w przypadku chłoniaków u psów ploidia DNA ma ograniczone znaczenie prognostyczne.



Ryc. 1. Chłoniaki o różnym stopniu nasilenia aktywności proliferacyjnej, wykazanej na podstawie ekspresji antygenu Ki-67: A <30% komórek Ki-67⁺; B 30–50% komórek Ki-67⁺; C 50–70% komórek Ki-67⁺; D >70% komórek Ki-67⁺; barwienie metodą immunohistochemiczną, pow. 400×

Istnieją natomiast duże różnice odnośnie do prognostycznego znaczenia wskaźników proliferacji komórek u psów z chłoniakiem. Kiupel i wsp. (32) oraz Vail i wsp. (34) wykazali, że liczba organizatorów jąderkowych (AgNORs) jest związana z czasem trwania remisji i przeżyciem chorych zwierząt. Nie potwierdziły tego wyniki pracy Dobsona i wsp. (30).

Istnieją również sprzeczności odnośnie do znaczenia prognostycznego ekspresji białek zależnych od cyklu komórkowego (Ki-67, PCNA). W większości prac nie udało się wykazać związku pomiędzy czasem trwania remisji i długością czasu przeżycia a procentem komórek w fazie S cyklu komórkowego (40), czy poziomem ekspresji antygenu Ki-67 (ryc. 1, 32) lub PCNA (32, 34). Jedynie Philips i wsp. (33) wykazali związek pomiędzy liczbą komórek Ki-67⁺ i długością czasu remisji, nie stwierdzono natomiast podobnej korelacji w odniesieniu do całkowitego czasu przeżycia. Również dane dotyczące znaczenia prognostycznego indeksu mitotycznego są zmienne. Prace Dobsona i wsp. (30) oraz Philips i wsp. (33) nie wykazały istnienia takiego związku, podczas gdy Kiupel i wsp. (32) stwierdzili, że indeks mitotyczny o wysokich wartościach (w granicach 9–12) ma znaczenie prognostyczne. Wykazano także, że w obrębie guzów o tym samym stopniu złośliwości, wraz ze wzrostem indeksu mitotycznego skraca się czas całkowitego przeżycia i czas remisji (33).

W chłoniakach psów, podobnie jak ma to miejsce w przypadku ludzi, stwierdzono również tendencję do zwiększania się odsetka komórek będących w aktywnych fazach cyklu komórkowego (Ki-67⁺ lub PCNA⁺) wraz ze wzrostem stopnia histopatologicznej złośliwości (33) oraz różnic w wartościach średnich indeksu Ki-67 (41) i indeksu mitotycznego (33) pomiędzy guzami o niskim i wysokim stopniu złośliwości. Nie udało się wykazać takiej zależności, kiedy wskaźnikiem proliferacji był odsetek komórek będących w fazie S cyklu komórkowego (40).

Wszystkie omawiane prace koncentrują się na korelacji badanych parametrów z długością czasu przeżycia i czasem trwania remisji, nie analizują natomiast ich związku z poszczególnymi typami morfologicznymi chłoniaków u psów.

Ostatnio Ponce i wsp. (37) wykazali pewne różnice odnośnie do długości czasu przeżycia i czasu trwania remisji w różnych typach morfologicznych chłoniaków psów. Jednak obecny stan wiedzy dotyczącej potencjału proliferacyjnego i reakcji poszczególnych typów chłoniaka psów na zastosowane leczenie, jak też wyboru najwłaściwszego schematu chemioterapii dla danego typu chłoniaka jest jeszcze wysoce niewystarczający.

Na chłoniaka mogą zachorować psy w każdym wieku, aczkolwiek zwykle dotyka zwierzęta w wieku średnim. Istnieją pre-

dylekcje rasowe do wystąpienia tego nowotworu, nie stwierdza się natomiast związku występowania chłoniaka z płcią. Może on powstawać na każdym etapie dojrzewania i różnicowania komórki limfoidalnej, dlatego też chłoniaki są bardzo różnorodną grupą nowotworów, pod względem etiologii, cech genetycznych, morfologii, stopnia złośliwości, przebiegu klinicznego czy rokowania.

