

# Chłoniaki z dużych ziarnistych limfocytów u kotów

Rafał Sapierzyński<sup>1</sup>, Katarzyna Kliczkowska-Klarowicz<sup>1</sup>, Urszula Jankowska<sup>2</sup>, Dariusz Jagielski<sup>2</sup>

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

Chłoniaki są najczęściej występującymi nowotworami rozpoznawanymi u kotów, stanowią bowiem do 90% nowotworów układu krwiotwórczego i około 20% spośród wszystkich nowotworów u osobników tego gatunku (1, 2, 3, 4). Niezależnie od zastosowanej klasyfikacji nowotworów tkanki krwiotwórczej, specyficzną grupą chłoniaków są chłoniaki z dużych ziarnistych limfocytów (large granular lymphoma – LGL; 5). Oprócz kotów, chłoniaki z dużych ziarnistych limfocytów opisywano u innych gatunków zwierząt, w tym psów, bydła, koni, mułów, a także u karkala (dziki kot z Azji i Afryki; 5, 6, 7, 8, 9). Może się wydawać, że chłoniaki z dużych ziarnistych limfocytów są nowotworami rozpoznawanymi raczej rzadko u kotów, bowiem stanowią 6–10% chłoniaków

postaci dotyczącej przewodu pokarmowego (5, 10, 11), jednak z drugiej strony wykazano, że ta postać chłoniaków stanowi aż 50% wszystkich chłoniaków, co czyni chłoniaki z dużych ziarnistych limfocytów dość liczną grupę rozrostów tkanki limfacyjnej. W badaniach własnych obejmujących dużą populację kotów z chłoniakiem blastycznym rozpoznanym badaniem cytologicznym chłoniaki z dużych ziarnistych limfocytów stanowiły prawie 7% wszystkich przypadków (12). Chłoniaki z dużych ziarnistych limfocytów rozpoznaje się najczęściej u kotów starszych ze średnią wieku powyżej 9 lat (w badaniach własnych średnia wieku wyniosła 12 lat), chociaż chorować mogą koty w każdym wieku; nie określono jak dotąd predylekcji płci lub rasy do ich występowania (12, 13, 14, 15).

## Large granular lymphomas in cats

Sapierzyński R.<sup>1</sup>, Kliczkowska-Klarowicz K.<sup>1</sup>, Jankowska U.<sup>2</sup>, Jagielski D.<sup>2</sup>, Division of Animal Pathomorphology, Department of Pathology and Veterinary Diagnostics, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences-SGGW<sup>1</sup>, Veterinary Surgery „Białobrzaska” in Warsaw<sup>2</sup>

This article aims at the presentation of certain neoplastic disorder of the lymphoid tissue in cats. Lymphomas are the most common malignant tumors recognized in cats. They account for about 50–90% of hematopoietic tumors and approximately 20–25% of all neoplasms in this animal species. There is a system of classification based on the histological characteristics of the lymphocytes, but regardless of this, a specific group of lymphomas are large granular lymphomas (LGLs). In cats, LGLs most commonly arise from lymphoid tissue of gastrointestinal tract, including mesenteric lymph nodes and they account for about 10% of alimentary lymphomas in cats. Morphologically, LGLs are characterized by the presence of azurophilic cytoplasmic granules. Tumors originate from cytotoxic T (CD3 positive), or natural killers (CD3 negative), lymphocytes. Contrary to canine and bovine, feline LGLs are characterized by aggressive behavior and poor response to anti-cancer therapy.

**Keywords:** cat, large granular lymphomas, LGLs, anti-cancer therapy, masitinib.

Z przeprowadzonych badań wynika, że chłoniaki z dużych ziarnistych limfocytów u kotów nie mają związku z zakażeniem wirusem białaczki kotów lub wirusem niedoboru immunologicznego, chociaż u niektórych osobników z tym nowotworem rozpoznawano zakażenie wirusowe (5, 14, 15, 16). Uważa się, że u kotów (podobnie jak to jest u ludzi) chłoniaki z dużych ziarnistych limfocytów mogą być konsekwencją przewlekłej zapalnej choroby jelit (IBD). W jednym z badań obejmujących grupę 20 kotów z chłoniakiem z dużych ziarnistych limfocytów analiza danych z wywiadu i historii choroby wykazała, że 7 z tych zwierząt prawdopodobnie chorowało na IBD, zanim rozpoznano u nich chłoniaka z dużych ziarnistych limfocytów (15). Możliwe jest, że chłoniak rozwija się na skutek transformacji nowotworowej klonu limfocytów śród nabłonkowych, stymulowanych przewlekłe podczas IBD.

