

# Chłoniaki głowy i szyi – diagnostyka i biologia molekularna – obecny stan wiedzy

*Head and neck lymphomas – diagnosis and molecular biology – state of art*

Andrzej Marszałek

Katedra i Zakład Patomorfologii Klinicznej Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

---

**Dr hab. n. med. Andrzej Marszałek** pracuje jako adiunkt w Katedrze Patomorfologii Klinicznej Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu. Od czasów studenckich związany jest z Pracownią Mikroskopii Elektronowej. W czasie pracy zawodowej przebywał m.in. przez 1,5 roku na *Oita Medical University* (stypendium rządu japońskiego). Opublikował kilkadziesiąt prac, które powstały na podstawie warsztatu badań morfologicznych. Jest członkiem krajowych i międzynarodowych towarzystw naukowych.

## *Streszczenie*

*W niniejszej pracy przedstawiono opis metod diagnostycznych wykorzystywanych w rozpoznawaniu chłoniaków. Zawarto krótki opis każdej z metod, w tym rutynowej histopatologii opartej na skrawkach parafinowych, oraz wskazano na możliwość wykonania badań immunohistochemicznych. Zaprezentowano charakterystykę cytometrii przepływowej, mikroskopii elektronowej, badań cytogenetycznych oraz analizy ilościowej. W opisie podkreślono zalety każdej z metod oraz jej ograniczenia. Następnie zawarto krótki opis większości chłoniaków na podstawie najnowszej klasyfikacji WHO, wskazując, jakie cechy fenotypu i zaburzeń genetycznych mogą stanowić o prawidłowym rozpoznaniu i mieć wpływ na rokowanie.*

**Słowa kluczowe:** chłoniaki, diagnostyka, biologia molekularna.

## *Abstract*

*The main focus of this paper is on a description of diagnostic methods used in lymphoma diagnosis. Here a brief description of each method such as routine histopathology based on paraffin-embedded tissue samples with optional immunohistochemical studies was presented. Characteristics of flow cytometry, electron microscopy, as well as cytogenetic studies and statistical analysis were introduced. For each method diagnostic contributions as well as limitations were described. The second part of the paper presents a brief description of the majority of lymphomas based on the new version of WHO classification. Additionally, indications of which features of immunophenotype and cytogenetic abnormalities should be taken into account during diagnosis and patients' prognosis were suggested.*

**Key words:** lymphomas, diagnosis, molecular biology.

*(Postępy w chirurgii głowy i szyi 2006; 2: 83–98)*



## Wprowadzenie

Każdego roku na świecie u ponad 600 tys. pacjentów rozpoznaje się nowotwory w obrębie głowy i szyi. Blisko 1/3 z tych pacjentów umiera w danym roku z powodu wyniszczającej choroby [1]. W obrębie głowy i szyi znajduje się wiele narządów, dlatego nowotwory występujące w tym regionie klasyfikuje się w wieloraki sposób. W jamie ustnej diagnozuje się najczęściej brodawczaki, naczyniaki, guzy zębopochodne oraz chłoniaki. W obrębie górnych dróg oddechowych (tj. nosa, zatok przynosowych oraz nosogardła) występują guzy pochodzenia naczyniowego, brodawczaki, raki i neuroblastoma węchowy oraz chłoniaki (w tym izolowany plazmocytoma). W krtani rozwijają się często brodawczaki i rak płaskonabłonkowy. W obrębie ucha zewnętrznego mogą wystąpić raki zarówno podstawokomórkowe, jak i płaskonabłonkowe, a także guzy pochodzenia mezenchymalnego. Nowotwory szyi to przede wszystkim torbiele skrzelopochodne. W tej lokalizacji występują także nowotwory pochodzące ze skóry oraz nowotwory rozwijające się w obrębie ślinianek [2]. Z punktu widzenia statystycznego co najmniej 95% nowotworów okolicy głowy i szyi stanowią raki płaskonabłonkowe. Ponadto pamiętać należy, iż w tej lokalizacji występują zarówno nowotwory pierwotne, jak i wtórne (przerzutowe). Nowotwory rozwijające się w obrębie ośrodkowego układu nerwowego i jego powłok oraz nowotwory kości czaszki stanowią najczęściej przedmiot osobnych opracowań.

Wśród wymienionych powyżej nowotworów dość interesującą grupę stanowią chłoniaki, określane czasem – wg starszej nomenklatury – jako nowotwory stanowiące rozrost układu białokrwinkowego. W tej kategorii mieszczą się zarówno nowotwory pochodzenia szpikowego, m.in. białaczki, rozrosty komórek układu limfatycznego – tj. chłoniaki, oraz nowotwory pochodzące z makrofagów bądź komórek dendrytycznych – tj. histiocytozy. Wszystkie rozrosty z ostatniej grupy rozwijają się najczęściej w obrębie głowy i szyi w przebiegu uogólnionego procesu chorobowego rozpoczynającego się w innej lokalizacji. Mogą one jednak występować także w tym miejscu jako nowotwory pierwotne.

### Obowiązująca klasyfikacja chłoniaków

Najnowsza klasyfikacja rozrostów układu krwiotwórczego została przedstawiona przez WHO w 2001 r. [3]. Stanowi ona kontynuację opracowania mającego na celu podział tych nowotworów nie tylko na podstawie kryteriów klinicznych bądź prostych kryteriów morfologicznych, ale także na podstawie danych klinicznych i badań morfologicznych oraz wyników testów na poziomie biologii molekularnej. W obecnie obowiązującej klasyfikacji zatarciu uległ wcześniej

obowiązujący dość arbitralny podział na białaczki limfocytarne/limfoblastyczne oraz chłoniaki. Stosowany tradycyjnie podział na te dwie kategorie wynikał z założenia, iż białaczki są rozrostami mającymi początek w obrębie szpiku kostnego, tzn. pochodzą z totipotencjalnej komórki pnia (macierzystej) hematopoezy, natomiast chłoniaki są rozrostami komórek limfoidalnych mającymi początek w rozmieszczonych obwodowo mniejszych bądź większych skupiskach układu chłonnego. Ten tradycyjny podział nowotworów, w których limfocyty stanowią masę guza, został zarzucony ze względu na fakt, iż w chwili badania rozmazów krwi obwodowej chłoniaki mogą mieć obraz odczynów białaczkowych, a także wtórnie zajmować szpik kostny, a wówczas zmiana nazwy nowotworu z *chłoniaka* na *białaczkę* byłaby dość dziwna. Obserwuje się ponadto nowotworowe rozrosty *białaczkowe* w obrębie tkanek miękkich bez obecności takiego procesu w szpiku kostnym. Pomimo dość płynnej granicy pomiędzy chłoniakami i białaczkami, w nazewnictwie nadal używa się tych terminów, aby podkreślić najczęstszą pierwotną lokalizację danej jednostki chorobowej, tzn. w obrębie szpiku kostnego – białaczki, w narządach pozaszpikowych – chłoniaki, a także w celu podkreślenia zajętego obszaru tkankowego w chwili rozpoznania. Ze względu na odmienny przebieg kliniczny w tej drugiej grupie nowotworów zachowany został tradycyjny podział chłoniaków na ziarnicę złośliwą oraz chłoniaki niezziarnicze.

W obecnie obowiązującym podziale chłoniaków wg WHO wyróżnia się następujące jednostki chorobowe, podzielone na grupy [3, 4]:

A. Klasyfikacja ziarnicy złośliwej (chłoniak Hodgkina, ang. *Hodgkin lymphoma*, *Hodgkin's disease*; łac. *lymphogranulomatosis maligna*).

- chłoniak guzkowy Hodgkina z przewagą limfocytów (ang. *nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma*),
- klasyczny chłoniak Hodgkina:
  - ziarnica typu NS (ang. *nodular sclerosis classical Hodgkin lymphoma*),
  - ziarnica typu MC (ang. *mixed cellularity classical Hodgkin lymphoma*),
  - klasyczna ziarnica bogata w limfocyty (ang. *lymphocyte-rich classical Hodgkin lymphoma*),
  - ziarnica typu LD (ang. *lymphocyte-depleted classical Hodgkin lymphoma*).

B. Klasyfikacja nowotworów z komórek B.

- nowotwory z komórek B (ang. *B-cell neoplasms*):
  - nowotwory z prekursorów komórki B,
  - prekursorowe białaczki/chłoniaki limfoblastyczne z komórek B (ang. *precursor B lymphoblastic leukemia/lymphoma*),



