

Wprowadzenie: Chłoniaki rozlane z dużych komórek B (*Diffuse Large B cell Lymphoma*, DLBCL) stanowią największą grupę chłoniaków nieziarnicznych. W obrębie DLBCL, NOS wyróżniono 3 podgrupy immunohistochemiczne: *germinal centre B-cell-like* (GCB), *non germinal centre B-cell-like* (non-GCB) oraz najrzadziej występującą grupę *CD5-positive* DLBCL. DLBCL CD5(+) to mało poznana, nowa podgrupa chłoniaków. Stosunkowo nieliczne doniesienia sugerują gorsze rokowanie w tej grupie chorych, które wiąże się z opornością na stosowane leczenie. Nie jest jasne, czy podgrupa DLBCL CD5(+) stanowi odrębną klinicznie jednostkę, czy jedynie immunofenotypowy wariant DLBCL charakteryzujący się niekorzystnym rokowaniem.

Cele pracy:

- 1) zbadanie częstości występowania chłoniaka DLBCL CD5(+) w populacji polskiej
- 2) porównanie cech klinicznych chorych na DLBCL, w grupach: CD5(+) i CD5(-)
- 3) zbadanie poszerzonego immunofenotypu chłoniaków DLBCL CD5(+) w porównaniu do DLBCL CD5(-) z uwzględnieniem czynników prognostycznych oraz ekspresji wybranych metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej
- 4) ocenę nasilenia angiogenezy u chorych na DLBCL CD5(+), DLBCL CD5(-) i w grupie pacjentów niehematologicznych.

Materiał i metody: Materiał do badań stanowiły wycinki z węzłów chłonnych i innych narządów pochodzące od chorych leczonych i diagnozowanych w Centrum Onkologii-Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie oraz w Warszawskim Uniwersytecie Medycznym w latach 2002-2013. Zbadano 36 przypadków DLBCL CD5(+) pochodzących od 19 kobiet (52,8%) i 17 mężczyzn (47,2%) w wieku od 29 do 87 lat (średnia wieku 69). Grupę porównawczą stanowiło 28 przypadków DLBCL CD5(-) pochodzących od 14 kobiet (50%) i 14 mężczyzn (50%) w wieku od 24 do 82 lat (średnia wieku 58,5).

Zbadano ekspresję antygenów CD20, CD3, CD5, CD10, BCL6, MUM1, Ki67, czynników prognostycznych (CD138, BCL2, FOXP1, CD30), ekspresję metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej i białek powiązanych z funkcjonowaniem tych enzymów (MMP-2, MMP-9, TIMP-2, CD44), a także ekspresję markerów angiogenezy (CD34, vWF, VEGF, HIF1 α). Celem wykluczenia agresywnej, blastoidnej postaci chłoniaka z komórek strefy płaszczka wykonano barwienia: cyklina D1, cyklina D3 i SOX11.

We wszystkich wycinkach DLBCL CD5(+) i CD5(-) dokonano oceny angiogenezy przy użyciu dwóch metod badawczych: analizy półilościowej w mikroskopie świetlnym oraz analizy morfometrycznej z zastosowaniem komputerowej analizy obrazu. Grupę kontrolną dla

przeciwciał anti-CD34, anti-vWF i anti-HIF1 α stanowiły narządy limfatyczne pochodzące od osób ze schorzeniami niehematologicznymi.

Wyniki: DLBCL CD5(+) stanowił 6,26% wszystkich przypadków DLBCL zdiagnozowanych w Centrum Onkologii-Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie w latach 2008-2012. W grupie chorych na DLBCL CD5(+), w porównaniu do grupy pacjentów DLBCL CD5(-) stwierdzono: (1) częstsze występowanie wieku powyżej 60 lat oraz ECOG ≥ 2 , (2) rzadsze występowanie całkowitej remisji (CR – *complete remission*) jako odpowiedź na leczenie, (3) wyższą ekspresję BCL2, FOXP1, CD44 i MMP-9, (4) niższą ekspresję antygenów CD30, cykliny D1, cykliny D3 i TIMP-2. Wyniki pozostałych barwień IHC są podobne w obu badanych grupach. Metodą morfometryczną w grupie chłoniaków DLBCL CD5(+), w porównaniu do DLBCL CD5(-) stwierdzono: (1) wyższą średnią sumy pól powierzchni naczyń krwionośnych, (2) wyższą średnią sumy iloczynów pola powierzchni naczyń i intensywności barwienia, (3) wyższą średnią sumy pól powierzchni naczyń w tzw. *hot spots*, (4) wyższą średnią sumy iloczynów pola powierzchni naczyń i intensywności barwienia w tzw. *hot spots*. Wyniki otrzymane w wycinkach tkanki limfatycznej bez chorób hematologicznych mieściły się pomiędzy wartościami w powyżej przedstawionych grupach.

Wnioski: (1) Częstość występowania DLBCL CD5(+) w Polsce jest podobna jak w innych krajach Europy, niższa niż w Japonii i wyższa w porównaniu do USA. (2) Analiza zebranych danych klinicznych potwierdza, że DLBCL CD5(+) jest chłoniakiem o agresywniejszym przebiegu i gorszym rokowaniu w porównaniu do postaci CD5(-). Chorzy na DLBCL, CD5(+) częściej mają wiek powyżej 60 lat i ECOG ≥ 2 , co powoduje, że są oni klasyfikowani do grupy wysokiego ryzyka wg Międzynarodowego Indeksu Prognostycznego (IPI).

(3) Stwierdzono znamienne wyższą ekspresję niekorzystnych czynników prognostycznych: BCL2, FOXP1 i CD44 oraz MMP-9; natomiast niższą ekspresję CD30 i TIMP-2 oraz cykliny D1 i cykliny D3 w chłoniaku DLBCL CD5(+) w porównaniu do podgrupy CD5(-), co może tłumaczyć jego agresywniejszy przebieg kliniczny, większą inwazyjność oraz wiązać się ze skróconym OS. Wyniki pozostałych barwień były podobne w obu badanych grupach.

(4) Metodą morfometryczną wykazano istotnie większe nasilenie angiogenezy w chłoniaku DLBCL CD5(+) w porównaniu do podgrupy CD5(-), co może tłumaczyć jego agresywniejszy przebieg. Nie potwierdzono hipotezy o większym unaczynieniu znacznie częstszej, CD5(-) postaci chłoniaka DLBCL w porównaniu do nienowotworowych tkanek limfatycznych.