Chłoniaki u psów cechuje zwykle bardzo agresywny przebieg, ale jednocześnie są jednymi z guzów najłatwiej poddających się chemioterapii. Jednak, aby móc wdrożyć skuteczne postępowanie terapeutyczne, potrzebne jest poznanie biologii chłoniaków u psów. Wiedza z tego zakresu nadal jest niepełna. W dużej mierze opiera się ona na analogii z chłoniakami występującymi u ludzi. Opracowania dotyczące chłoniaków u psów nie są liczne. Większość z nich to prace dotyczące morfologii i próby znalezienia markerów użytecznych prognostycznie. Opracowania te bardzo rzadko zawierają kompleksową charakterystykę chłoniaków, włączając w to zarówno morfologię, jak i fenotyp. Jeśli chodzi o charakterystykę fenotypową tych rozrostów, to zazwyczaj jest ona oparta na pojedynczych przeciwciałach monoklonalnych, co po części wynika z tego, że większość dostępnych przeciwciał monoklonalnych jest przeznaczona do wykrywania odpowiednich antygenów limfocy-

tarnych u ludzi i rzadko wykazuje reakcje krzyżowe z analogicznymi antygenami psa. Jedynie nieliczne prace podejmują temat ploidi DNA czy aktywności proliferacyjnej, i to zazwyczaj w kontekście czynników użytecznych pod względem rokowania. Dlatego potrzebne są dalsze intensywne badania mające na celu poznanie biologii chłoniaków u tego gatunku zwierząt.