- nowotwory z dojrzałych (obwodowych) komórek B:
    - przewlekła białaczka limfatyczna/chłoniak z małych limfocytów (ang. *chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma*),
    - białaczka prolimfocytarna z komórek B (ang. *B-cell prolymphocytic leukemia*),
    - chłoniak limfoplazmocytowy (ang. *lymphoplasmocytic lymphoma*),
    - chłoniak śledzionowy strefy brzeżnej (ang. *splenic marginal zone lymphoma*),
    - białaczka włochatokomórkowa (ang. *hairy cell leukemia*),
    - szpiczak (ang. *plasma cell lymphoma*),
    - gammapatia monoklonalna o nieustalonym rokowaniu (ang. *monoclonal gammopathy of undetermined significance; MGUS*),
    - izolowany szpiczak kości (ang. *solitary plasmacytoma of bone*),
    - szpiczak pozakostny,
    - pierwotna amyloidoza,
    - choroba łańcuchów ciężkich,
    - pozawęzłowy chłoniak strefy brzeżnej błon śluzowych (ang. *extranodal marginal zone B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue; MALT-lymphoma*),
    - chłoniak węzłowy strefy brzeżnej z komórek B (ang. *nodal marginal zone B-cell lymphoma*),
    - chłoniak z ośrodków rozmnażania (ang. *follicular lymphoma*),
    - chłoniak z komórek płaszczka (ang. *mantle cell lymphoma*),
    - chłoniak rozlany z dużych komórek B (ang. *diffuse large B-cell lymphoma*),
    - chłoniak śródpiersiowy (grasiczy) z dużych komórek B (ang. *mediastinal [thymic] large B-cell lymphoma*),
    - chłoniak śródnaczyniowy z dużych komórek B (ang. *intravascular large B-cell lymphoma*),
    - pierwotny chłoniak wysiękowy (ang. *primary effusion lymphoma*),
    - chłoniak/białaczka Burkitta (ang. *Burkitt lymphoma/leukemia*);
  - rozrosty z komórek B o nieokreślonej złośliwości (ang. *B-cell proliferations of uncertain malignant potential*):
    - ang. *lymphomatoid granulomatosis*,
    - polimorficzna, poprzyszczepienna choroba limfoproliferacyjna (ang. *post-transplant lymphoproliferative disorder, polymorphic*).
- C. Klasyfikacja nowotworów z komórek T i NK.
- białaczkowe/rozsiane:
    - prolimfocytarna białaczka T-komórkowa (ang. *T-cell prolymphocytic leukaemia*),
    - białaczka z dużych ziarnistych limfocytów T (ang. *T-cell large granular lymphocytic leukaemia*),
    - ang. *aggressive NK cell leukaemia*,
    - białaczka/chłoniak z komórek T dorosłych (ang. *adult T-cell leukaemia/lymphoma*);
  - skórne:
    - ziarniak grzybiasty (ang. *mycosis fungoides*),
    - zespół Sezary’ego (ang. *Sezary syndrome*),
    - pierwotny anaplastyczny skórny chłoniak z dużych limfocytów (ang. *primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma*),
    - ang. *lymphomatoid papulosis*;
  - inne pozawęzłowe:
    - pozawęzłowy chłoniak z komórek T/NK, typ nosowy (ang. *extranodal NK/T cell lymphoma, nasal type*),
    - chłoniak z komórek T typu enteropatii (ang. *enteropathy-type T-cell lymphoma*),
    - chłoniak wątrobowo-śledzionowy z komórek T (ang. *hepatosplenic T-cell lymphoma*),
    - chłoniak z limfocytów T w tkance podskórnej (ang. *subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma*);
  - węzłowe:
    - chłoniak z komórek T angioimmunoblastyczny (ang. *angioimmunoblastic T-cell lymphoma*),
    - chłoniak obwodowy z komórek T, niesprecyzowany (ang. *peripheral T-cell lymphoma, unspecified*),
    - chłoniak anaplastyczny wielkokomórkowy (ang. *anaplastic large cell lymphoma*);
  - nowotwory o niejasnym pochodzeniu i nieustalonym stopniu zróżnicowania:
    - chłoniak z niedojrzałych komórek NK (ang. *blastoid NK cell lymphoma*).
- Obowiązujące wcześniej podziały chłoniaków, tj. klasyfikacja kilońska, opracowanie robocze znane szerzej jako klasyfikacja WF (od angielskiej nazwy *Working Formulation for Clinical Usage*), a także opracowana w latach 50. XX w. klasyfikacja Rappaporta, nie mają obecnie zastosowania w praktyce. Wkrótce ma się ukazać nowa (po rewizji) klasyfikacja WHO. Ze względu na konieczność prawidłowej komunikacji pomiędzy patomorfologami a klinicystami, a także pomiędzy różnymi ośrodkami zajmującymi się diagnostyką i leczeniem pacjentów z rozpoznanymi chłoniakami, za standard powinno uważać się podawanie w rozpoznaniu także pełnej angielskiej nazwy jednostki chorobowej, a nie tylko jej łacińskich lub polskich odpowiedników. Może to weliminować ewentualne błędy komunikacyjne/interpretacyjne otrzymanyh rozpoznań.
- Wykazy dostępnych danych wskazują, iż w Polsce wykrywa się rocznie ok. 4,5 tys. chłoniaków. Występują one nieznacznie częściej u mężczyzn. Według danych niektórych ośrodków, liczba nowych przypadków chłoniaków w populacji polskiej powinna wynosić ok. 8,6 przypadku/100 tys. mieszkańców/1 rok [5].

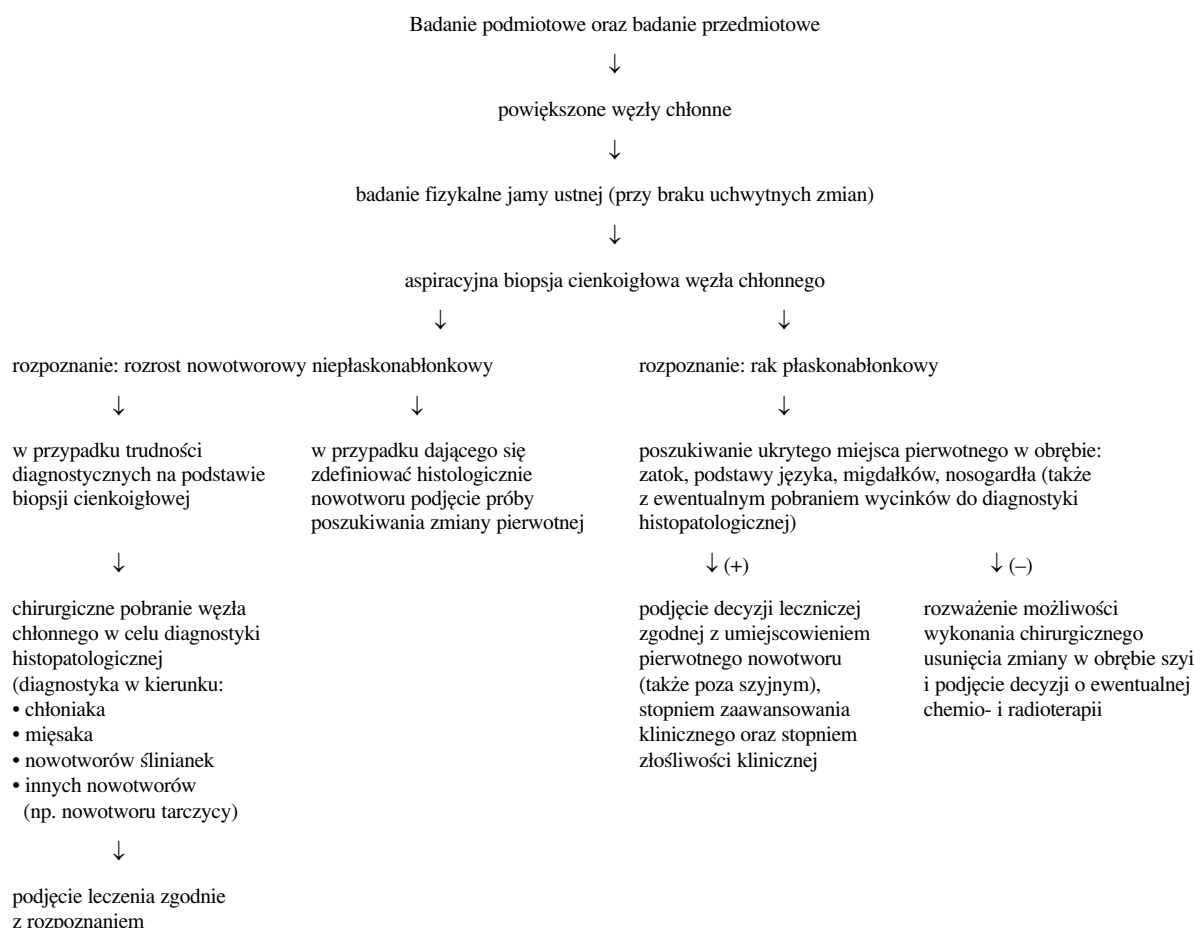


## Metody stosowane w diagnostyce chłoniaków

W rozrostach z komórek hematopoetycznych ważną rolę odgrywa szybka diagnostyka, prowadząca do niezwłocznego podjęcia odpowiedniego leczenia. Na ryc. 1. zaproponowano schemat postępowania w przypadku pacjentów, u których wykryto limfadenopatię w obrębie szyi. Ze względu na fakt, iż rozrosty z komórek limfoidalnych mogą dotyczyć także zmian toczących się w obrębie migdałków, tkanki limfoidalnej błon śluzowych czy nawet rozrostów w obrębie czaszki z naciekaniem struktur zewnętrznych, zawsze należy pamiętać o pobraniu odpowiedniego materiału w celu przeprowadzenia diagnostyki histologicznej. Poniżej zaprezentowano metody służące do postawienia prawidłowego rozpoznania [6, 7].

## Badania morfologiczne

Mimo wielu niedogodności – związanych m.in. z możliwością znacznego *skurczenia się* preparatów tkankowych w czasie utrwalania – najbardziej rozpowszechnionym, podstawowym badaniem diagnostycznym jest barwienie hematoksyliną i eozyną (barwienie HE) preparatów zatopionych w kostce parafinowej po utrwaleniu w formalinie. W przypadku zabezpieczania do rutynowych badań histologicznych standardem powinno być utrwalanie materiału w 10% formalinie buforowanej PBS o pH 7,4. Masson – przez wielu anglosaskich autorów uważany za jednego z najbardziej doświadczonych naukowców i praktyków w technikach histologicznych – uznał, że wspomniane wyżej badanie jest niesatysfakcjonujące zarówno z powodu stosowania złego utrwalacza (tj. formaliny), jak i użycia kiepskich barwników (tj. hematoksyliny



**Ryc. 1.** Propozycja schematu postępowania z pacjentem z powiększonymi węzłami chłonnymi i bez zmian w błonach śluzowych w obrębie głowy i szyi (zmodyfikowana propozycja wg Vokes E.E. In: Harrison's Principles of Internal Medicine, 16<sup>th</sup> edition, 2005)



i eozyne) [7]. Mimo tych krytycznych uwag technika ta nadal pozostaje głównym narzędziem diagnostycznym. Zaletami tego badania są: względna szybkość wykonania, stosunkowo niski koszt, prostota i powtarzalność wykonania, a także – co chyba najważniejsze – możliwość postawienia rozpoznania w przypadku większości wycinków tkankowych nadesłanych do badania.

Tzw. barwienie HE nie wyczerpuje oczywiście wszystkich możliwości diagnostycznych materiału zatopionego w kostkach parafinowych. W przypadkach, w których wymagane są dodatkowe informacje z materiału tkankowego, stosuje się dodatkowe techniki barwień histologicznych. Część autorów nazywa te techniki *specjalnymi*, co należy raczej rozumieć jako synonim potrzeby zastosowania odmiennych odczynników, metod i warunków wykonywanych barwień, a nie jako specjalne potraktowanie materiału diagnostycznego.

