

C. Doglioni · A. Savio · R. Ranaldi · U. Magrini per il GIPAD (Gruppo Italiano Patologi dell'Apparato Digerente)

Linfomi gastrici: requisiti diagnostici minimi in diagnostica istopatologica gastrointestinale

Riassunto I linfomi gastrici sono stati oggetto negli ultimi anni di numerosi studi che hanno portato a importanti progressi sia nella comprensione dei processi eziopatogenetici di tali neoplasie che negli approcci terapeutici. Le biopsie gastriche ottenute durante gastroscopia sono essenziali per poter porre diagnosi di linfoma gastrico. Tale diagnosi istopatologica è spesso difficile. Questo lavoro delinea i criteri salienti per tale diagnosi. Vengono analizzati gli aspetti morfologici, immunoistochimici e molecolari da prendere in considerazione nella diagnosi differenziale fra processo reattivo e linfoma B-MALT a basso grado, fra linfoma B-MALT e altri tipi di linfoma a basso grado che possono interessare la mucosa gastrica e fra linfoma a basso grado e linfoma ad alto grado dello stomaco. Vengono inoltre considerati gli aspetti morfologici di biopsie gastriche dopo trattamento antibiotico per l'eradicazione dell'*Helicobacter pylori* e il ruolo dell'analisi molecolare nel follow-up di questi pazienti.

C. Doglioni (✉)
Servizio di Anatomia Patologica, Ospedale San Martino,
Viale Europa, I-32100 Belluno
e-mail: claudio.doglioni@ulss.belluno.it
Tel.: +39-0437-216147
Fax: +39-0437-216150

A. Savio
Servizio di Anatomia Patologica,
Ospedale Sant'Orsola, Brescia

R. Ranaldi
Istituto di Anatomia Patologica, Università di Ancona

U. Magrini
Dipartimento di Patologia Umana ed Ereditaria,
Università di Pavia

Introduzione

Il tessuto linfatico è abbondantemente rappresentato nel tratto intestinale e per le peculiari caratteristiche strutturali e funzionali, esemplificate nelle placche di Peyer, viene descritto con l'acronimo MALT (mucosa associated lymphoid tissue).

Il tratto gastrointestinale (TGI) e lo stomaco in particolare sono la più frequente sede di insorgenza di linfomi extranodali oltre che essere possibile sede di localizzazione secondaria di linfomi a primitiva origine nodale. I linfomi MALT sono le neoplasie linfoidi più frequenti del tratto gastrointestinale; si possono tuttavia osservare anche altre forme linfomatose più rare, alcune di esse con caratteri clinicopatologici peculiari, quali il linfoma T associato a enteropatia e la poliposi linfomatosa.

Lo stomaco, pur normalmente privo di una componente significativa di tessuto linfatico, è la sede più frequente di insorgenza di linfomi, prevalentemente di tipo MALT; lo sviluppo di linfomi in tale sede è generalmente preceduto dall'acquisizione, in seguito a stimoli infiammatori e in particolare all'infezione da *Helicobacter pylori* (*Hp*), di tessuto linfatico che si organizza con le caratteristiche del MALT.

Per poter comprendere appieno le caratteristiche morfologiche dei linfomi MALT è opportuno brevemente delineare le caratteristiche morfo-funzionali del tessuto linfoide MALT.

MALT: morfologia e funzione

Il tessuto linfoide mucoso associato del TGI ha una peculiare organizzazione, finalizzata alla risposta ad antigeni presenti nell'ambiente esterno/lume intestinale.

La placca di Peyer è la struttura paradigmatica del MALT: essa risulta composta (Fig. 1) da follicoli B, formati da centro germinativo circondato da cellule del mantello

e, più esternamente, da una ampia zona marginale (ZM). Alcuni linfociti della ZM raggiungono l'epitelio di superficie sovrastante le placche di Peyer e lo infiltrano. Questa piccola quota B-cellulare va distinta dalla prevalente quota T-cellulare intraepiteliale. In sede contigua e sottostante al follicolo, a contatto con la muscularis mucosae, è presente un'area T-cellulare del tutto analoga alla zona paracorticale del linfonodo.

La tonaca propria è diffusamente occupata da plasmacellule, secernenti per lo più IgA, da linfociti B di memoria, da linfociti T CD4+, da macrofagi e cellule accessorie.

Come si è detto, l'epitelio di superficie è infiltrato prevalentemente da linfociti T (intra-epithelial lymphocytes, IEL). Si tratta di una popolazione eterogenea che comprende linfociti CD8+, in massima parte, ma anche grandi linfociti granulati (LGL) e linfociti T γ/δ .

Gli antigeni luminali, con un processo attivo che coin-

volge le cellule epiteliali specializzate (cellule M), con le mediazioni di cellule T e di cellule accessorie, inducono la proliferazione di blasti B che raggiungono attraverso i linfatici i linfonodi mesenterici e il circolo centrale per poi ritornare con un meccanismo di "homing", che coinvolge specifiche molecole di adesione, alla tonaca propria del tratto gastro-enterico, come plasmacellule secernenti IgA o come cellule B di memoria.

I differenti stadi che costituiscono la controparte normale dei linfomi B-cellulari e che corrispondono a quanto noto per i linfonodi e per la milza possono essere riconosciuti in base a dati morfologici (citologia e topografia), immunofenotipici e genotipici.

I dati immunofenotipici caratterizzanti il comparto B-cellulare normale, essenziali per la comprensione dei linfomi MALT, sono riassunti in Figura 1.