Piśmiennictwo

- Harris N.L., Stein H., Coupland S.E., Hummel M., Favara R.D., Pasqualucci L., Chan W.C.: New approaches to lymphoma diagnosis. *Hematology* 2001, 194–220.
- Willis T.G., Dyer M.J.S.: The role of immunoglobulin translocations in the pathogenesis of B-cell malignancies. *Blood* 2000, 96, 808–822.
- Jaffe E.S., Harris N.L., Stein H., Vardiman J.M. (ed): World Health Organization Classification of Tumours, Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC Press Lyon 2001.
- Pieńkowska-Grela B.: Badania cytogenetyczne w diagnostyce chłoniaków B-komórkowych. *Post. Biol. Kom.* 2002, 29, 3–13.
- Harris N.L., Jaffe E.S., Stein H., Banks P.M., Chan J.K., Cleary M.L., Delsol G., De Wolf-Peters C., Falini B., Gatter K.C. et al.: A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994, 84, 1361–1392.
- Mioduszevska O.: Patologia chłoniaków i ziarnicy złośliwej. *Pol. J. Pathol.* 1998, Suppl. 49.
- Haus O.: Cytogenetyka przewlekłej białaczki szpikowej. Przewlekła białaczka szpikowa Ph-dodatnia [Ph(+) CML]. *Post. Biol. Kom.* 1996, 23, 169–182.
- Alizadeh A.A., Eisen M.B., Davis R.E., Ma C., Lossos I.S., Rosenwald A., Boldrick J.C., Sabet H., Tran T., Yu X., Powell J.L., Yang L., Marti G.E., Moore T., Hudson J. Jr, Lu L., Lewis D.B., Tibshirani R., Sherlock G., Chan W.C., Greiner T.C., Weisenburger D.D., Armitage J.O., Warnke R., Levy R., Wilson W., Grever M.R., Byrd J.C., Botstein D., Brown P.O., Staudt L.M.: Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000, 403, 503–511.
- Damle R.N., Wasil T., Fais F., Ghiotto F., Valetto A., Allen S.L., Buchbinder A., Budman D., Dittmar K., Kollitz J., Lichtman S.M., Schulman P., Vinciguerra V.P., Rai K.R., Ferrarini M., Chiorazzi N.: Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999, 94, 1840–1847.
- Hahn K.A., Richardson R.C., Hahn E.A., Chrisman C.L.: Diagnostic and prognostic importance of chromosomal aberrations identified in 61 dogs with lymphosarcoma. *Vet. Pathol.* 1994, 31, 528–540.
- Joensuu H., Klemi P.J., Soderstrom K.O., Jalkanen S.: Comparison of S-phase fraction, working formulation, and Kiel classification in non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer* 1991, 68, 1564–1571.
- Carter R.F., Valli V.E., Lumsden J.H.: The cytology, histology and prevalence of cell types in canine lymphoma classified according to the National Cancer Institute Working Formulation. *Can. J. Vet. Res.* 1986, 50, 154–164.
- Hall P.A., Richards M.A., Gregory W.M., d'Ardenne A.J., Lister T.A., Stansfeld A.G.: The prognostic value of Ki67 immunostaining in non-Hodgkin's lymphoma. *J. Pathol.* 1988, 154, 223–235.
- Braylan R.C.: Flow-cytometric DNA analysis in the diagnosis and prognosis of lymphoma. *Am. J. Clin. Pathol.* 1993, 99, 374–380.
- Katz R.L., Wojcik E.M., el-Naggar A.K., Ordenez N.G., Johnston D.A.: Proliferation markers in non-Hodgkin's lymphoma. A comparative study between cytophotometric quantitation of Ki-67 and flow cytometric proliferation index on fine needle aspirates. *Analyt. Quant. Cytol. Histol.* 1993, 15, 179–186.
- Lakkala T., Laasonen A., Fransila K.A., Teerenhovi L., Knuutila S.: Comparison of DNA and karyotype aneuploidy in malignant lymphomas. *Am. J. Clin. Pathol.* 1990, 94, 600–605.
- Grace J., Stankovic R., Gupta L.: Detection of aneuploidy and polyploidy in non-Hodgkin's lymphoma by computer video image analysis. *Analyt. Quant. Cytol. Histol.* 1993, 15, 265–273.
- Krygier-Stojalowska A., Urasiński I., Kuchnio M., Gapski Z.: DNA-ploidia w chłoniakach niezrariowanych o niskiej złośliwości. *Acta. Haem. Pol.* 1993, 24, 153–160.
- Joensuu H., Klemi P.J., Eerola E.: Diagnostic value of DNA flow cytometry combined with fine needle aspiration biopsy in lymphomas. *J. Pathol.* 1988, 154, 237–245.
- Winter J.N., Andersen J., Variakojis D., Gordon L.I., Fisher R.L., Oken M.M., Neiman R.S., Jiang S., Bauer K.D.: Prognostic implications of ploidy and proliferative activity in the diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphomas. *Blood* 1996, 88, 3919–3925.