### **Badania histochemiczne**

Badania histochemiczne nie są praktycznie wykorzystywane w diagnostyce chłoniaków. W niektórych przypadkach można jednak wykonać barwienie w celu potwierdzenia obecności esterazy chloroocetowej – jednego z niewielu enzymów, które można wykryć, używając do tego materiału z kostek parafinowych (tzw. metoda Ledera). Esteraza chloroocetowa to marker komórek pochodzenia szpikowego oraz komórek tucznych. W praktyce należy pamiętać o niespecyficzności barwień oraz o potrzebie używania świeżego materiału (nieutralonego) ze względu na fakt, iż proces utrwalania materiału, jak i zatapiania (np. w parafinie), może prowadzić do inaktywacji enzymów znajdujących się w komórkach.

### **Immunohistochemia**

W największym uproszczeniu w tych technikach diagnostycznych do oceny komórek i tkanek używa się zasad immunologii. Obecnie dostępnych jest kilka protokołów przeprowadzania barwień immunohistochemicznych. We wszystkich wykorzystano tę samą zasadę, iż wyznakowany marker (tj. przeciwciało związane z barwnikiem fluorescencyjnym lub enzymem, którego produkt reakcji można ocenić technikami mikroskopowymi) wiązany jest swoiście z antygenami obecnymi w tkance. W najczęściej obecnie stosowanej metodzie – tzw. metodzie ABC – na poszczególnych etapach doprowadza się do powstania kompleksu antygen-przeciwciało, gdzie przeciwciało skierowane jest przeciw wybranemu antygenowi (np. obecnemu na powierzchni komórek), z którym to kompleksem następnie wiąże się tzw. wtórne przeciwciało skierowane przeciwko fragmentom przeciwciała użytego w pierwszym etapie reakcji. Przeciwciało wtórne związane jest z kompleksem awidyna-biotyna-peroksydaza. W obecności wody utlenionej, peroksydaza w reakcji enzymatycznej prze-

kształca diaminobezydynamę (tzw. DAB) w brązowy produkt reakcji, dlatego stwierdzenie obecności brązowego zabarwienia na preparatach immunohistochemicznych stanowi pośredni wskaźnik, iż w badanym materiale występuje antygen, przeciwko któremu skierowane było przeciwciało pierwotne. W technice tej w ciągu wielu lat rozwoju doprowadzono do użycia przeciwciał monoklonalnych, charakteryzujących się większą swoistością niż przeciwciała poliklonalne. Używając tych ostatnich, znacznie łatwiej było jednak o dodatni wynik reakcji. Z drugiej strony, zastosowanie kolejnych etapów reakcji wykorzystującej immunologiczny mechanizm łączenia się przeciwciała z odpowiadającym mu antygenem oraz wykorzystywanie ostatecznie do wymarkowania obszaru występowania antygeny reakcji enzymatycznej może prowadzić do wyników fałszywie dodatnich, wynikających z nieswoistych reakcji, określanych jako tło lub odczyn nieswoisty. Zjawisko to wynika z faktu, że w wielu komórkach występuje także peroksydaza endogenna, mogąca być źródłem powstawania produktu reakcji ujawniającego się tak samo, jak po reakcji enzymów związanych z przeciwciałami. Tak więc *dobry* wynik reakcji to czasem balansowanie w celu poszukiwania procedury prowadzącej do redukcji reakcji nieswoistych przy odpowiednio wysokim sygnale z miejsc, w których znajduje się poszukiwany antygen. Znane są ponadto zjawiska nieswoistego wiązania przeciwciał, reakcja krzyżowa pomiędzy przeciwciałem skierowanym przeciwko jednemu antygenowi i wiążącym się także z innym, *przesuwanie się* (w literaturze określane czasem jako *usidlanie*) komórek jednej linii pomiędzy komórki utkrania tkankowego leżącego w pobliżu (np. możliwość zdiagnozowania grasiczaka złośliwego w przypadku chłoniaka Hodgkina lub chłoniaka rozwijającego się w grasicy; w tym przypadku pomiędzy komórkami chłoniaka można wykryć komórki zawierające cytokeratyny – marker komórek nabłonka – które nie są komórkami nowotworu, a jedynie wmieszanymi w utkanie guza komórkami nabłonka grasicy), zjawisko uwalniania antygenów z prawidłowych komórek, które mogą następnie zostać *pochłonięte* przez inne komórki, co w efekcie spowoduje prawdopodobnie mylną interpretację występowania danej populacji w badanym materiale (np. występowanie na terenie cytoplazmy komórek Reed-Sternberga lekkich i ciężkich łańcuchów immunoglobulin, które zostały *wchłonięte* przez te komórki z otoczenia). Biorąc pod uwagę ww. przykłady, mogące prowadzić do błędnego wnioskowania, należy pamiętać, iż stawianie rozpoznania w oparciu o jeden odczyn immunohistochemiczny – bez uwzględnienia wyniku innych reakcji, a także bez weryfikacji uwzględniającej podstawowe barwienia i dane kliniczne – powinno być traktowane jako błąd w sztuce. Jeszcze innym problemem pojawiającym się w czasie wykonywania barwień immunohistochemicznych jest potrzeba



odkrywania antygenów/epitopów dla reakcji immunologicznej. Techniki odkrywania wiążą się z użyciem enzymów trawiących tkankę lub utrwalony wcześniej materiał, a także wykorzystywaniem w czasie kolejnych etapów podgrzewania materiału, np. przy użyciu kuchenki mikrofalowej, co może czasem nieznacznie skomplikować całą procedurę. Mimo wymienionych powyżej – dość wyrywkowo – istotnych elementów mających wpływ na jakość przeprowadzanego badania immunohistochemicznego, obecnie badanie to uważa się za narzędzie czułe i swoiste oraz stosunkowo łatwe do wykonania, a wynik badania jest powtarzalny. W ciągu trwającej ponad pięćdziesiąt lat historii szerokiego zastosowania tych technik stwierdzono ponadto wysoką zbieżność pomiędzy wynikami rutynowej oceny histologicznej a wynikami barwień immunohistochemicznych. Z tych ww. powodów, oraz ze względu na możliwość uszczegółowienia rozpoznania patomorfologicznego dzięki zastosowaniu wykrywania swoistych antygenów, metody te znajdują się obecnie w panelu rutynowych metod diagnostycznych.

W tab. 1. i tab. 2. przedstawiono wybrane antygeny, których ekspresję można oceniać przy użyciu technik immunohistochemicznych, a które mogą mieć zastosowanie w diagnostyce chłoniaków.

### **Cytometria przepływowa**

Podstawą cytometrii przepływowej jest wieloparametryczna ocena populacji komórkowych zawieszonych w buforze. Oprócz oceny wielkości komórek, wielkości jądra komórkowego i proporcji wyników obu tych pomiarów można także dokonać oceny ziarnistości cytoplazmy, żywotności komórek, a nawet ocenić cykl komórkowy (np. odsetek komórek w fazie S cyklu) czy zawartość DNA (tj. ploidię DNA). Ponadto można także wyznaczyć komórki równocześnie kilkoma markerami wiążącymi się np. z różnymi antygenami związanymi z błoną cytoplazmatyczną komórki (antygeny powierzchniowe) czy też antygenami znajdującymi się w cytoplazmie badanych komórek (np. enzymy). Poszczególne surowice użyte do wyznakowania wiążą się z różnymi barwnikami fluorescencyjnymi (fluorochromami), dlatego też przy potraktowaniu związanych z antygenami przeciwciał światłem laserowym otrzymujemy *świecenie* różnymi kolorami, gdzie każdy kolor odpowiada jednemu antygenowi. W tym badaniu, poprzez odpowiedni układ strumienia cieczy, komórki obecne w zawiesinie mogą być *ustawione* w jednym szeregu, a następnie pojedynczo ocenione. Prócz stwierdzenia, czy dana komórka ma na powierzchni lub w cytoplazmie oznaczane antygeny, dzięki zastosowaniu tej metody można także określać intensywność wybarwienia (co świadczy pośrednio o intensywności ekspresji danego antygeny). Dzięki skomputeryzowaniu technika ta pozwala szybko (se-

kundy) poddać ocenie kilkaset do kilkudziesięciu tysięcy komórek. Każda z komórek analizowana jest osobno pod względem ekspresji ocenianych antygenów. Obecnie – zależnie od klasy urządzenia – można jednocześnie ocenić 2–6 antygenów obecnych na komórce.

W ostatnich latach w niektórych ośrodkach cytometria przepływowa stała się rutynowym narzędziem wykorzystywanym w diagnostyce chłoniaków i białaczek. W badaniach diagnostycznych w tej grupie nowotworów użycie cytometrii przepływowej jest o tyle łatwe, iż w przypadku obecności komórek nowotworowych we krwi obwodowej pozwala na stosunkowo łatwe ich pobranie i wykorzystanie do wykonania oceny. Można oczywiście wykorzystywać do badania w cytometrii przepływowej komórki tworzące lite utkanie guza, jednak przed wykonaniem badania wymagane jest uprzednie ich rozseparowanie i zawieszenie w płynie. Takie procedury nie zawsze są możliwe do wykonania. W praktyce cytometria przepływowa pozwala na szybkie i łatwe wykonanie oceny immunofenotypowej [8].