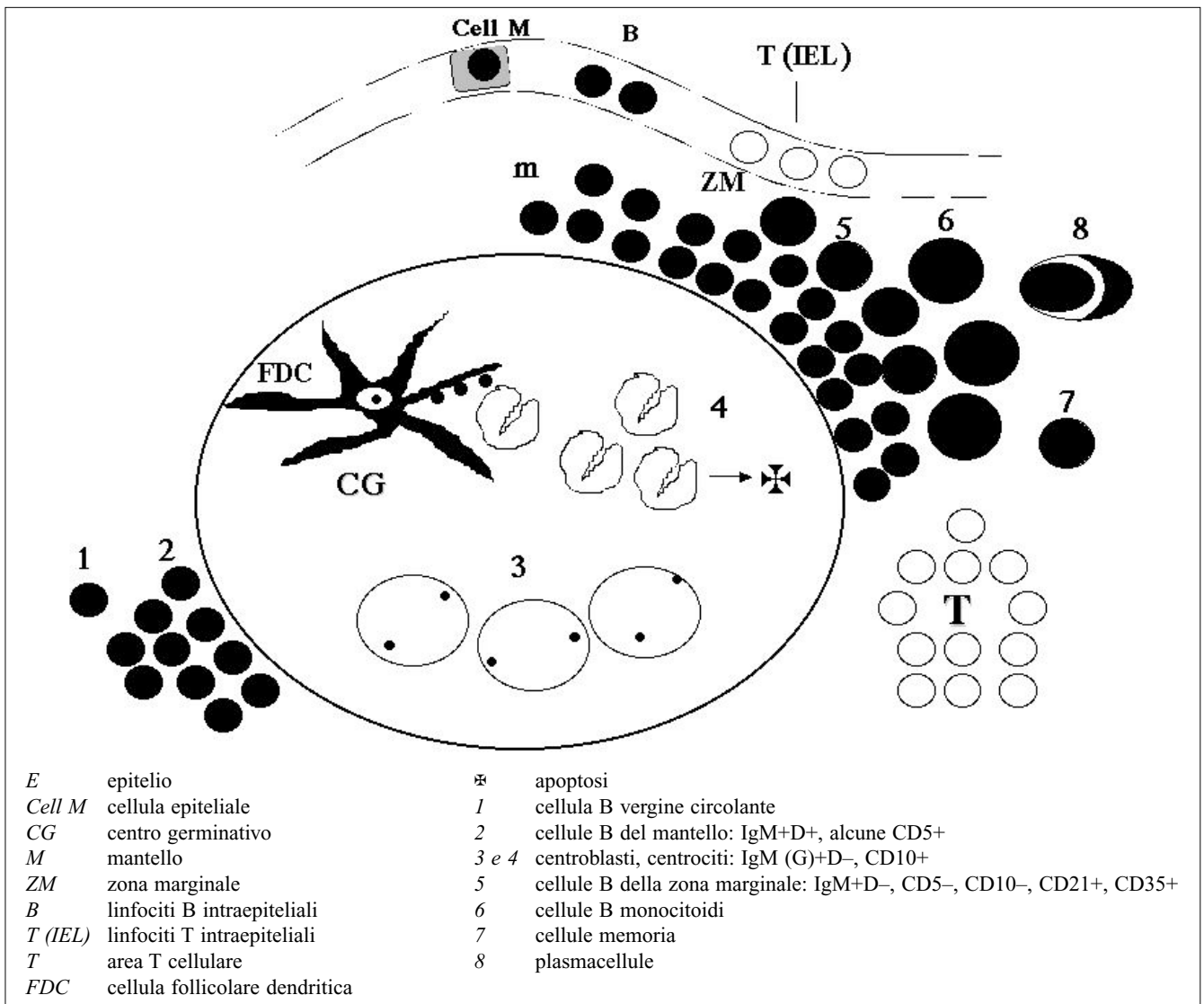


Fig. 1 Dati immunofenotipici del comparto B-cellulare normale

Classificazione dei linfomi gastrointestinali

I linfomi che prendono origine nel tessuto linfoide MALT hanno morfologia e storia clinica particolare: il riconoscimento di queste caratteristiche si deve ai lavori di Isaacson e Wright che nel 1983 descrissero i linfomi MALT gastrointestinali [1].

Ancor oggi non vi è una classificazione specifica per i linfomi del tratto gastrointestinale: la proposta classificativa di Isaacson del 1988 [2] (Tab. 1) può essere considerata ancora valida nelle sue linee generali. Le più recenti classificazioni, R.E.A.L. [3] e WHO [4] comprendono tuttavia anche le forme extranodali, alcune delle quali a esclusivo o prevalente sviluppo gastrointestinale.

La trattazione sarà di seguito limitata ai linfomi gastrici in quanto si tratta delle forme più frequenti e che più spesso comportano problemi interpretativi nella pratica routinaria.

Linfomi gastrici

I linfomi gastrici rappresentano il gruppo più numeroso dei linfomi extranodali.

Sono lesioni che hanno un picco di incidenza nella sesta-settima decade e, soprattutto nelle forme a basso grado, rimangono a lungo localizzate allo stomaco, con scarsa tendenza alla disseminazione.

L'apparente paradosso di una mucosa gastrica normalmente priva di una significativa quota di cellule linfoidi e l'elevata frequenza di linfomi in tale sede ha, nella maggior parte dei casi, spiegazione nel ruolo che l'infezione da *Hp* gioca nella patogenesi di gran parte della patologia gastrica.

Tabella 1 Classificazione dei linfomi gastrointestinali

<p>Linfomi a cellule B</p> <p>Linfoma tipo MALT, compresa la malattia immunoproliferativa del piccolo intestino (IPSID):</p> <ul style="list-style-type: none"> – a basso grado – ad alto grado <p>Linfoma a cellule del mantello (poliposi linfomatosa)</p> <p>Linfoma di Burkitt e tipo Burkitt</p> <p>Linfomi corrispondenti agli equivalenti linfonodali</p> <p>Linfomi in corso di immunodeficienze:</p> <ul style="list-style-type: none"> – post-trapianto – acquisite (HIV) – congenite <p>Linfomi a cellule T</p> <p>Linfomi associati a enteropatia</p> <p>Linfomi non associati a enteropatia</p>

(modificata da Isaacson e coll. [2])

Infatti l'infezione da *Hp* innesca l'acquisizione da parte della mucosa gastrica di un tessuto linfoide con le caratteristiche morfologiche e funzionali del tessuto MALT: questo tessuto linfoide fornisce il substrato per lo sviluppo dei linfomi MALT dello stomaco. Questo fatto è supportato dalla stretta associazione fra infezione da *Hp* e linfoma tipo MALT e dalla regressione della maggior parte dei linfomi gastrici a basso grado dopo terapia eradicante [5]. Il meccanismo patogenetico che lega infezione da *Hp* e linfomagenesi gastrica è solo parzialmente noto ed è assai complesso: il batterio ha un ruolo non solo nel portare all'acquisizione di tessuto linfoide MALT nella mucosa gastrica, ma contribuisce anche, almeno nelle fasi iniziali, allo sviluppo e al mantenimento della proliferazione linfomatosa, non attraverso un meccanismo diretto sugli elementi B neoplastici, ma mediato da cellule T, *Hp*-specifiche. Un ruolo simile a quello dell'*Hp* può essere svolto anche dall'*Helicobacter heilmanni* [6].