- Piris M.A., Pezella F., Martinez-Montero J.C., Orradre J.L., Villuendas R., Sanchez-Beato M., Cuena R., Cruz M.A., Martinez B., Garrido M.C., Gatter K., Aiello A., Delia D., Giardini R., Rilke F.: p53 and bcl-2 expression in high-grade B-cell lymphomas: correlation with survival time. *Br. J. Cancer* 1994, 69, 337–341.
- Grierson H.L., Wooldridge T.N., Purtilo D.T., Pierson J., Bast M., Wooldridge L., Armitage J.O., Weisenburger D.D.: Low proliferative activity is associated with a favorable prognosis in peripheral T-cell lymphoma. *Cancer Res.* 1990, 50, 4845–4848.
- Macartney J.C., Camplejohn R.S., Morris R., Hollowood K., Clarke D., Timothy A.: DNA flow cytometry of follicular non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin. Pathol.* 1991, 44, 215–218.
- Crocker J., Macartney J.C., Smith P.J.: Correlation between DNA flow cytometric and nucleolar organizer region data in non-Hodgkin's lymphomas. *J. Pathol.* 1988, 154, 151–156.
- Crocker J., Egan M.J.: Correlation between NOR sizes and numbers in non-Hodgkin's lymphomas. *J. Pathol.* 1988, 156, 233–239.
- Jacic-Razumovic J., Tentor D., Petroveckii M., Radman I.: Nucleolar organiser regions and survival in patients with non-Hodgkin's lymphomas classified by the working formulation. *J. Clin. Pathol.* 1993, 46, 943–947.
- Teske E.: Canine malignant lymphoma: a review and comparison with human non-Hodgkin's lymphoma. *Vet. Q.* 1994, 16, 209–219.
- Teske E., van Heerde P., Rutteman G.R., Kurzman I.D., Moore P.F., MacEwen E.G.: Prognostic factors for treatment of malignant lymphoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1994, 205, 1722–1728.
- Dobson J.: Classification of canine lymphoma: a step forward. *Vet. J.* 2004, 167, 125–126.
- Dobson J.M., Blackwood L.B., McInnes E.F., Bostock D.E., Nicholls P., Hoather T.M., Tom B.D.: Prognostic variables in canine multicentric lymphosarcoma. *J. Small. Anim. Pract.* 2001, 42, 377–384.
- Greenlee P.G., Filippa D.A., Qimby F.W., Patnaik A.K., Calvano S.E., Matus R.E., Kimmel M., Hurvitz A.L., Lieberman P.H.: Lymphomas in dogs. A morphologic, immunologic, and clinical study. *Cancer* 1990, 66, 480–490.
- Kiupel M., Teske E., Bostock D.: Prognostic factors for treated canine malignant lymphoma. *Vet. Pathol.* 1999, 36, 292–300.
- Phillips B.S., Kass P.H., Naydan D.K., Winthrop M.D., Griffee S.M., Madewell B.R.: Apoptotic and proliferation indexes in canine lymphoma. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2000, 12, 111–117.
- Vail D.M., Kisseberth W.C., Obradovich J.E., Moore F.M., London C.A., MacEwen E.G., Ritter M.A.: Assessment of potential doubling time (Tpot), argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNOR), and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) as predictors of therapy response in canine non-Hodgkin's lymphoma. *Exp. Hematol.* 1996, 24, 807–815.
- Fournel-Fleury C., Magnol J.P., Braicre 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.
- Parodi A.L., Dargent F., Crespeau F.J.: Histological classification of canine malignant lymphomas. *Vet. Med. A* 1988, 35, 178–192.
- 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.
- Teske E., Wisman P., Moore P.F., van Heerde P.: Histologic classification and immunophenotyping of canine non-Hodgkin's lymphomas: unexpected high frequency of T cell lymphomas with B cell morphology. *Exp. Hematol.* 1994, 22, 1179–1187.
- Sokolowska J.: Patomorfologia chłoniaków u psów. Rozprawa doktorska, Warszawa 2004.
- Teske E., Rutteman G.R., Kuipers-Dijksheorn N.J., van Dieendonck J.H., van Heerde P., Cornelisse C.J.: DNA ploidy and cell kinetic characteristics in canine non-Hodgkin's lymphoma. *Exp. Hematol.* 1993, 21, 579–584.
- Fournel-Fleury C., Magnol J.P., Chabanne L., Ghermati L., Marchal T., Bonnefond C., Bryon P.A., Felman P.: Growth fractions in canine non-Hodgkin's lymphomas as determined in situ by the expression of the Ki-67 antigen. *J. Comp. Pathol.* 1997, 117, 61–72.

Dr J. Sokółowska, Zakład Patologii, Katedra Nauk Klinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 159 C, 43-976 Warszawa, e-mail: justynasok@interia.pl