Cytometrię przepływową porównuje się najczęściej z klasycznie wykonywanymi badaniami immunohistochemicznymi na preparatach utrwalonych w formalinie i zatopionych w kostkach parafinowych. Do zalet opisywanej w tej części artykułu techniki można zaliczyć: możliwość jednoczesnej oceny wielu markerów obecnych *na* lub *w* jednej komórce (czasem nawet obecnych w obrębie tych samych struktur komórkowych); możliwość wyselekcjonowania na podstawie np. cech morfologicznych lub cech immunofenotypowych (dzięki zapisywaniu informacji dotyczącej wszystkich badanych komórek w postaci cyfrowej) grup (subpopulacji) komórek, które można następnie poddać dalszej analizie; możliwość wykonania zarówno oceny jakościowej, jak i ilościowej ekspresji użytych w badaniu markerów w całej bądź wydzielonej populacji komórkowej; łatwość oceny zawartości DNA w badanych komórkach (ploidia DNA), dość małą próbkę (ocenią na ok. 2–3 ml krwi lub 0,5 ml szpiku czy też ok. 1 mm<sup>3</sup> utkania węzła chłonnego lub śledziony; istnieje też możliwość oceny w tym badaniu materiału z biopsji np. cienkoigłowej) [9]. Według części autorów może to świadczyć o *wyższości* cytometrii przepływowej nad metodami immunomorfologicznymi wykorzystującymi skrawki parafinowe. Dodatkowo wszystkie wymienione wcześniej warunki sprawiają, iż cytometria przepływowa jest z reguły mało inwazyjna dla pacjenta, a dodatkowy argument przemawiający na jej korzyść to niewielka ilość materiału potrzebnego do wykonania szerokiej oceny immunofenotypowej. Ze względu na czułość metody można także wykrywać bardzo nieliczne populacje komórek nowotworowych. W cytometrii przepływowej ocenie poddaje się żywe komórki, dlatego poddawane ocenie antygeny występują w postaci natywnej, co pozwala na szerszy zakres panelu badania. W badaniu tym wykorzystuje się ponadto pojęcie tzw. *dziury antygenowej*, tj. braku ekspresji odpowiednich



**Tab. 1.** Antygeny przydatne w diagnostyce immunohistochemicznej (wybrane z szerokiego panelu stosowanych rutynowo oznaczeń) [3, 6]

Antygen	Opis i przykład wykorzystania diagnostycznego
ALK	ALK (ang. <i>anaplastic lymphoma gene</i> ) zlokalizowany jest na chromosomie 2 W przypadku translokacji pomiędzy chromosomami 2. i 5. może dochodzić do fuzji tego genu z genem NPM (ang. <i>nucleophosphin</i> ) – w wyniku tego procesu dochodzi do powstawania hybrydowego białka NPM-ALK. Ten produkt białkowy wykrywa się przeciwciałem ALK-1, które może być m.in. markerem dla anaplastycznego chłoniaka wielkokomórkowego
alfa-1-ACT	alfa-1-antychymotrypsyna jest osoczymym inhibitorem proteaz ostrej fazy o masie cząsteczkowej 68 000 Białko to wykazuje wysoką homologię sekwencji DNA do alfa-1-AT (alfa-1-antytrypsyna). Oba te białka są produkowane głównie przez wątrobę, choć mogą służyć także jako markery histiocytów
CD31	przeciwciała wiążą się z progenitorowym antygenem ER-MP12 komórek hematopoetycznych, który jest identyczny z cząsteczką przylegania śródbłonnków naczyńniowych znaną jako PCAM/PECAM-1 Wykorzystywane są w wielu rodzajach nowotworów
CD57 (Leu7)	marker jednego z klonów prawidłowych limfocytów
CD99 (O13; p30/32; MIC2)	marker stosowany głównie w diagnostyce mięsaka Ewinga, obecny także na komórkach chłoniaka limfocytarnego
fascyna	jest białkiem wiążącym aktynę i biorącym udział w tworzeniu wypustek komórek dendrytycznych; w prawidłowych warunkach występuje w komórkach dendrytycznych grudek węzła chłonnego; stwierdzono częstą ekspresję tego białka w komórkach Reed-Stemberga oraz komórkach anaplastycznego chłoniaka wielkokomórkowego
FLI-1	jest to białkowy produkt genu FLI-1 i w prawidłowych warunkach może być używany jako marker komórek śródbłonna; ponadto obserwuje się nadekspresję tego białka w mięsaku Ewinga z powodu fuzji genów EWS/FLI-1; białko to jest też stwierdzane w wielu chłoniakach limfoblastycznych
HLA	antygeny zgodności tkankowej (ang. <i>histocompatibility antigens</i> – HLAs) są związanymi z błoną komórkową glikoproteinami, które odgrywają rolę w regulacji odpowiedzi komórkowej, a także odpowiadają za podatność bądź oporność na niektóre choroby Odpowiadają m.in. za odrzucanie przeszczepów. Wyróżnia się 2 grupy tych antygenów, tj. antygeny klasy I (kodowane przez regiony HLA-A, HLA-B i HLA-C odpowiedniego genu), obecne na powierzchni wszystkich komórek mających jądra komórkowe, oraz antygeny klasy II (kodowane przez regiony HLA-DR) – znane jako antygeny HLA-DR lub antygeny podobne do Ia (ang. <i>Ia-like</i> ) – obecne na wszystkich histiocytach, choć jako takie nie są dla nich specyficznym markerem, gdyż występują także na limfocytach B oraz aktywowanych limfocytach T
Ig	immunoglobuliny to białka produkowane przez komórki plazmatyczne, biorące udział w odpowiedzi immunologicznej Wyróżnia się 5 podstawowych klas tych białek: IgA, IgD, IgE, IgG oraz IgM. Wszystkie immunoglobuliny zbudowane są z tzw. lekkich i ciężkich łańcuchów polipeptydowych. Skład łańcuchów ciężkich determinuje, do której z klas dana immunoglobulina należy. Łańcuchy lekkie mogą występować jako łańcuchy kappa lub lambda. Wykonując barwienia immunohistochemiczne na obecność łańcuchów lekkich i ciężkich, można określić, czy mamy do czynienia z mono- czy poliklonalną populacją komórek plazmatycznych
ICAM	cząsteczki adhezji (ang. <i>intercellular adhesion molecules</i> – ICAMs) odgrywają rolę w połączeniach międzykomórkowych Cząsteczka ICAM-1 bierze udział w procesach zapalenia i występuje na powierzchni monocytów oraz limfocytów B i T. Cząsteczka NCAM (znana też jako CD56) jest obecna na komórkach NK. Cząsteczki CAM są oprócz tego obecne na wielu innych populacjach komórkowych, m.in. fibroblastach i komórkach nabłonków
IL	interleukiny stanowią rodzinę glikoprotein produkowanych m.in. przez makrofagi i limfocyty T Odrywają one rolę w regulowaniu odpowiedzi immunologicznej, hematopoezie oraz ostrej fazie zapalenia
antygeny limfoidalne/leukocytarne	do grupy tej należy ponad 250 antygenów opisanych jako <i>związane z limfocytami</i> W celu uporządkowania przynależności odpowiednich antygenów najczęściej używa się nazewnictwa z użyciem skrótu CD (ang. <i>cluster designation/determination</i> ) i podaniem kolejnego numeru. Większość tych antygenów związana jest z błoną komórkową i odpowiada poszczególnym podtypom limfocytów oraz poziomowi ich czynnościowej dojrzałości. Niektóre z antygenów określanymi jako CD występują także na innych populacjach komórkowych
lizozym	enzym bakteriobójczy, znany także jako muramidaza Występuje w wydzielinach ciała, a także w granulocytach obojętnochłonnych. Może być stosowany jako nieswoisty marker histiocytów
tryptaza	jest obojętną proteazą występującą jako przeważający składnik białkowy w komórkach tucznych; występuje także w innych komórkach pochodzenia hematopoetycznego, tj. m.in. eozynofilach, monocytach i limfocytach

markerów, co w niektórych przypadkach (np. rozrostów nowotworowych z limfocytów T) pozwala na postawienie odpowiedniego rozpoznania [10]. Do zalet diagnostyki przy użyciu tej metody niewątpliwie należy także jej czułość, która przewyższa możliwości ludzkiego oka

(szczególnie przy dyskryminacji niskiej ekspresji antygenów), a także dość krótki czas (kilka godzin) między pobraniem materiału a postawieniem rozpoznania.

Dzięki możliwościom diagnostycznym, jakie niesie cytometria przepływowa, stosując ją jako jedyne narzę-



**Tab. 2.** Wybrane antygeny wykorzystywane w ocenie immunohistochemicznej różnicowania komórek układu chłonnego [2]

Antygen	Występowanie (w prawidłowych komórkach)
<i>antygeny związane głównie z limfocytami/komórkami T</i>	
CD1	tymocyty korowe oraz histiocyty Langerhansa
CD3	tymocyty i obwodowe limfocyty T
CD4	pomocnicze limfocyty T, pojedyncze tymocyty występujące w rdzeniu narządu, a także tymocyty wykazujące ekspresję zarówno CD4, jak i CD8
CD5	limfocyty T oraz mała podgrupa limfocytów B
CD8	cytotoksyczne obwodowe limfocyty T, pojedyncze tymocyty rdzenia grasicy, podwójnie pozytywne tymocyty korowe, niektóre komórki NK (ang. <i>natural killer</i> )
<i>antygeny związane głównie z limfocytami/komórkami B</i>	
CD10	nazywany także antygenem CALLA (ang. <i>common acute lymphoblastic leukemia antigen</i> ), szpikowe komórki pre-B, limfocyty B centrów rozrodczych węzła chłonnego
CD19	szpikowe limfocyty pre-B, dojrzałe limfocyty B (lecz nie komórki plazmatyczne)
CD20	szpikowe limfocyty pre-B po fazie CD19 pozytywnej, dojrzałe limfocyty B (lecz nie komórki plazmatyczne)
CD21	jest receptorem dla wirusa EBV (ang. <i>Epstein-Barr virus</i> ), obecny na dojrzałych limfocytach B oraz komórkach dendrytycznych
CD23	aktywowane dojrzałe limfocyty B
CD79a	szpikowe limfocyty pre-B, dojrzałe limfocyty B
<i>antygeny związane głównie z monocytami lub makrofagami</i>	
CD11c	granulocyty, monocyty i makrofagi (ekspresję wykazano także w komórkach białaczki włochatokomórkowej; ang. <i>hairy cell leukemia</i> )
CD13	niedojrzałe i dojrzałe monocyty i granulocyty
CD14	monocyty
CD15	granulocyty; antygen ten jest także obecny na komórkach Reed-Sternberga oraz ich wariantach w klasycznych postaciach ziarnicy złośliwej
CD33	komórki progenitorowe szpiku oraz monocyty
CD64	dojrzałe komórki mieloidne
<i>antygeny związane głównie z komórkami NK (ang. <i>natural killer</i>)</i>	
CD16	komórki NK i granulocyty
CD56	komórki NK oraz niektóre limfocyty T
<i>antygeny związane głównie z komórkami pnia (ang. <i>stem cell</i>) i związane z komórkami progenitorowymi</i>	
CD34	pluripotencjalna komórka pnia szpiku oraz progenitorowe komórki wielu linii komórkowych
<i>antygeny aktywacji komórek</i>	
CD30	aktywowane limfocyty B, T i monocyty; antygen ten jest także obecny na komórkach Reed-Sternberga oraz ich wariantach w klasycznych postaciach ziarnicy złośliwej
<i>antygeny obecne na wszystkich leukocytach</i>	
CD45	nazywany także LCA (ang. <i>leukocyte common antigen</i> ), obecny na wszystkich leukocytach

dzie diagnostyczne, można postawić rozpoznanie w przypadku przewlekłej białaczki limfatycznej B-CLL/SLL, chłoniaka z komórek płaszczka MCL i chłoniaka grudkowego FL. W tych przypadkach wykorzystuje się ocenę ekspresji następującego panelu antygenów: CD19, CD5, CD23, FMC7, SmIg kappa i łańcuchów lekkich SmIg lambda [10].