Le alterazioni genetiche e gli eventi molecolari che caratterizzano i linfomi gastrici a basso e ad alto grado sono ancora poco conosciuti. Recentemente sono state descritte alcune alterazioni citogenetiche caratteristiche di un sottogruppo di linfomi gastrici B MALT a basso grado quali la traslocazione 1;14 (p22; q32) [7] con riarrangiamento coinvolgente il gene *bcl10*, e la traslocazione 11;18 (q21-q21) [8] con coinvolgimento dei geni *IAP2* e *MALT-1* [9]. Tali alterazioni non sono presenti nelle forme ad alto grado, suggerendo così vie di trasformazione neoplastica diverse per alcune forme a basso grado e le forme ad alto grado. È verosimile che l'identificazione di tali alterazioni citogenetiche, che coinvolgono geni importanti nella regolazione di processi apoptotici, possa fornire una base classificativa per i linfomi gastrici e in particolare per le forme a basso grado, con diverso comportamento clinico: dati recenti segnalano come i linfomi con traslocazione 11;18 siano resistenti al trattamento antibiotico per l'eradicazione del *Hp* [17].

I linfomi gastrici di più frequente riscontro nella pratica istopatologica rientrano nelle seguenti 3 categorie:

1. Linfoma gastrico a cellule B-MALT a basso grado (linfoma a cellule B della zona marginale tipo MALT extranodale)
2. Linfoma gastrico a grandi cellule B ad alto grado (linfoma a grandi cellule B diffuso)
3. Localizzazione gastrica di linfomi a basso grado non-MALT.

Linfoma gastrico a cellule B-MALT a basso grado (linfoma a cellule B della zona marginale tipo MALT extranodale)

La maggior parte dei linfomi gastrici a basso grado presenta le caratteristiche clinico-patologiche dei linfomi derivati dal tessuto MALT. A tali caratteristiche morfologiche corrisponde un quadro clinico a decorso indolente, che tende a rimanere localizzato nella sede di origine o a recidivare in altre sedi extranodali, raramente con interes-

samento midollare, potenzialmente curabile con trattamenti locali.

Presentazione clinica: la sintomatologia clinica è spesso aspecifica, spesso con disturbi di tipo dispeptico o ulceroso.

Quadro endoscopico: le alterazioni endoscopiche sono in molti casi modeste e non specifiche: iperemia, erosioni, ispessimento delle pliche, aspetti ad acciottolato; meno frequenti ulcere o masse francamente neoplastiche.

La definizione morfologica di linfoma MALT è quella di un linfoma in cui sono presenti le caratteristiche citoarchitetture delle placche di Peyer. Tali caratteristiche sono facilmente individuabili nelle forme a basso grado e sono:

- infiltrazione epiteliale sotto forma di lesioni linfoepiteliiali
- follicoli reattivi e fenomeno della colonizzazione follicolare
- linfociti B della zona marginale e/o monocitoidi
- piccoli linfociti, plasmacellule e sparsi blasti
- immunofenotipo negativo per CD5, CD10, ciclina D1

Da un punto vista biologico il linfoma B MALT a basso grado viene considerato come lesione linfoproliferativa extranodale composta da linfociti B stimolati da antigeni, con particolare affinità per strutture epiteliali e centri germinativi, la cui possibile controparte normale è nei linfociti B della zona marginale.

Linfoma gastrico a grandi cellule B ad alto grado (linfoma a grandi cellule B diffuso)

I linfomi primitivi gastrici ad alto grado (AG) hanno solitamente una presentazione clinico-patologica diversa rispetto alle forme a basso grado.

Presentazione clinica: colpiscono soggetti di età maggiore di circa dieci anni (settima decade) rispetto alle forme a basso grado [10]; sono più frequentemente associati a sintomi clinici importanti, quali dolore, perdita di peso ed emorragie.

Quadro endoscopico: si tratta prevalentemente di lesioni ulcerate o vegetanti.

La quasi totalità dei linfomi gastrici ad alto grado sono di natura B. La loro composizione citologica è indistinguibile da quella dei linfomi B diffusi a grandi cellule che insorgono nei linfonodi. L'infiltrato neoplastico può essere

monomorfo, costituito da cellule di grossa taglia, ma può anche dimostrare una notevole variazione nelle dimensioni cellulari e nelle caratteristiche nucleari.

Solitamente la diagnosi morfologica di malignità nel linfoma gastrico AG è agevole.

Il linfoma gastrico AG può insorgere *de novo*; in molti casi tuttavia coesistono aree residue di linfoma MALT a basso grado e pertanto si ritiene che la componente ad alto grado derivi da quella a basso grado per progressione di malignità.

Localizzazione gastrica di linfomi a basso grado non-MALT

Il linfoma B MALT a basso grado rappresenta la forma più frequente di linfoma a basso grado con presentazione primitiva gastrica; vi sono tuttavia altri linfomi a basso grado che possono avere quale prima manifestazione l'interessamento gastrico. Il linfoma a cellule del mantello, la leucemia linfatica cronica/linfoma linfocitico e il linfoma centrofollicolare rappresentano, in ordine decrescente di frequenza, forme linfomatose che possono mostrare tropismo per la mucosa gastrica; è importante differenziare il linfoma B MALT da queste forme per il decorso clinico e le necessità terapeutiche molto diverse.

La diagnosi istopatologica di linfoma gastrico

Il materiale istologico su cui porre la diagnosi di processo linfoproliferativo è per lo più costituito da biopsie endoscopiche. Per una corretta diagnosi sono di grande importanza le informazioni cliniche ed endoscopiche relative al caso in esame; i prelievi biotici devono essere di adeguate dimensioni, privi di artefatti da compressione; il numero adeguato dei prelievi può dipendere da caso a caso, tenendo conto della fase del processo diagnostico – prima diagnosi, stadiazione, follow-up (vedi oltre: protocolli di campionamento biotico).

In presenza di frammenti di mucosa gastrica interessata da un infiltrato linfoide, i quesiti di diagnostica differenziale a cui è necessario rispondere sono molteplici e possono essere sintetizzati nell'algoritmo descritto in Figura 2.