### Obraz morfologiczny

U kotów chłoniaki z dużych ziarnistych limfocytów lokalizują się najczęściej w obrębie przewodu pokarmowego, przebiegają z zajęciem przewodu pokarmowego, a z czasem także i węzłów chłonnych krezkowych; 5, 11, 12, 13, 16). Najczęściej lokalizacją jest jelito czcze, rzadziej inne odcinki jelita cienkiego oraz segment biodrowo-ślepo-okrężniczy (13, 14, 15, 17). Makroskopowo chłoniaki z dużych ziarnistych limfocytów mają najczęściej postać odcinkowego, ampułowatego zgrubienia jelita lub mnogich zmian guzowatych, z zatartą warstwową strukturą ściany jelita i często zawierających obszary martwiczy i wylewów krwi. W niektórych przypadkach obserwuje się zmiany o wyglądzie wieloogniskowych lub rozlanych owrzodzeń (17, 18). U zdecydowanej większości kotów z chłoniakiem z dużych ziarnistych limfocytów obserwuje się powiększenie węzłów chłonnych krezkowych i wątroby, rzadziej splenomegalię i powiększenie nerek (zazwyczaj obustronne) – ma to najczęściej związek z obecnością nacieków komórek nowotworowych w tych narządach (13, 15). U części kotów komórki nowotworowe można także wykryć w obrębie szpiku kostnego, z kolei węzły chłonne są zdecydowanie rzadko objęte rozrostem nowotworowym (15). Rzadziej obserwuje się inne lokalizacje, takie jak jama nosowa, bądź też ma miejsce uogólnienie procesu nowotworowego, z zajęciem praktycznie wszystkich narządów (12, 13, 18).

W badaniach Moore i wsp. (11) we wszystkich przypadkach rozpoznanych jako chłoniaki z dużych ziarnistych limfocytów stwierdzono, że komórki nowotworowe naciekają pełną grubość ściany jelita (transmural lymphoma), z kolei w pracy

Roccabianca i wsp. (15) w części przypadków nie obserwowano naciekania błony podśluzowej i błony mięśniowej. Niekiedy komórki nowotworowe naciekają błonę surowiczą jelita oraz okołojelitową tkankę tłuszczową. Typową cechą tych chłoniaków u kotów jest epiteliotropizm (nacieki komórek nowotworowych w obrębie nabłonka jelitowego, zarówno kosmków jelitowych, jak i krypt). Mięsz chłoniaka jest utworzony z dużych komórek, które posiadają azurofilne ziarnistości cytoplazmatyczne, zawierające różne aktywne biologicznie substancje, w tym białka z grupy granzymów, białka z grupy perforyn, a także enzymy, takie jak kwasną fosfatazę i beta-glukuronidazę (13, 15). Na podstawie badań obejmujących różne metody diagnostyczne wykazano, że chłoniaki z dużych ziarnistych limfocytów wywodzą się z cytotoksycznych limfocytów T (wykazują ekspresję antygeny CD3) lub komórek NK (natural killers), które nie wykazują ekspresji antygeny CD3 (14, 17). Dodatkowo markerem wskazującym na pochodzenie tych limfocytów jest dodatnia reakcja w barwieniu granzymu B, który jest proteazą cysteinową obecną w lizosomach komórek o aktywności cytolitycznej, w tym komórek NK i cytotoksycznych limfocytów T (11, 18).