Oczywiście metoda ta nie jest pozbawiona wad, dlatego należy pamiętać o jej ograniczeniach, np. braku możliwości oceny, czy antygen znajduje się na terenie cytoplazmy, czy jądra komórkowego (detektory *widzą* komórkę jako plamę, w której poszczególne warstwy nakładają się). Ponadto ocenie dość trudno poddają się komórki, które ulegają uszkodzeniu w czasie procesu przygoto-





wywania materiału (np. komórki chłoniaków wielkokomórkowych czy komórki Reed-Sternberga w ziarnicy złośliwej). Trudności diagnostyczne można także napotkać w przypadku nowotworów, dla których nie zostały wystarczająco dokładnie zdefiniowane markery immunofenotypu (np. chłoniak wielkokomórkowy z komórek B). Na zakończenie warto zwrócić uwagę, że atutem tego badania jest jego szybkość, z drugiej strony poddawanie ocenie żywych komórek narzuca ramy czasowe, w których badanie musi być zakończone. Czasem więc możliwość wykonania takiego badania ograniczona jest odległością do najbliższego ośrodka dysponującego odpowiednim zespołem diagnostycznym i aparaturą.

### **Ocena proliferacji komórek**

Klasyczny sposób oceny proliferacji komórek opiera się na liczeniu komórek będących w czasie podziału komórkowego (mitozy) w polu widzenia pod danym powiększeniem (np. obiektywu 40x) mikroskopu świetlnego. Ze względu na różny obszar podlegający ocenie – co warunkuje szerokość pola widzenia, limitowanego zarówno przez parametry obiektywu, jak i okularu – znacznie bardziej przydatna okazuje się ocena odsetka komórek z widocznymi mitozami w przeliczeniu na populację badanych komórek. Metoda ta, bez użycia zautomatyzowanych układów pomiarowych, może być jednak dość pracochłonna. Z tego powodu poszukiwano innych wskaźników, które mogłyby odzwierciedlać zdolności proliferacyjne danego nowotworu. Jednym z często stosowanych markerów jest antygen Ki-67. Odpowiada on niehistonowemu białku jądra komórkowego i jego ekspresja jest obserwowana w czasie proliferacji komórki w fazie G1, G2, M oraz S. Obecnie w celu określenia ekspresji Ki-67 (w związku z określeniem kolejnych epitopów tego białka dostępne są też przeciwciała MIB-1 i MIB-3) używa się standardowego barwienia immunohistochemicznego. Z licznych opublikowanych do tej pory prac wynika, iż ekspresja Ki-67 dobrze koreluje z liczbą komórek w podziałach mitotycznych. Innymi markerami, ocenianymi także techniką immunohistochemiczną, są topoisomeraza II-alfa, szereg cyklin (tj. cykliny A, B, C i D), a także kinazy zależne od cyklin (ang. *cyklin-dependent kinases* – CDK) oraz podjednostka katalityczna białkowej kinazy (ang. *protein kinase catalytic subunit* – Cdk2). Ocenie można także poddawać inhibitory cyklu komórkowego, oceniając ekspresję produktów takich genów, jak Rb i p53. Wymienione antygeny ocenia się tak, jak inne barwienia immunohistochemiczne.

### **Badania cytogenetyczne i biologia molekularna**

Jednymi z pierwszych stosowanych badań były badania kariotypu. Ze względu na uciążliwość wykonania

oraz brak wyraźnych korelacji pomiędzy ocenianymi zmianami a poszczególnymi nowotworami, obecnie nie są one stosowane jako oznaczenia podstawowe. Przydatniejsze okazały się bardziej szczegółowe badania chromosomów, prowadzące do określenia, czy w danej populacji komórkowej występują delecje, amplifikacje, mutacje punktowe, inwersje lub translokacje. Te informacje są obecnie często stosowane w typowaniu nowotworów z grupy białaczek i chłoniaków, a także np. w nowotworach pochodzenia mezenchymalnego.

Do dwóch technik wykorzystywanych obecnie w sposób intensywny należą: hybrydyzacja *in situ* (polegająca na wykrywaniu poszukiwanej sekwencji kwasu nukleinowego, np. wirusów HPV, EBV czy HIV, w badanym materiale przy użyciu wyznakowanej sekwencji komplementarnego kwasu nukleinowego) oraz technika PCR (ang. *polymerase chain reaction*). Ta ostatnia polega na namnażaniu fragmentów sekwencji DNA lub RNA w milionowych kopiach, co pozwala na ilościową ocenę obecności poszukiwanej sekwencji kwasu nukleinowego. Może ona być wykorzystywana do oceny materiału z rutynowych skrawków parafinowych. Obecnie w niektórych ośrodkach technikę PCR wykorzystuje się do oceny rearanżacji genów dla Ig oraz TCR. Pozwala to na ocenę klonalności rozrostów z limfocytów B lub T, ocenę występowania transkryptów powstających w czasie translokacji, np. t(14;18) w chłoniakach grudkowych, ocenę niestabilności mikrosatelitarnej oraz stwierdzenie obecności wirusowych kwasów nukleinowych w badanych komórkach (np. obecność zakażenia EBV w chłoniakach).

### **Mikroskopia elektronowa**

Technika ta nie jest już tak często stosowana jak w latach ubiegłych, prawdopodobnie w wyniku rozwoju technik immunohistochemicznych, które pod wieloma względami są łatwiejsze do wykonania i nie wymagają specjalistycznej wiedzy interpretatora obrazów, niezbędnej w ocenie ultrastruktury zmian. W celach diagnostycznych stosuje się praktycznie tylko transmisyjną mikroskopię elektronową. Inne techniki, tj. mikroskopia skaningowa czy mikroskop elektronowy sił atomowych, nie mają zastosowania diagnostycznego. Mimo dostępności innych technik badawczych transmisyjna mikroskopia elektronowa może nadal stanowić źródło informacji wykorzystywanych diagnostycznie, jeżeli stosowana jest rozsądnie w wybranych przypadkach. Jednym z przykładów zastosowania tego narzędzia w omawianej grupie nowotworów może być wykazanie obecności ziarnistości Birbecka charakterystycznych dla komórek Langerhansa (występują w grupie rozrostów o typie histocytoz). Jedno z ograniczeń stanowi oczywiście stosunkowo niewielka ilość materiału (w porównaniu z klasycznymi preparatami histologicznymi zatopionymi w parafinie), jaka może być poddana



ocenie w danej chwili – dlatego dość istotne jest pobranie odpowiedniego materiału do badań. Innym utrudnieniem, jeśli chcemy uzyskać obrazy ultrastrukturalne na najwyższym poziomie, jest wymóg zabezpieczenia materiału. Klasycznymi utrwalaczami stosowanymi obecnie do zabezpieczenia materiału do badań ultrastrukturalnych są: 4% roztwór glutaraldehydu i utrwalacz wg Kanowskiego (mieszanina przygotowana z glutaraldehydu i formaldehydu). Utrwalanie do transmisyjnej mikroskopii elektronowej odbywa się w temp. 4°C. Ze względu na inne warunki przygotowywania materiału do oceny ultrastrukturalnej (począwszy od utrwalania, przeprowadzania materiału po zatopienie wycinków w żywicy epoksydowej), najlepiej w wybranych przypadkach pobierać materiał od razu do badań mikroskopowo-elektronowych (wtedy otrzymuje się obrazy najlepszej jakości). Istnieje jednak możliwość przeprowadzenia tego rodzaju badania na materiale wcześniej utrwalonym w formalinie, a nawet na materiale już zatopionym w parafinie, jednak w tych przypadkach jakość uzyskanych obrazów w kolumnie mikroskopu znacznie odbiega od oczekiwań.

### **Metody oceny ilościowej**

Przez część środowiska lekarskiego metody oceny ilościowej mogą być traktowane jako zbyt *naukowe* próby oceny materiału. Pamiętać jednak należy, iż prawidłowo prowadzona ocena pozwala na zwiększenie obiektywizacji interpretacji wyników (np. po zastosowaniu barwień dodatkowych lub w przypadku oceny poziomów ekspresji poszczególnych antygenów ocenianych po zastosowaniu barwień immunohistochemicznych), a także prowadzi do zwiększenia powtarzalności oceny materiału biologicznego. W tradycyjnym ujęciu używano zdjęć, na które nakładano odpowiednie siatki, a potem oceniano występowanie danej cechy. Dzięki wprowadzeniu automatyzacji oraz komputeryzacji procedur przydatnych w ocenie ilościowej techniki te stają się prostsze w wykonaniu oraz szerzej dostępne. Obecnie metody morfometryczne zyskują coraz większe zastosowanie m.in. w następujących procedurach diagnostycznych dotyczących oceny zmian nowotworowych:

- ocenie ploidi DNA (do oceny ilości DNA w jądrze komórkowym wykorzystuje się preparaty zabarwione wg metody Feulgena),
- ocenie indeksu mitotycznego/proliferacyjnego (oceniające na podstawie oznaczeń immunohistochemicznych dla antygeny MIB-1 [Ki-67] lub innych markerów),
- ocenie ekspresji receptorów dla np. czynników wzrostu obecnych na powierzchni komórek nowotworowych (zarówno np. w przeliczeniu na powierzchnię, jak i na liczbę komórek nowotworu),
- ocenie współczynnika wielkości komórki do wielkości jądra komórkowego.