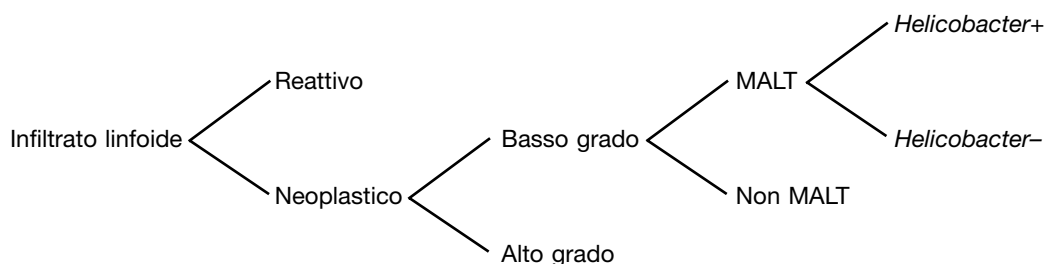


Fig. 2 Algoritmo dei quesiti di diagnostica differenziale in presenza di mucosa gastrica con infiltrato linfoide

Verranno di seguito discussi i problemi diagnostici differenziali di più frequente riscontro:

- Infiltrato linfoide: reattivo o neoplastico
- Linfoma: a basso o ad alto grado
- Linfoma a basso grado: linfoma B MALT o altro linfoma a basso grado
- Linfoma gastrico ad alto grado: primitivo o secondario, MALT o non-MALT
- Linfoma ad alto grado versus neoplasie non linfoidi
- Linfoma MALT a basso grado: *Hp*-associato o *Hp*-negativo
- Modificazioni istopatologiche dopo eradicazione

Infiltrato linfoide: reattivo o neoplastico?

Il problema si pone essenzialmente per la diagnosi differenziale fra linfoma gastrico a basso grado e processo reattivo. La diagnosi differenziale tra un denso infiltrato linfoide reattivo all'infezione da *Hp* e un linfoma gastrico MALT a basso grado di malignità è in alcuni casi molto difficile.

La definizione della natura del processo è di fondamentale importanza per il corretto trattamento del paziente: va considerato che, anche se i linfomi gastrici MALT a basso grado sono lesioni clinicamente per lo più a decorso benigno, che tendono a rimanere localizzate nella mucosa gastrica, trattabili in ampia percentuale con terapia antibiotica, la diagnosi di linfoma B MALT a basso grado è pur sempre una diagnosi che comporta un trattamento e un follow-up assai impegnativi per il paziente e quindi non deve essere sovradiagnosticata. Per contro una sottostima diagnostica va anch'essa evitata in quanto è nota la possibilità di progressione clinica di tali forme sia come disseminazione, sia come evoluzione in linfomi ad alto grado.

La diagnosi di linfoma B MALT a basso grado è principalmente una diagnosi morfologica che può essere confermata da dati ricavati con indagini immunistochemiche e molecolari.

L'analisi delle caratteristiche quantitative e qualitative dell'infiltrato linfoide e i rapporti di quest'ultimo con le strutture epiteliali permettono solitamente di formulare una corretta diagnosi differenziale.

Aspetti quantitativi. Nelle forme linfomatose l'infiltrato linfoide interessa diffusamente gran parte di uno o più dei frammenti biotici di adeguata dimensione; l'infiltrato linfoide deve interessare la mucosa gastrica a tutto spessore, con possibile infiltrazione e superamento della muscolatura mucosae; la componente ghiandolare è in gran parte oscurata, distorta e cancellata dall'infiltrato linfoide.

Aspetti qualitativi

- *Composizione citologica:* nel linfoma l'infiltrato linfoide è costituito prevalentemente da elementi di taglia medio-piccola con scarso citoplasma e nucleo a contorno irre-

golare, indentato: sono le cellule cosiddette centrocitico-simili per la loro somiglianza morfologica con i centri del centro germinativo. La variabilità morfologica di tali elementi è tuttavia spesso notevole con aspetti che possono variare da elementi B-CLL like a elementi monocitoidi o con marcata differenziazione plasmocitaria, anche nell'ambito dello stesso caso. La composizione dell'infiltrato linfoide è solitamente eterogenea con presenza anche di elementi blastici, di plasmacellule e di alcuni granulociti neutrofili ed eosinofili. Talora le plasmacellule possono presentare inclusi PAS-positivi, diastasi resistenti, nucleari (corpi di Dutcher) e/o citoplasmatici (corpi di Russell), dovuti all'accumulo di immunoglobuline: la presenza di corpi di Dutcher è poco frequente ed è per lo più associata a lesioni linfomatose, anche se raramente si può osservare in gastriti.

- *Follicoli:* follicoli reattivi, provvisti di centro germinativo sono solitamente presenti anche nelle forme linfomatose; in questo caso le aree interfollicolari sono massivamente infiltrate dalla proliferazione neoplastica, mentre in contesti reattivi fra le strutture follicolari sono in genere riconoscibili tratti di mucosa risparmiata; nelle lesioni neoplastiche si può osservare il fenomeno della colonizzazione follicolare: elementi neoplastici occupano i centri germinativi del follicolo, impartendo un aspetto nodulare al processo neoplastico. La composizione citologica dei follicoli colonizzati può assumere aspetti diversi, con presenza prevalente di elementi centrocitico-simili, oppure di cellule con marcata differenziazione plasmacellulare, o di elementi blastici che non vanno in questo caso considerati come segno di trasformazione in linfoma ad alto grado.
- *Rapporti fra infiltrato linfoide e strutture epiteliali:* la presenza di lesioni linfo-epiteliali è molto suggestiva, ma non di per sé diagnostica di linfoma. Nell'ambito di una popolazione linfomatosa la presenza di tali lesioni può essere anche molto scarsa o rappresentata unicamente da residui ghiandolari unicellulari: in tal caso va ricercata accuratamente anche con l'ausilio di colorazioni immunistochemiche per le cheratine. Le lesioni linfoepiteliali sono costituite da accumuli di elementi linfoidi (almeno 4-5) di taglia medio-piccola con le caratteristiche morfologiche sopra descritte, all'interno dell'epitelio ghiandolare, con distorsione e distruzione delle strutture ghiandolari. Talora sono presenti fenomeni regressivi degli elementi epiteliali che mostrano eosinofilia del citoplasma; gli elementi epiteliali possono essere anche singoli, con aspetti tipo "signet-ring", frammisti alla popolazione linfomatosa: in quest'ultimo caso è assai importante riconoscere la vera natura del processo neoplastico e non confondere tali cellule con elementi carcinomatosi [11]. Lesioni linfoepiteliali, pur se caratteristiche del linfoma B-MALT, non ne sono patognomoniche, in quanto possono essere osservate anche in corso di gastriti *Hp*-associate; in quest'ambito sono frequentemente situate in prossimità di follicoli linfatici.