### Objawy kliniczne

W związku z tym, że u kotów chłoniaki z dużych ziarnistych limfocytów są nowotworami o wysokiej złośliwości, to pacjenci często trafiają do lekarza w zaawansowanych stadiach choroby, co ma odzwierciedlenie w obrazie klinicznym (12, 15). Do najpowszechniejszych objawów klinicznych u kotów należą: zaburzenia apetytu, aż do anoreksji włącznie, utrata masy ciała, wymioty, biegunka oraz inne mniej swoiste nieprawidłowości, takie jak apatia czy wzmożone pragnienie (5, 12, 13, 15, 19). W badaniu palpacyjnym często stwierdza się guzowatą masę w jamie brzusznej, a także powiększenie wątroby, węzłów chłonnych krezkowych, śledziony, rzadziej nerek (12, 13, 15). Przebieg choroby jest zazwyczaj ostry i postępujący, a szybko powiększająca się masa nowotworu może doprowadzić do niedrożności jelita, a w skrajnych przypadkach perforacji przewodu pokarmowego i zapalenia otrzewnej (13, 15, 16, 19). U części kotów z chłoniakiem z dużych ziarnistych limfocytów przed rozpoznaniem nowotworu obserwowano objawy wskazujące na chorobę zapalną jelit (czas trwania objawów od kilku miesięcy do kilku lat).

Jak wspomniano wcześniej, w związku z agresywnym przebiegiem klinicznym często z późnym rozpoznaniem choroby, w przebiegu chłoniaka z dużych ziarnistych

limfocytów dochodzi do zajęcia narządów wewnętrznych, z towarzyszącymi objawami laboratoryjnymi wskazującymi na ich uszkodzenie lub dysfunkcję. Dlatego u chorych kotów często obserwuje się hipoproteinemię z towarzyszącą hypoalbuminemią, hipokalcemię, hiperbilirubinemię oraz wzrost aktywności transaminaz, rzadziej nieprawidłowości wskazujące na niewydolność nerek (12, 15, 19). Często rozplemowi towarzyszy wzrost liczby leukocytów we krwi – leukocytoza, która jest najczęściej konsekwencją neutrofilii, jednak w zdecydowanej większości przypadków towarzyszy jej też obecność komórek nowotworowych we krwi (obraz białaczkowy). Nasilenie leukocytozy jest najczęściej umiarkowane, ale może być znaczne, niekiedy stwierdza się też leukopenię (12, 15).

### Rozpoznanie

W związku z typową morfologią komórek nowotworowych, rozpoznanie chłoniaka z dużych ziarnistych limfocytów u kotów można postawić w oparciu o badanie cytologiczne materiału pobranego za pomocą biopsji cienkoigłowej zmian guzowatych, aspiracji płynu z jam surowiczych lub krwi obwodowej w przypadku przewlekle utrzymującej się leukocytozy nowotworowej (12, 15). Według Roccabianca i wsp. (15) kluczowe dla rozpoznania jest badanie cytologiczne rozmazów krwi obwodowej (obecność komórek nowotworowych we krwi to typowa cecha chłoniaków z komórek ziarnistych u kotów) lub materiału cytologicznego pobranego z tkanek albo narządów. Wysoką przydatność badania cytologicznego w rozpoznawaniu wykazano też w przypadku tego chłoniaka, którego rozpoznano u karakala (materiał do badania pobrano drogą nakłucia komory przedniej oka z aspiracją płynu wodnistego zawierającego komórki nowotworowe; 9).

W obrazie cytologicznym komórki chłoniaka z dużych ziarnistych limfocytów wykazują najczęściej morfologię komórek niedojrzałych (wielokształtne jądra komórkowe, obecne wyraźne jąderka i umiarkowanie obfita lub obfita cytoplazma), rzadziej dojrzałych (skąpa cytoplazma, okrągłe, niekiedy lekko nieregularne jądro komórkowe, z niewidocznymi lub słabo widocznymi jąderkami). Liczba i wielkość ziarnistości bywa różna, podobnie jak ich układ może być rozproszony lub też ziarnistości tworzą mniejsze albo większe skupiska rozmieszczone w cytoplazmie (12, 15). W odróżnieniu od komórek mastocytozy ziarnistości te nie barwią się metachromatycznie błękitem toluidyni, co jest o tyle istotne, że guz komórek tucznych to główny nowotwór, który należy uwzględnić w rozpoznaniu różnicowym chłoniaka z dużych ziarnistych limfocytów. Morfologia komórek