Ocena ilościowa komórek, prócz oceny jakościowej, stanowi podstawę wyników w cytometrii przepływowej. Morfometria styczna to nieocenione narzędzie we wszystkich przypadkach, gdy niemożliwe jest otrzymanie zawiesiny komórek lub zmiana dostępna jest jedynie w postaci litego fragmentu tkankowego.

### **Przegląd wiadomości dotyczących chłoniaków**

W 2/3 przypadków chłoniaki ujawniają się jako zlokalizowane lub uogólnione zajęcie węzłów chłonnych, w pozostałej części przypadków (33%) – rozwijają się jako guzy pozawęzłowe (mogą lokalizować się np. w skórze, żołądka czy ośrodkowym układzie nerwowym). W ok. 80–85% przypadków chłoniaki wywodzą się z komórek (limfocytów) B, a w 20% przypadków z komórek (limfocytów) T. Nowotwory wywodzące się z komórek NK (ang. *natural killers*) lub histiocytów występują rzadko. Jak wspomniano na początku pracy, obecna klasyfikacja chłoniaków opiera się na tzw. klasyfikacji REAL (ang. *Revised American-European Lymphoma Classification*). Podstawowy podział uwzględnia ziarnicę złośliwą oraz chłoniaki nieziarnicze. Ta ostatnia grupa klasyfikowana jest na podstawie pochodzenia komórki, która podlega rozplemowi nowotworowemu [2, 3].

### **CHŁONIAKI NIEZIARNICZE**

#### **Nowotwory z komórki B**

*B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL)/prolymphocytic leukemia (B-PLL)/small lymphocytic lymphoma (SLL)*

Charakterystyka kliniczna:

- w większości diagnozowanych przypadków obserwuje się reakcję białaczkową (wyjątek stanowi SLL z histologicznymi cechami przewlekłej białaczki B-komórkowej, gdzie obraz białaczkowy nie jest charakterystyczny),
- występuje zwykle u osób dorosłych (średnia wieku 60 lat),
- w rzadkich przypadkach stwierdza się paraproteinemię,
- B-CLL cechuje się powolnym przebiegiem, generalnie leczenie nie wpływa na przedłużenie przeżywalności,
- powikłania obejmują transformację prolimfocytarną (zobacz: chłoniak z dużych komórek B, tzw. zespół Richtera), co znacznie pogarsza rozpoznanie,
- B-PLL związany jest zwykle z towarzyszącą mu splenomegalią oraz bardzo dużą liczbą limfocytów w rozmazie krwi obwodowej,
- B-CLL cechuje się znacznie bardziej agresywnym przebiegiem klinicznym niż B-PLL.



Obraz histologiczny:

- w materiale z węzła chłonnego obserwuje się małe limfocyty (o średnicy od 6 do 12  $\mu\text{m}$ ), prolimfocyty lub paraimmunoblasty; te dwie ostatnie populacje komórkowe mogą tworzyć grudki rzekome; w niektórych przypadkach utkanie tego nowotworu stanowią komórki o różnicowaniu w kierunku komórek plazmatycznych.
- Inne cechy:
- komórki nowotworu wykazują zwykle ekspresję powierzchniowych Ig oraz silną ekspresję antygenów pan-B,
- w przypadkach B-CLL często występuje trisomia 12 lub 13q,
- w B-PLL obserwuje się translokację t(11;14).

### ***Lymphoplasmocytic lymphoma***

Charakterystyka kliniczna:

- rozwija się u starszych osób (zwykle 6. lub 7. dekada życia),
- w chwili rozpoznania bardzo często obecna jest paraproteinemia (makroglobulinemia Walderströma),
- diagnozowani pacjenci są zwykle w wysokim stadium zaawansowania choroby,
- przebieg choroby jest powolny, lecz postępujący, a średni czas przeżycia wynosi ok. 6 lat,
- czasem (rzadko) choroba może ulegać transformacji w chłoniaka z dużych komórek B.

Obraz histologiczny:

- w utkaniu obserwuje się mieszaninę małych limfocytów, limfocytów plazmocytoidalnych i komórek plazmatycznych,
- w komórkach tych często stwierdza się nagromadzenie PAS dodatnich wtrętów, które zawierają immunoglobuliny i znajdują się na terenie cytoplazmy (ciałka Russela) lub jądra komórkowego (ciałka Duchera).

Inne cechy:

- obecność powierzchniowych Ig oraz ekspresja antygenów pan-B,
- rozpoznawane są rzadko, zwykle po wykluczeniu innych typów chłoniaków z różnicowaniem w kierunku komórek plazmatycznych.

### ***Mantle cell lymphoma***

Charakterystyka kliniczna:

- typowo występuje u starszych pacjentów (ok. 5. i 6. dekady życia),
- diagnozowany jest najczęściej w zaawansowanym stadium, z zajęciem węzłów chłonnych, pierścienia Waldeyera, śledziony, a także szpiku kostnego i przewodu pokarmowego,
- traktuje się go jako *umiarkowanie* złośliwy, zwykle niepoddający się leczeniu; średnie przeżycie waha się pomiędzy 3 a 5 latami.

Obraz histologiczny:

- w badaniach morfologicznych może mieć zarówno niewyraźnie zaznaczony grudkowy charakter, jak

i prezentować się jako postać rozlana zajęcia węzła chłonnego, choć w niektórych przypadkach zaznaczenie strefy brzeżnej ma wyraźny charakter,

- w przypadkach typowych utkanie guza stanowią małe limfocyty z okrągłym bądź nieregularnym (tzw. wrębiastym) jądrem komórkowym, a cytoplazma obecna jest w postaci wąskiego rąbka; czasem guz składa się z komórek o średniej wielkości,
- w utkaniu nie tworzą się grudki rzekome,
- zwykle nie występują komórki o typie centroblasty lub immunoblasty,
- w podtypie zawierającym komórki podobne do *blastów* (w tym przypadku obserwuje się duży indeks mitotyczny) należy wykonać odpowiednie badania fenotypu, by różnicować go z limfoblastycznym chłoniakiem/białaczką zajmującą węzły chłonne.

Immunofenotyp:

- CD19(+), CD20(+),
- powierzchniowe Ig (zwykle IgM i IgG) oraz łańcuchy kappa lub lambda,
- ponadto CD5(+) i CD23(ujemne).

Inne cechy:

- stwierdza się charakterystyczną ekspresję cykliny D,
- często występuje translokacja t(11;14), a także obserwuje się nadekspresję bcl-1.

### ***Follicle centre lymphoma, follicular***

Charakterystyka kliniczna:

- występuje najczęściej u osób dorosłych,
- przebieg kliniczny może być bezobjawowy,
- pacjenci diagnozowani są zwykle w wysokim stadium zaawansowania choroby, z zajęciem węzłów chłonnych, śledziony i szpiku kostnego,
- rzadko rozpoznaje się go w pierwotnie pozawęzłowej lokalizacji,
- przebieg kliniczny jest powolny, leczenie nie przynosi zwykle efektów, a średni czas przeżycia waha się od 6 do 8 lat.

Obraz histologiczny:

- obserwuje się występujące w różnych proporcjach komórki określane jako komórki centrów grudek (tj. centrocyty i centroblasty),
- komórki guza mogą zajmować węzeł chłonny w sposób grudkowy lub rozlany.

Immunofenotyp:

- odpowiada normalnym komórkom grudek, tak więc obserwuje się CD19(+), CD20(+) i CD10(+) [tzw. antygen CALLA],
- obecne są immunoglobuliny powierzchniowe,
- CD5(ujemne);

Inne cechy:

- występuje typowa translokacja t(14;18),
- w 70–95% przypadków obserwuje się rearanzację genu bcl-2,
- w prawie wszystkich przypadkach obserwuje się ekspresję BCL-6.



***Extranodal marginal zone B-cell lymphoma (Low grade B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type; MALT-type)***

Charakterystyka kliniczna:

- jest to heterogenna grupa nowotworów, które mogą występować zarówno w lokalizacji węzłowej, jak i w śledzionie lub tkankach pozawęzłowych,
- pierwotnie został opisany jako występujący w błonach śluzowych (stąd nazwa MALToma – ang. *mucosa-associated lymphoid tissue*), choć może być rozpoznawany także w takich lokalizacjach, jak ślinianki, płuca czy tarczycy,
- w chwili rozpoznania pacjenci są najczęściej w I lub II stadium zaawansowania choroby,
- jest to nowotwór potencjalnie poddający się leczeniu (np. wycięcie chirurgiczne zmiany i/lub radioterapia).

Cechy histologiczne:

- utkanie nowotworu składa się najczęściej z małych limfocytów strefy brzeżnej (podobne do centrocytów),
- naciek może przybierać postać okołogrudkową, międzygrudkową, grudkową lub rozlaną.

Inne cechy:

- obecne są powierzchniowe Ig oraz dodatnie antygeny pan-B,
- w niektórych przypadkach obserwuje się ekspresję bcl-1, bcl-2,
- występować może trisomia 3 oraz translokacje t(11;18), t(1;14) i t(q21;q21),
- stanami predysponującymi do rozwoju tego guza są zakażenia *Helicobacter pylori* (czasem guz może ulegać regresji po eradykacji zakażenia leczeniem przeciw *Helicobacter*) i choroby o podłożu autoimmunologicznym (np. zespół Sjögrena i zapalenie tarczycy typu Hashimoto).

***Plasmocytoma/myeloma***

Charakterystyka kliniczna:

- większość przypadków rozwija się u dorosłych pacjentów jako szpiczak z zajęciem wielu kości (guz lokuje się w szpiku kostnym i prowadzi do zmian litycznych w kościach),
- ze względu na zajęcie kości towarzyszy mu najczęściej hiperkalcemia,
- choroba ma zmienny przebieg i może prowadzić do zgonu w ciągu 6–12 mies. od chwili postawienia rozpoznania,
- czasem występuje szpiczak izolowany (ang. *plasmocytoma*), który może zajmować zarówno kości, jak i tkanki pozakostne, a wśród nich najczęściej płuca, jamę ustną i gardło oraz zatoki oboczne nosa,
- w przypadku *plasmocytoma* rokowanie jest lepsze, choć istnieje niebezpieczeństwo transformacji w szpiczaka mnogiego.