Tabella 2 Score istologico nei linfomi MALT dello stomaco

Score	Descrizione	Istologia
0	Normale	–
1	Gastrite cronica attiva	Aggregati di linfociti, non follicoli
2	Gastrite cronica attiva con iperplasia follicolare	Follicoli, non LEL
3	Infiltrato linfoide dubbio, probabilmente reattivo	Follicoli, rare LEL adiacenti, non infiltrato diffuso
4	Infiltrato linfoide dubbio, probabilmente linfoma	Follicoli, infiltrato diffuso, non LEL
5	Linfoma a cellule B, a basso grado tipo MALT	Follicoli, infiltrato diffuso, LEL

LEL, lesioni linfo-epiteliali
(da Wotherspoon e coll. [5])

Tabella 3 Linfomi MALT a basso e ad alto grado dello stomaco

	Elementi blastici %	Distribuzione elementi blastici	Grado di Malignità
A	1	Singoli o aggregati <5 elementi	BG
B	<10	Aggregati di 5-20 elementi	BG con componente a grandi cellule
C	>10	Aggregati >20 elementi	AG con componente BG
D	100	Diffusa	AG senza componente BG

(da De Jong e coll. [13])

Il quadro morfologico può non permettere una diagnosi di certezza, anche dopo ricorso a indagini immunoistochimiche e molecolari (vedi: ruolo dell'immunoistochimica e della biologia molecolare). In tali casi è necessario richiedere un ulteriore campionamento biptico (vedi: protocolli di campionamento). È in ogni caso da evitare la diagnosi di "pseudolinfoma"; non deve nemmeno essere utilizzato il criterio della risposta alla terapia antibiotica.

Per favorire la comunicazione fra patologo e clinico/endoscopista, in particolare nei casi che pongono dubbi interpretativi, può essere utilizzato lo score proposto da Wotherspoon e coll. [5] qui di seguito riportato (Tab. 2).

Differenziazione fra linfomi gastrici a basso e alto grado

Il problema della definizione di criteri per la diagnosi differenziale fra linfoma a basso e ad alto grado (AG) dello stomaco è stato scarsamente affrontato in letteratura. Il criterio classico per la diagnosi di linfoma AG in base alla presenza di aree confluenti di elementi blastici che rappresentino almeno il 20% della popolazione neoplastica [12] non è facilmente applicabile su campioni biptici ed è possibile che un campionamento biptico limitato possa non permettere l'individuazione di aree ad alto grado. Allo scopo di formulare una valutazione attendibile di grado di malignità su materiale biptico è necessaria l'esecuzione di prelievi multipli (vedi protocolli di campionamento biptico).

Un linfoma AG può insorgere in un preesistente linfoma MALT a basso grado: in tali casi il progressivo incremento

numerico di elementi blastici può produrre un *continuum* di lesioni.

Sono stati di recente proposti [13] criteri per la diagnosi differenziale fra linfoma a basso e ad alto grado, utilizzabili nella pratica diagnostica su materiale biptico, basati sul numero e le modalità di aggregazione degli elementi blastici presenti (Tab. 3).

I gruppi C e D hanno comportamento clinico simile; i gruppi A e B hanno comportamento clinico diverso, con prognosi peggiore nel gruppo B (75% disease specific survival contro il 90% del gruppo A a 10 anni).

È già stato sottolineato che elementi blastici isolati od anche in aggregati all'interno delle strutture follicolari nei fenomeni di colonizzazione follicolare sono tipicamente presenti nei linfomi B MALT BG e non corrispondono a fenomeni di progressione di malignità. È importante anche non confondere centroblasti facenti parte di preesistenti centri germinativi reattivi come elementi blastici neoplastici.

Diagnosi differenziale fra linfoma B MALT a basso grado e altri linfomi a basso grado

Il linfoma mantellare può avere come localizzazione iniziale la mucosa gastrica e la diagnosi differenziale è particolarmente difficile in base alla sola morfologia; lesioni linfoepiteliali possono essere presenti anche in questa forma. Pur se usualmente il quadro infiltrativo è più monomorfo rispetto al linfoma MALT è indispensabile effettuare un'immunofenotipizzazione per confermare questa diagno-

Tabella 4 Caratteri immunofenotipici dei linfomi MALT e non-MALT

	CD5	CD10	Ciclina D1	CD43
Linfoma B-MALT	–	–	–	+/-
Linfoma mantellare	+	–	+	+
Linfoma linfocitico	+	–	–	+
Linfoma follicolare	–	+	–	–

si (Tab. 4). La localizzazione intestinale di questo linfoma dà quadri di poliposi linfomatosa. Tali quadri si possono comunque riscontrare anche in corso di linfomi MALT e di linfomi follicolari.

Anche la diagnosi differenziale con B-CLL/linfoma linfocitico va supportata con immunofenotipizzazione.

Assai rara è la presentazione gastrica di un linfoma follicolare e anche poco frequente è la localizzazione secondaria di questo linfoma in sede gastrica. Il quadro immunofenotipico anche in questo caso permette un'agevole distinzione. Il linfoma linfoplasmocitico è solitamente una neoplasia disseminata che coinvolge midollo osseo, linfonodi e assai raramente ha presentazione extranodale.

Linfoma gastrico ad alto grado: primitivo o secondario, MALT o non-MALT

La primitività va accertata sulla base della storia clinica e della stadiazione. Infatti la sostanziale identità morfologica del linfoma gastrico AG con i linfomi diffusi a grandi cellule del linfonodo e la assenza di marcatori immunofenotipici specifici non consentono al patologo di discriminare se si tratti di neoplasia gastrica primitiva o secondaria. Fanno eccezione i casi in cui la presenza di una componente residua di linfoma MALT BG e/o di evidenti lesioni linfoepiteliali realizzate da cellule linfoidi di aspetto blastico, indicano l'origine dalla mucosa gastrica.