(a tym samym rozpoznaniem) jest zdecydowanie bardziej charakterystyczna w preparatach cytologicznych niż w skrawkach tkankowych, bowiem często ziarnistości typowe dla komórek chłoniaka z dużych ziarnistych limfocytów są słabo widoczne lub nie są widoczne w rutynowych barwieniach histologicznych (barwienie hematoksylina-eozyna; 12, 15, 18, 19). W związku z tym rozpoznanie na podstawie badania histologicznego często wymaga zastosowania barwień immunohistochemicznych na obecność specyficznych antygenów, w tym antygeny CD3 oraz zawartości ziarnistości – perforyn lub granzymów (11, 18, 20).

## Leczenie i rokowanie

W większości przypadków chłoniaki z dużych ziarnistych limfocytów u kotów charakteryzuje agresywne zachowanie biologiczne (szybkie narastanie nasilenia objawów klinicznych) oraz słaba reakcja na leczenie (13). W jednym z badań na 23 koty poddane chemioterapii pełną odpowiedź na leczenie uzyskano u 1 pacjenta, a częściej u kolejnych 6, z czego wynika że 70% kotów nie reaguje na zastosowane leczenie (5). Dodatkowo mediana okresu przeżycia u kotów, które zareagowały na leczenie, wynosiła niespełna 2 miesiące (5). W grupie 13 kotów z pokarmową postacią chłoniaka, w której przeważały chłoniaki z dużych ziarnistych limfocytów (9 nowotworów) mediana okresu przeżycia wyniosła zaledwie 1,5 miesiąca, a w przypadkach z postacią białaczkową była jeszcze niższa i wynosiła zaledwie 19 dni (11, 15). Niestety, wiele kotów jest poddawanych eutanazji ze względu na szybki przebieg kliniczny, zły stan ogólny zwierzęcia i złe rokowanie (15). W jednym z badań u 4 kotów z chłoniakiem z dużych ziarnistych limfocytów w związku z towarzyszącą nowotworowi

perforacją jelita zwierzęta zostały poddane eutanazji wkrótce po rozpoznaniu (13).

Badania własne przeprowadzone na 6 kotach z chłoniakiem z dużych ziarnistych limfocytów wykazały, że rokowanie w takich przypadkach wcale nie musi być złe. U 2 kotów leczonych za pomocą złożonego schematu (COP) uzyskano okresy przeżycia wynoszące 9 i 16 miesięcy od momentu rozpoznania (12). Z kolei u kota leczonego z użyciem masitinibu (inhibitor receptorów kinazy tyrozynowej; Masivet) uzyskano stabilizację choroby przez 6 miesięcy, po tym czasie zwierzę zostało poddane eutanazji z powodu postępującej niewydolności nerek. Niestety, nie udało się ustalić, czy uszkodzenie wątroby miało związek z postępem choroby, czy też wynikało z innych przyczyn (12).

Jak dotąd nie określono przydatnych prognostycznie wskaźników w przypadku chłoniaków z ziarnistych limfocytów. Zachowanie biologiczne nowotworu nie wydaje się mieć związku z morfologią komórek: komórki o wyglądzie komórek dojrzałych vs. komórki o wyglądzie komórek niedojrzałych (blastycznych), podobnie jak i z immunofenotypem komórek rozrostu (12, 15).