Obraz histologiczny:

- składa się z komórek plazmatycznych lub ich postaci blastycznej,

Inne cechy:

- antygeny pan-B są ujemne,
- komórki guza produkują duże ilości interleukiny-6 (IL-6), ponadto produkują inne cytokiny, np. MIP1alfa czy RANKL (aktywator receptora liganda NF-κB),
- często występują delecje 13q oraz translokacje obejmujące *loci* dla łańcuchów ciężkich immunoglobulin na chromosomie 14q32,
- translokacja t(11;14) występuje rzadko,
- często pojawiają się nawracające zakażenia bakteryjne (wywołane przede wszystkim przez *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* oraz *Escherichia coli*) przy braku upośledzenia odporności komórkowej,
- w osoczu oraz w moczu obecne są podwyższone poziomy immunoglobulin lub łańcuchów lekkich bądź ciężkich (białka Bence-Jonesa).

***Diffuse large B-cell lymphoma***

Charakterystyka kliniczna:

- grupa heterogenna,
- szeroki zakres wieku pacjentów,
- zwykle obserwuje się szybko rosnące masy guza,
- w ok. 40% przypadków choroba ma lokalizację pozawęzłową,
- może rozwijać się *de novo* lub jako transformacja chłoniaków B-komórkowych o niskim stopniu złośliwości,
- przebieg kliniczny jest zazwyczaj gwałtowny, choć poddający się leczeniu – remisję uzyskuje się u 60–80% pacjentów, a wieloletnie okresy wolne od choroby obserwuje się u 50% chorych.

Obraz histologiczny:

- utkanie tworzą duże komórki (zwykle ok. 4 razy większe niż tzw. małe limfocyty) z wyraźnymi jąderkami,
- obserwuje się miernie duży indeks mitotyczny.

Immunofenotyp:

- występują markery pan-B, tj. CD19(+) i CD20(+),
- ekspresja markerów centrów rozrodczych w postaci CD10 i BCL-6 jest jednak zmienna,
- w większości przypadków obserwuje się ekspresję powierzchniowych immunoglobulin,
- we wszystkich przypadkach nie ma ekspresji TdT.

Inne cechy:

- występują zmiany ekspresji BCL-6 lub BCL-2,
- opisywane są mutacje w obrębie onkogenu c-MYC,
- w 10–20% przypadków stwierdza się translokację t(14;18).

***Burkitt's lymphoma***

Charakterystyka kliniczna:

- często rozwija się u dzieci i pacjentów z immunosupresją (wywołaną głównie AIDS),
- występuje endemicznie w Afryce, choć sporadycznie także w innych regionach świata,
- w większości przypadków ujawnia się jako szybko rosnący guz,



- lokalizuje się zwykle pozawęzłowo (zajęcie przewodu pokarmowego, nerek, gonad, gruczołu piersiowego czy kości twarzy),
- jest nowotworem o wysokiej złośliwości, ale potencjalnie poddaje się leczeniu.

Obraz histologiczny:

- nacieki złożone są z komórek o średnicy 10–25  $\mu\text{m}$ , z zasado- lub amfofilną cytoplazmą, które zawierają okrągłe lub owalne jądra z licznymi jąderkami,
- cechą charakterystyczną jest wysoki indeks mitotyczny,
- wśród utkania nowotworowego występują liczne makrofagi (fagocytujące resztki komórkowe) o dużej i jasnej cytoplazmie, co daje wrażenie opisywania jako obraz *rozgwieżdzonego nieba*.

Immunofenotyp:

- CD19(+), CD20(+), CD10(+), BCL6(+).

Inne cechy:

- obserwuje się powierzchniowe Ig (zwykle IgM),
- występuje monotypowa ekspresja łańcuchów kappa lub lambda,
- we wszystkich postaciach endemicznych obecne są wykładniki zakażenia wirusem EBV,
- we wszystkich postaciach chłoniaka Burkitta występują translokacje związane z genem c-MYC na chromosomie 8, stąd obecne są translokacje: t(8;14), t(2;8), t(8;22).

## Chłoniaki z limfocytów/komórek T i nowotwory z komórek NK

### Peripheral T-cell lymphoma

Charakterystyka kliniczna:

- jest to heterogenna grupa nowotworów, którą tworzą jednostki niesklasyfikowane w innym miejscu,
- większość pacjentów w chwili rozpoznania ma uogólnioną limfadenopatię, której towarzyszą eozynofilia, świąd skóry, podwyższona temperatura ciała i utrata masy ciała.

Immunofenotyp:

- CD2(+), CD5(+) oraz powierzchniowe CD3(+) i dodatnia ekspresja powierzchniowych receptorów limfocytów T, tj.  $\alpha\beta$  lub  $\gamma\delta$ ,
- czasem występują także komórki CD4(+) lub CD8(+),
- ekspresja TdT jest ujemna.

### Anaplastic large cell lymphoma

Charakterystyka kliniczna:

- występuje zarówno u dzieci, jak i u dorosłych pacjentów,
- u młodszych pacjentów po zastosowaniu chemioterapii uzyskuje się 70–80% wyleczeń.

Inne cechy:

- ze względu na występującą w tym nowotworze rearanżację genu dla ALK (zaburzenie genetyczne swoiste dla tego nowotworu), który znajduje się na chromosomie 2, ma on dość charakterystyczną biologię przebiegu klinicznego,

- u dzieci obecność rearanżacji ALK stanowi dobry czynnik prognostyczny,
- brak ww. rearanżacji u pacjentów dorosłych to zły czynnik prognostyczny.

### Adult T-cell lymphoma

Charakterystyka kliniczna:

- jest to nowotwór z limfocytów CD4(+),
- występuje u pacjentów zakażonych wirusem HTLV-1 (*human T-cell leukemia virus type 1*),
- u większości pacjentów choroba cechuje się gwałtownym przebiegiem, prowadząc do zgonu w ciągu kilku miesięcy do roku, mimo stosowania chemioterapii.

### Large granular lymphocyte leukemia, T-cell type

Charakterystyka kliniczna:

- rzadki rozrost, którego charakterystyczną cechą jest występowanie we krwi obwodowej i w szpiku kostnym komórek z obfitą niebieską cytoplazmą, w której znajdują się pojedyncze ziarnistości azurofilne,
- na określenie tego rozrostu używano wielu nazw, m.in. *T $\gamma$  lymphoproliferative disease*, *CD8 lymphocytosis* czy też CD8+ T-CLL.

### Mycosis fungoides/Sezary syndrome

Charakterystyka kliniczna:

- występuje głównie u osób dorosłych,
- wykazuje dużą tendencję do zajęcia skóry – może mieć postać wieloogniskowo występujących plam lub grudek, a nawet uogólnionego rumienia,
- zajęcie węzłów chłonnych następuje w późniejszym okresie choroby,
- cechuje się powolnym przebiegiem, choć może nastąpić transformacja w innego chłoniaka o bardziej agresywnym przebiegu.

Obraz histologiczny:

- mogą być obecne małe bądź duże limfocyty, czasem o charakterystycznych jądrach,
- występują nacieki śródskórne z tropizmem do naskórka.

Inne cechy:

- przyjmuje się, że chłoniak ten składa się z CD4(+) pomocniczych limfocytów T, stąd immunofenotyp odpowiada następującemu obrazowi: dodatnie antygeny pan-T, ujemne reakcje na TdT, prawie zawsze są komórki CD4(+) i CD8(ujemne).

## ZIARNICA ZŁOŚLIWA, CHOROBA HODGKINA, HODGKIN'S DISEASE

Jest to grupa limfoidalnych rozrostów nowotworowych, które w wielu aspektach różnią się od opisanych wcześniej tzw. chłoniaków niezziarnicznych. Jedną z podstawowych cech tych chorób to przebieg kliniczny. Ziarnica złośliwa rozpoczyna się najczęściej zajęciem jednego węzła chłonnego lub jednej grupy węzłów



chłonnych, a następnie zajmuje w sposób ciągły kolejne sąsiadujące grupy węzłów chłonnych. Morfologicznie ziarnicę złośliwą wyróżnia występowanie w utkaniu nowotworowym charakterystycznych olbrzymich komórek nazywanych komórkami Reed-Sternberga (RS). Schorzenie to stanowi najczęstszą postać złośliwego rozrostu nowotworowego w populacji młodych dorosłych, a średni wiek rozpoznania choroby to 32 lata.

Według klasycznych opisów komórka RS jest stosunkowo duża, a jej średnica waha się od 15 do 45  $\mu\text{m}$ . Zawiera dwa jądra lub jądro o dwóch płatach, których ułożenie sprawia, że odnosi się wrażenie, iż każda z połówek komórki stanowi lustrzane odbicie drugiej części. Jądra komórkowe zawierają jąderka, przybierające charakterystyczny obraz *sowich oczu*, otoczone przez strefę przejściowego zbarwienia (*halo*). Cytoplazma tych komórek jest obfita i amfofilna. W utkaniu mogą także występować warianty komórek RS, w postaci wariantu jednojądrzastego, komórek lakunarnych (zatokowych) oraz wariantu limfocytarno-histiocytarnego zawierającego charakterystyczne jądro opisywane w literaturze anglosaskiej jako *popcorn kernels*.

W większości przypadków choroba rozpoczyna się jako bezbolesne powiększenie węzłów chłonnych. Niektórzy pacjenci skarżą się na ból węzłów chłonnych po spożyciu alkoholu. W przebiegu choroby można wyróżnić następujące etapy: najpierw rozwija się ona w kolejnych grupach węzłów chłonnych, następnie dochodzi do zajęcia śledziony, w dalszej kolejności wątroby oraz szpiku kostnego i ostatecznie innych narządów pozawęzłowych. Chorzy uskarżają się najczęściej na podwyższoną temperaturę ciała, nocne poty i utratę masy ciała.

U pacjentów z wieloletnimi przeżyciami na skutek zastosowanego leczenia wzrasta ryzyko rozwoju innych chorób nowotworowych, np. zespołów mielodysplastycznych, ostrej białaczki szpikowej, raka płuca, raka sutka, raka żołądka, chłoniaków niezziarnicznych, mięsaków oraz czerniaka złośliwego.

Obecnie w klasyfikacjach wyróżnia się 5 postaci ziarnicy złośliwej:

- a) *nodular sclerosis*,
- b) *mixed cellularity*,
- c) *lymphocyte-rich*,
- d) *lymphocyte depletion*,
- e) *lymphocyte predominance*.