Occorre sottolineare che le diversità in termini di prognosi tra linfomi AG MALT e non-MALT sono ancora incerte. Inoltre la classificazione WHO [4] non prevede una categoria diagnostica per i linfomi MALT AG. Pertanto, qualora sia stabilita con mezzi clinico-strumentali la primitività gastrica di un linfoma AG, non appare al momento necessario definire la neoplasia come MALT o non-MALT. L'eventuale presenza di una associata componente MALT BG deve essere segnalata nel referto per le possibili implicazioni terapeutiche: mentre il linfoma AG è solitamente responsivo alla trattamento chemioterapico, la componente BG è scarsamente responsiva e potrebbe richiedere, qualora si tratti di linfoma associato ad infezione da *Hp*, una terapia eradicante.

Differenziazione del linfoma gastrico ad alto grado da altre neoplasie non linfoidi

Il carcinoma gastrico indifferenziato e lesioni metastatiche possono simulare una lesione linfomatosa e vanno indivi-

duati ricorrendo all'ausilio di un'adeguata caratterizzazione immunoistochimica (citocheratina/CD20-CD79a).

Linfoma MALT a basso grado: Hp-associato o Hp-negativo

Identificazione dell'Helicobacter pylori. La dimostrata regressione dell'infiltrato linfomatoso dopo terapia antibiotica, nelle forme a basso grado dei linfomi gastrici B MALT associate a infezione da *Hp*, impone una accurata ricerca per la identificazione di questo microorganismo.

Su sezioni di tessuto il microorganismo può essere identificato con:

- colorazione ematossilina-eosina
- colorazioni speciali (Giemsa, Warthin-Starry, Genta)
- colorazione immunoistochimiche per *Hp*.

Per l'identificazione del batterio può essere utile considerare i seguenti punti:

1. È necessario riconoscere la caratteristica forma incurvata o a S dell'*Hp*, anche utilizzando l'ingrandimento 100× a immersione, per evitare facili confusioni con forme batteriche diverse (bastoncelli e anche cocchi) e persino con frammenti di materiale non batterico.
2. Attenzione alla presenza anche di pochi granulociti intraepiteliali che sono indice quasi sicuro di presenza di *Hp* anche se in carica minima: se i batteri non sono dimostrabili nelle sezioni di tessuto è opportuno richiedere conferma con test diagnostici alternativi.
3. In caso di mucosa gastrica "normale", priva di granulociti, di follicoli linfatici e di alterazioni del profilo delle ghiandole superficiali, è molto difficile che siano presenti *Hp*.
4. Biopsie ottenute in corrispondenza di ulcere ed erosioni possono essere prive di batteri: prima di dichiarare l'assenza dell'infezione è necessario poter valutare biopsie sia di antro che di fondo, a distanza da ulcere ed erosioni e comprendenti aree superficiali di mucosa di tipo gastrico.
5. Attenzione ai casi con precedenti trattamenti con inibitori della pompa protonica in cui la gastrite può essere trascurabile e la presenza degli *Hp* molto difficile da dimostrare al di fuori del fondo gastrico.

Metodiche non istologiche per la diagnosi di infezione Hp.

Le metodiche istologiche sono estremamente sensibili e specifiche per l'identificazione dell'*Hp*; è tuttavia opportuno

conoscere ed eventualmente utilizzare altri metodi per la diagnosi di questa infezione. È infatti noto che vi sono casi in cui l'*Hp* non è evidenziabile sulle sezioni ma vi sono altre evidenze (sierologiche, breath test) che testimoniano la sua presenza [14] e pertanto nei casi di linfoma B-MALT a basso grado in cui il microorganismo non è evidenziabile istologicamente, prima di escludere tali pazienti dal trattamento antibiotico, è opportuno effettuare ulteriori indagini sulla presenza del germe. Tali metodiche possono essere:

- *esame colturale*: è un test invasivo che presuppone il campionamento in modo sterile di due biopsie (le prime due, all'inizio della seduta endoscopica, da antro e fondo) da inviare al microbiologo. Pur avendo, per le sue difficoltà tecniche, una sensibilità inferiore all'istologia, potrebbe consentire di ottenere un antibiogramma sulla base del quale programmare una terapia antibiotica adeguata. L'esame colturale è particolarmente indicato in concomitanza al primo mappaggio biptico, nella fase di stadiazione locale, e al momento della verifica dell'eradicazione, in caso di fallimento della terapia. Consente inoltre lo studio dei ceppi batterici.
- *test sierologico*: il dosaggio degli anticorpi sierici anti-*Hp* consente di dimostrare una attuale o pregressa infezione. Risulta utile, nella fase di diagnosi iniziale di linfoma MALT a basso grado di malignità, quando non si evidenzino *Hp* nelle sezioni, specialmente se risulti dall'anamnesi una recente terapia antibiotica. Non è invece indicato per confermare l'avvenuta eradicazione a breve distanza dalla terapia antibiotica, in quanto il titolo anticorpale decresce molto lentamente.
- *urea breath test*: è un test non invasivo con elevate sensibilità e specificità, utile per confermare sia la presenza che l'assenza dell'*Hp* anche a breve distanza dalla terapia antibiotica.
- *test immunoenzimatico sulle feci*: la ricerca di antigeni di *Hp* nelle feci è un test non invasivo di recente introduzione, dotato di elevata specificità e sensibilità.

Non appare al momento indicato utilizzare metodiche per la distinzione fra ceppi *Hp* CAG-A positivi e negativi.

Modificazioni istopatologiche dopo eradicazione

Nel linfoma gastrico a basso grado tipo MALT, *Hp* associato, a distanza di almeno 6 settimane dalla fine della terapia antibiotica va effettuato il primo follow-up endoscopico allo scopo di accertare l'avvenuta eradicazione dell'infezione e la regressione o meno dell'infiltrato linfomatoso.

Le modificazioni istopatologiche osservabili in caso di successo della terapia sono le seguenti [15]:

- 1) regressione della gastrite:
 - scomparsa dell'*Hp*
 - scomparsa dei granulociti intraepiteliali
 - reintegrazione del profilo delle ghiandole superficiali
 - riduzione della componente linfoide reattiva
- 2) regressione dell'infiltrato linfomatoso:

- scomparsa delle lesioni linfo-epiteliali
- riduzione o scomparsa dell'infiltrato linfoide neoplastico con conseguente aspetto "svuotato" della lamina propria (aree "rosa" di tessuto connettivo lasso popolato da rari, residui linfociti e da plasmacellule sparse, ma privo delle ghiandole precedentemente distrutte dal linfoma).