## Piśmiennictwo

- Jacobs R., Messic J., Valli V.: Tumors of the hemolymphatic system. W: *Tumors in Domestic Animals*, IV ed. 2002.
- Vail D.: Feline lymphoma and leukemia. W: *Small Animal Clinical Oncology*, IV ed. 2007.
- Schmidt J., North S., Freeman K., Ramiro-Ibanez F.: Feline paediatric oncology: retrospective assessment of 233 tumours from cats up to one year (1993 to 2008). *J. Small Anim. Pract.* 2010, **51**, 306–311.
- Valli V., Jacobs R., Norris A.: The histologic classification of 602 cases of feline lymphoproliferative disease using the National Cancer Institute Working Formulation. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2000, **12**, 295–306.
- Krick E.L., Little L., Patel R., Shofer E.S., Sorenmo K., Clifford C.A., Baez J.L.: Description of clinical and pathological findings, treatment and outcome of feline large granular lymphocyte lymphoma (1996–2004). *Vet. Comp. Oncol.* 2008, **6**, 102–110.

- Saari S., Järvinen A.K.: Multicentric lymphoma involving large granular lymphocytes in a cow. *Zentralbl. Veterinar-med. A.* 1994, **41**, 791–794.
- Herraez P., Berridge B., Marsch P., Weeks B., Ramiro-Ibanez F.: Small intestine large granular lymphoma in a horse. *Vet. Pathol.* 2001, **38**, 223–226.
- Snead E.C.R.: Large granular intestinal lymphosarcoma and leukemia in a dog. *Can. Vet. J.* 2007, **48**, 848–851.
- Aitken-Palmer C., Isaza R., Dunbar M., Blackwood S., Gerlach T., Russell K.: Anterior uveitis as an atypical presentation of large granular lymphoma in a caracal (*Caracal caracal*). *Vet. Ophthalmol.* 2011, **14**, 337–340.
- Pohlman L.M., Higginbotham M.L., Welles E.G., Johnson C.M.: Immunophenotypic and histologic classification of 50 cases of feline gastrointestinal lymphoma. *Vet. Pathol.* 2009, **46**, 259–268.
- Moore P.F., Rodriguez-Bertos A., Kass P.H.: Feline gastrointestinal lymphoma: mucosal architecture, immunophenotype, and molecular clonality. *Vet. Pathol.* 2012, **49**, 658–668.
- Sapierzynski R., Jankowska U., Jagielski D., Kliczkowska-Klarowicz K.: Large granular lymphoma in six cats. *Pol. J. Vet. Sc.* 2015, **18**, w druku.
- Kariya K., Konno A., Ishida T.: Perforin-like immunoreactivity in four cases of lymphoma of large granular lymphocytes in the cat. *Vet. Pathol.* 1997, **34**, 156–159.
- Endo Y., Cho K.W., Nishigaki K., Momoi Y., Nishimura Y., Mizuno T., Goto Y., Watari T., Tsujimoto H., Hasegawa A.: Clinicopathological and immunological characteristics of six cats with granular lymphocyte tumors. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 1998, **21**, 27–42.
- Roccabianca P., Vernau W., Cianiati M., Moore P.F.: Feline large granular lymphocyte (LGL) lymphoma with secondary leukemia: primary intestinal origin with predominance of a CD3/CD8αα phenotype. *Vet. Pathol.* 2006, **43**, 15–28.
- Wellman M.L., Hammer A.S., DiBartola S.P., Carothers M.A., Kociba G.J., Rojko J.L.: Lymphoma involving large granular lymphocytes in cats: 11 cases (1982–1991). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1992, **201**, 1265–1269.
- Darbès J., Majzoub M., Breuer W., Hermanns W.: Large granular lymphocyte leukemia/lymphoma in six cats. *Vet. Pathol.* 1998, **35**, 370–379.
- Tsuboi M., Uchida K., Park E.S., Kotera Y., Seki T., Takahashi M., Nakayama H.: Systemic T cell large granular lymphocyte lymphoma with multifocal white matter degeneration in the brain of a Japanese domestic cat. *J. Vet. Med. Sci.* 2010, **72**, 795–799.
- Franks P.T., Harvey J.W., Calderwood Mays M., Senior D.F., Bowen D.J., Hall B.J.: Feline large granular lymphoma. *Vet. Pathol.* 1986, **23**, 200–202.
- Neta M., Naigamwalla D., Bienze D.: Perforin expression in feline epitheliotropic cutaneous lymphoma. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2008, **20**, 831–835.