Ze względu na fakt, iż w wymienionych postaciach komórki RS mają taką samą charakterystykę, wszystkie zalicza się do tzw. klasycznych postaci ziarnicy złośliwej. W podtypie *lymphocyte predominance* komórki RS cechują się fenotypem typowym dla limfocytów B, co różni je od komórek RS w pozostałych podtypach choroby.

#### ***Lymphocyte predominance***

Charakterystyka kliniczna:

- postać rzadko występująca, stanowiąca ok. 5% wszystkich przypadków ziarnicy złośliwej,

- może pojawić się u pacjentów w różnym wieku, choć najczęściej poniżej 35. roku życia,
- częściej diagnozowana jest u mężczyzn,
- w chwili rozpoznania jest zwykle chorobą zlokalizowaną (powiększenie jednego węzła lub jednej grupy węzłów) w okolicy szyi lub dołu pachowego,
- rokowanie jest dobre, choć często mogą pojawić się nawroty choroby;

Obraz histologiczny:

- w większości przypadków obserwuje się grudkowy charakter zajęcia węzła chłonnego z lub bez charakteru rozlanego,
- praktycznie nie stwierdza się klasycznych komórek Reed-Sternberga, natomiast znacznie częściej występują komórki nazywane *lymphohistiocytic* (L&H) z charakterystycznym jądrem (*popcorn cell*),
- w pozostałym utkaniu guza występują liczne małe limfocyty oraz *łagodne* histiocyty.

Immunofenotyp:

- komórki CD20(+) i BCL6(+).

Inne cechy:

- w komórkach guza nie stwierdza się materiału wirusa EBV.

#### ***Nodular sclerosis***

Charakterystyka kliniczna:

- jest to najczęstsza postać ziarnicy złośliwej, stanowiąca 65–75% wszystkich przypadków,
- rozwija się zwykle u nastolatków i młodych dorosłych,
- występuje jednakowo często u mężczyzn i kobiet,
- na początku choroba zajmuje węzły chłonne śródpiersia, nadobojczykowe i dolnej okolicy szyi,
- traktowana jest jako nowotwór średnio złośliwy poddający się leczeniu i z doskonałym rokowaniem.

Obraz histologiczny:

- charakterystyczne guzki otoczone przez pęczki kolagenu (stąd nazwa),
- obecność zarówno klasycznych komórek RS, jak i komórek lakunarnych,
- w podścielisku obecne są liczne małe limfocyty, a także eozynofile, komórki plazmatyczne i makrofagi.

Immunofenotyp:

- komórki te mają charakterystyczną ekspresję antygenów: CD15(+), CD30(+) oraz CD45(ujemne); markery limfocytów B oraz T są ujemne.

Inne cechy:

- czasem stwierdza się wykładnik wcześniejszego zakażenia EBV.

#### ***Mixed cellularity***

Charakterystyka kliniczna:

- ta postać występuje w 20–25% przypadków,
- dotyczy starszej grupy wiekowej niż postacie opisane powyżej,
- częściej stwierdzana jest u mężczyzn,



- pacjenci diagnozowani są zwykle w wysokim stopniu zaawansowania klinicznego,
- w chwili rozpoznania zajęte są węzły chłonne, śledziona, wątroba i/lub szpik kostny,
- choroba o pośredniej złośliwości, poddaje się leczeniu, a rokowanie jest dobre.

Obraz histologiczny:

- obserwuje się zwykle dużo klasycznych komórek Reed-Sternberga oraz dużą liczbę komórek lakunarnych,
- występują też małe limfocyty (głównie limfocyty T) oraz eozynofile, komórki plazmatyczne i makrofagi,
- nie stwierdza się przegród łącznotkankowych.

Immunofenotyp:

- komórki są CD30(+) oraz CD45(ujemne); ujemna jest ekspresja antygenów pan-B i pan-T.
- Inne cechy:
- w ponad 70% przypadków w komórkach RS wykrywa się genom wirusa EBV.

### **Lymphocyte depletion**

Charakterystyka kliniczna:

- najrzadsza z postaci ziarnicy złośliwej (poniżej 5% przypadków),
- rozpoznawana jest zwykle u starszych osób, a także pacjentów HIV-dodatnich i pacjentów z krajów o niższym poziomie rozwoju gospodarczego,
- często wiąże się z zakażeniem EBV,
- diagnozowana jest zwykle w wysokim stadium zaawansowania,
- cechuje się gwałtownym przebiegiem, choć poddaje się leczeniu.

Obraz histologiczny:

- występują bardzo liczne komórki Reed-Sternberga lub ich pleomorficzne warianty,
- charakterystyczna jest bardzo mała liczba limfocytów.

Inne cechy:

- komórki RS mają zwykle charakterystykę komórek RS występujących w postaci *nodular sclerosis* lub *mixed cellularity*,
- wymagana jest dokładna diagnostyka, gdyż istnieje możliwość zaliczenia do tej grupy przypadków wielkomórkowego chłoniaka nieziarniczego.

### **Lymphocyte-rich classical Hodgkin's disease**

Charakterystyka kliniczna:

- rzadka postać klasycznej ziarnicy złośliwej.

Obraz histologiczny:

- od postaci *lymphocyte predominance* różni się częstym występowaniem komórek RS o charakterystycznym fenotypie: CD45(ujemne), CD20(ujemne), CD15(+) oraz CD30(+),
- w podścielisku stwierdza się liczne reaktywne małe limfocyty, a czasem pozostałości grudek z limfocytów B.

Inne cechy:

- w ok. 40% przypadków można wykazać zakażenie EBV,
- rokowanie jest bardzo dobre lub znakomite.

## **Podsumowanie**

Chłoniaki głowy i szyi należą do rzadko występujących rozpoznań. Są one klasyfikowane na podstawie kryteriów typowych dla tej grupy chorób, z rozróżnieniem na chłoniaki ziarnicze i nieziarnicze. Mogą mieć postać zarówno rozrostów z zajęciem węzłów chłonnych, jak i lokalizację pozawęzłową. Publikowane opracowania dotyczące nowotworów pierwotnie zajmujących okolice głowy i szyi zawierają jedynie opisy przypadków lub zestawienia niewielkiej grupy pacjentów [11–13]. Opisy większych analiz są rzadkie i obejmują najczęściej zbiory pacjentów z wielu lat [6]. Niemniej jednak, pomimo rzadkiego występowania tych chorób, przy podejrzeniu rozrostu nowotworowego z grupy chłoniaków w każdym przypadku należy pamiętać, że postawienie prawidłowego rozpoznania powinno opierać się na dokładnej analizie danych klinicznych oraz pobraniu odpowiedniego (odpowiednio zabezpieczonego) materiału do wykonania wielu dobrze dobranych badań morfologicznych, obejmujących także liczne oznaczenia immunohistochemiczne. Jeśli to możliwe, w uzasadnionych przypadkach powinno się także rozważyć możliwość wykonania innych specjalistycznych badań, np. cytometrii przepływowej czy oznaczenia występujących zaburzeń cytogenetycznych.

Celem niniejszego artykułu było przedstawienie podstawowych informacji na temat nowotworów z grupy chłoniaków, opisanie zakresu możliwości diagnostycznych oraz ograniczeń poszczególnych metod diagnostycznych. Należy pamiętać, iż szybka diagnostyka chłoniaków zależy od właściwej współpracy klinicystów i patomorfologów oraz od możliwości zastosowania odpowiednich metod dodatkowych w danym ośrodku.

## **Piśmiennictwo**

1. Khuri FR. Head and neck cancer: a multidisciplinary approach. *NEJM* 2004; 350: 2627-8.
2. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins & Cotran pathologic basis of disease. 7th edition. Elsevier Saunders, Fildelfia, 2005.
3. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al (eds). Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC Press, Lyon 2001. World Health Organization Classification of Tumours. (tzw. „klasyfikacja WHO” lub „niebieska książeczka WHO”).
4. Mioduszewska O. Patologia chłoniaków i ziarnicy złośliwej. *Pol J Pathol* 1998; 49 (supl. 4).
5. Stachura J, Rudzki Z, Gałzka K, Jurczak W. Diagnostyka chłoniaków. Zarys standardów diagnostycznych. *Pol J Pathol* 2006; 57: 1.
6. Rosai J (ed.). Rosai and Ackerman's surgical pathology. 9th edition. Mosby, Toronto 2004.
7. Masson P. Human tumors. Histology, diagnosis and technique. 2nd edion. Wayne State University Press, Detroit, 1970.
8. Zeppa P, Picardi M, Marino G, et al. Fine-needle aspiration biopsy and flow cytometry immunophenotyping of lymphoid and myeloproliferative disorders of the spleen. *Cancer* 2003, 99: 118-27.
9. Żeromski J, Dworacki G, Mizera-Nyczak E i wsp. Doświadczenia w diagnostyce nowotworów układu krwiotwórczego przy użyciu skojarzonych metod badawczych. *Now Lek* 2001, 73: 483-8.



10. Dworacki G, Maryniak R, Żeromski J. Rola immunocytochemii w diagnostyce i histogenezie chłoniaków. W: Immunocytochemia. Zabel M (red.). PWN, Warszawa 1999.
11. Enrique A, Quesada JL, Lorente J, et al. Hodgkin and Non-Hodgkin lymphomas in otorhinolaryngology. Acta Otorrinolaringol Esp 2004, 55: 387-9.
12. Markowski J, Kajor M, Gierek T i wsp. Analiza histokliniczna pierwotnych pozawęzłowych nieziarniczych chłoniaków złośliwych regionu głowy i szyi. Otolaryngol Pol 2004, 68: 429-35.
13. Janas A, Grzesiak-Janias G. Chłoniak nieziarniczy pozawęzłowy podniebienia – opis przypadku. Pol Merk Lek 2006, 120: 705-7.

### Adres do korespondencji

dr hab. n. med. **Andrzej Marszałek**  
Pracownia Mikroskopii Elektronowej  
Katedra i Zakład Patomorfologii Klinicznej  
Akademia Medyczna  
im. Karola Marcinkowskiego  
ul. Przybyszewskiego 49  
60-355 Poznań  
tel. +48 61 869 14 82 lub 3  
faks +48 61 869 15 09  
e-mail: amars@amp.edu.pl