La regressione dell'infiltrato linfomatoso può essere simultanea o ritardata rispetto a quella della gastrite. Nella maggioranza dei casi (70%) avviene entro 6 mesi dalla eradicazione dell'infezione da *Hp*, ma sono stati osservati casi in cui la completa regressione dell'infiltrato linfoide è avvenuta tardivamente, dopo 12 e anche 24 mesi dalla terapia antibiotica in assenza di altri presidi terapeutici. In questi casi il quadro morfologico dei follow-up intermedi mostra generalmente aspetti di regressione parziale con coesistenza di aree di lamina propria svuotata e di focolai di linfoma, solitamente addossati alla muscularis mucosae.

Le colorazioni immunoistochimiche non sono né necessarie né indicate per una valutazione della regressione di linfoma gastrico MALT.

Protocolli di campionamento biptico

Il linfoma gastrico MALT è una malattia d'organo generalmente multifocale [16] e spesso con coesistenza di focolai a basso e ad alto grado di malignità. Il solo quadro endoscopico non consente di discriminare le aree di mucosa gastrica indenni da quelle coinvolte dal processo, soprattutto nelle forme a basso grado in fase iniziale, che possono anche mostrare un aspetto di normalità o di lieve gastrite. Ne consegue che una *mappatura biptica* anche della mucosa gastrica apparentemente non coinvolta è necessaria:

- nei casi in cui il primo reperto istologico sia stato non conclusivo
- per accertare il grado di malignità e per conoscere l'estensione nell'ambito delle varie sedi gastriche nei casi di linfoma a basso grado già diagnosticato, prima di iniziare la terapia (stadiazione locale)
- nel follow-up dopo trattamento terapeutico conservativo.

Oltre ai campioni mirati su eventuali singole lesioni endoscopicamente riconoscibili o loro esiti è necessaria una mappatura biptica adeguata, anche se non vi è consenso sul numero minimo di biopsie da effettuare; si ritiene necessario un minimo di 12 prelievi; 24 prelievi sono considerati da alcuni centri il numero ottimale: essi vanno eseguiti sulla mucosa antrale, corpale e fundica e su tutti i quadranti (piccola e grande curvatura, parete anteriore e posteriore):

antro distale	(2-4 biopsie)
antro prossimale	(2-4 biopsie)
angulus	(2-4 biopsie)
corpo distale	(2-4 biopsie)
corpo prossimale	(2-4 biopsie)
fondo	(2-4 biopsie)

Modalità di trattamento dei campioni bioptici

I campioni bioptici vanno *fissati, processati e colorati routinariamente* avendo cura che la concentrazione della formalina non ecceda il 10% e che la durata della fissazione non superi le 24 ore: ciò consentirà di ottenere sezioni adeguate, oltre che per le usuali colorazioni, anche per esami immunostochimici e per eventuali indagini di biologia molecolare (PCR su materiale incluso in paraffina).

Ruolo dell'immunoistochimica

La quasi totalità dei linfomi gastrici è di natura B e viene marcata con anticorpi diretti contro antigeni linfocitari B di ampio spettro quali il CD20 ed il CD79a.

L'immunofenotipizzazione con metodiche immunoistochimiche può essere di ausilio nella diagnostica istopatologica sia per la definizione di natura del processo (reattivo vs. linfomatoso) sia nella diagnosi differenziale fra linfoma B MALT a basso grado con altri linfomi B a basso grado.

L'individuazione di una espressione monotipica per le catene leggere kappa o lambda può essere di aiuto nel definire la natura linfomatosa del processo: è tuttavia reazione di non sempre facile interpretazione, soprattutto su materiale bioptico, per la quasi costante commistione di elementi reattivi.

Non esistono al momento marcatori specifici per i linfomi B MALT, sia a basso che ad alto grado.

Nell'ambito della diagnostica differenziale fra linfomi B MALT e altri linfomi B a basso grado, è opportuno ricorrere a un panel ristretto di marcatori quali il CD5, CD10 e Ciclina D1 (vedi Tab. 4). I linfomi B MALT sono usualmente negativi per tutti e 3 questi marcatori, anche se sono descritti rari casi CD5 positivi. Il CD43 può essere coespresso anche nei linfomi B MALT; questo fenotipo aberrante può essere considerato indicativo per processo linfomatoso.

Ruolo della biologia molecolare

Le metodiche di PCR su materiale fissato in formalina e incluso in paraffina permettono di dimostrare la presenza monoclonale di frammenti di geni per le catene pesanti delle immunoglobuline nell'ambito di una popolazione linfomatosa in circa il 70% dei casi. Tale tecnica è semplice, affidabile e si può effettuare su materiale processato routinariamente consentendo di utilizzare le stesse biopsie ottenute per la diagnosi istologica e di effettuare anche studi retrospettivi. La PCR ha perciò sostituito nella diagnostica del linfoma gastrico MALT la tecnica di Southern-blotting che, a dispetto di una maggiore sensibilità, necessita di grandi quantità di tessuto congelato prelevato in una seconda seduta endoscopica.

La dimostrazione della monoclonalità della popolazione linfoide rappresenta utile conferma del sospetto diagnostico istologico di linfoma MALT di basso grado ma, per sé sola,

disgiunta da un quadro istologico suggestivo, non può essere considerata indice di neoplasia né nella diagnosi iniziale né nella valutazione della regressione.

Infatti, da un lato, sono numerose in letteratura le segnalazioni di presenza di bande clonali in casi di gastrite, dall'altro, durante il follow-up di linfoma a basso grado, dopo terapia eradicante, nella stragrande maggioranza dei casi si osserva persistenza, per mesi od anni, di riarrangiamento monoclonale associato a quadro istologico di remissione senza che siano stati segnalati, a tutt'oggi, casi di ripresa clinico-istologica di malattia [15].

La mancata dimostrazione di monoclonalità, d'altronde, nulla toglie alla diagnosi di presenza o di persistenza di linfoma gastrico MALT, valutata morfologicamente, dato il significativo numero di falsi negativi.

Il referto istopatologico

Il referto istopatologico di biopsie gastriche interessate da processo linfoproliferativo deve contenere, oltre che le informazioni usuali di carattere generale (dati anagrafici, sedi del prelievo, numero di biopsie ottenute), la diagnosi del tipo di linfoma, utilizzando la terminologia proposta dalla classificazione WHO [4] e la presenza o assenza di *Hp*. In caso di reperto dubbio o non conclusivo può essere utilizzato lo score istologico secondo Wotherspoon [5], con un breve commento sulla eventuale necessità di una ulteriore mappatura bioptica. Vanno inoltre sempre riportati i risultati delle indagini di immunofenotipizzazione immunoistochimica e di biologia molecolare. Procedure similari vanno osservate anche nella diagnosi su preparati di follow-up di linfoma gastrico a basso grado di malignità dopo terapia antibiotica, descrivendo le modificazioni osservate, ad esempio persistenza, regressione o regressione parziale di linfoma MALT. Un breve commento finale è necessario in caso di regressione parziale (ad esempio si consiglia di proseguire follow-up) o nel caso non si sia sicuri dell'avvenuta eradicazione dell'infezione (rari granulociti intraepiteliali in assenza di evidenza di *Hp* nelle sezioni) (ad esempio si consigliano test diagnostici ancillari) o quando il campionamento non sia ritenuto adeguato (meno di 24 biopsie nelle sedi dovute).

Le precedenti pubblicazioni sui requisiti diagnostici minimi in patologia dell'apparato digerente, patrocinate dal G.I.P.A.D., sono reperibili su *Pathologica*, 89:592-598, 1997 (M.L. Caruso, R. Fiocca: Gastriti croniche); 90:176-182, 1998 (M. Guido, G. Faa: Epatiti croniche); 90:467-473, 1998 (A. Parenti, G. Lapertosa: Esofagiti ed esofago di Barrett); 90:809-813, 1998 (S. Chiarelli, V. Villanacci: Celiachia); 91:42-48, 1999 (M. Cornaggia, C. Capella, W. Grigioni: Malattie infiammatorie croniche idiopatiche intestinali); 91:286-294, 1999 (G. Zamboni, G. Lanza, M. Risio: Adenocarcinoma del retto-colon); 92:210-220, 2000 (M. Roncalli, E. David, A. Gentile, L. Pollice: Lesioni nodulari del fegato)

Summary Gastric lymphomas have been the subject of intensive studies in the last years and important progress has been made regarding their etiopathogenesis and therapy. Diagnosis of gastric lymphoma is usually made on bioptic material taken at endoscopy. Histopathologic diagnosis is frequently difficult. This paper summarizes the main diagnostic criteria of this setting. It analyses the morphological, immunohistochemical and molecular features to be considered for the differential diagnosis between: reactive process vs low grade B-cell gastric MALT lymphoma, B-cell MALT lymphoma vs other low grade lymphomas involving the stomach and low grade vs high grade gastric lymphoma. The histopathological aspects of gastric biopsies after antibiotic treatment for *Helicobacter pylori* eradication and the role of molecular analysis in the follow-up of these patients are also considered.

Bibliografia

1. Isaacson PG, Wright DH (1983) Malignant lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. A distinctive type of B-cell lymphoma. *Cancer* 52:1410-1416
2. Isaacson PG, Spencer J, Wright DH (1988) Classifying primary gut lymphomas. *Lancet* 332:1148-1149
3. Harris NL, Jaffe ES, Stein H et al (1994) A revised European American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the international lymphoma study group. *Blood* 84:1361-1392
4. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J et al (1999) World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissue: report of the clinical advisory committee meeting-Airlie House Virginia, November 1977. *J Clin Oncol* 17:3835-3849
5. Wotherspoon AC, Doglioni C, Diss TC et al (1993) Regression of primary low-grade B-cell gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 342:575-577
6. Morquer A, Lehn N, Andersen L et al (2000) *Helicobacter Heilmanni* associated primary gastric low grade MALT lymphoma: complete remission after curing the infection. *Gastroenterology* 118:821-828
7. Willis TG, Jadayel DM, Du MQ et al (1999) Bcl10 is involved in t(1;14)(p22;q32) of MALT B cell lymphoma and mutated in multiple tumor types. *Cell* 96:35-45
8. Ott G, Katzenberger T, Greiner A et al (1997) The t(11;18)(q21;q21) chromosome translocation is a frequent and specific aberration in low-grade but not high-grade malignant non-Hodgkin's lymphomas of the mucosa-associated lymphoid tissue (MALT)-type. *Cancer Res* 57:3944-3948
9. Dierlamm J, Baens M, Wlodarska I et al (1999) The apoptosis inhibitor gene API2 and a novel 18q gene, MLT, are recurrently rearranged in the t(11;18)(q21;q21) associated with mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas. *Blood* 93:3601-3609
10. Cogliatti SB, Schmid U, Lennert K (1991) Primary B-cell gastric lymphoma: a clinicopathological study of 145 patients. *Gastroenterology* 101:1159-1170
11. Zamboni G, Franzin G, Scarpa A et al (1996) Carcinoma-like signet-ring cells in gastric mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma. *Am J Surg Pathol* 20:588-598
12. Chan JK, Ng CS, Isaacson PG (1990) Relationship between high-grade lymphoma and low-grade B-cell mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma (MALToma) of the stomach. *Am J Pathol* 136:1153-64
13. De Jong D, Boot H, van Heerde P et al (1997) Histological grading in gastric lymphoma: pretreatment criteria and clinical relevance. *Gastroenterology* 112:1466-1474
14. Eck M, Greiner A, Schmaussez B et al (1999) Evaluation of Hp in gastric MALT type lymphoma: differences between histological and serological diagnosis. *Mod Pathol* 12:1148-51
15. Savio A, Franzin G, Wotherspoon AC et al (1996) Diagnosis and post-treatment follow-up of *Helicobacter pylori*-positive gastric lymphoma of mucosa associated lymphoid tissue: histology, polymerase chain reaction or both? *Blood* 87:1255-1260
16. Wotherspoon AC, Doglioni C, Isaacson PG (1992) Low-grade gastric B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT): a multifocal disease. *Histopathology* 20:29-34
17. Liu H, Ruskon-Fourmesttraux A, Lavergne-Slove A et al (2001) Resistance of t(11;18) positive gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma to *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Lancet* 357:39-40