

Non-Hodgkin's lymphoma of the gastro-intestinal tract : clinicopathological correlations

Citation for published version (APA):

Gisbertz, I. A. M. (1998). *Non-Hodgkin's lymphoma of the gastro-intestinal tract : clinicopathological correlations*. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht.

Document status and date:

Published: 01/01/1998

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Summary

Primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma is an uncommon disease which is gradually emerging as a specific clinical and pathological entity. Its interesting pathogenesis has partly been elucidated in the last decade, but many questions remain. These concern especially its classification, clinical staging and indolent behaviour. In this thesis, therefore, both clinical and pathological features of gastrointestinal lymphomas were studied in relation to these issues.

In **chapter 1**, a historical overview on the subject of gastrointestinal lymphoma is given. Important hallmarks are the definition of the MALT concept and the relationship of *Helicobacter pylori* with this disease. Also, the evolution of pathological classifications and clinical staging classifications is described. Finally, the aims of the present thesis are discussed.

The study population has been selected from a population-based registry. In the Limburg Working Party on lymphoma every new lymphoma case in a region of about a million inhabitants is discussed and registered. **Chapter 2** describes the inclusion criteria and provides some general information on the cohort studied (age, sex, stage, localisation in the gastro-intestinal tract). Background information is given on the techniques used in this thesis.

Gastric lymphomas account for the majority of gastrointestinal NHL. In the past gastric and intestinal lymphomas were studied together, but it has become clear that they have a different pathogenesis. Gastric lymphoma is a rather indolent tumour, and in studying its growth pattern we wanted to shed some light on its pathogenesis. Tumour growth is nowadays considered to depend on both cell proliferation, as well as cell death. In **chapter 3** these two features were studied. It appeared that small cell gastric lymphomas grow mainly by a prolonged survival possibly as a result of the inhibition of apoptosis by bcl-2, whereas large cell gastric lymphomas expand largely by rapid proliferation, despite the presence of higher apoptotic rates as well.

A series of events have taken place prior to autonomous growth in a small cell gastric lymphoma already. Mucosa associated lymphoid tissue seems to be a necessary prerequisite for the development of gastric lymphoma, as the normal stomach is devoid of any lymphoid tissue. Chronic active *Helicobacter pylori* infection is held responsible for the development of MALT in the stomach. Although the presence of *H. pylori* has been shown in a number of studies, few studies used specific techniques to investigate the presence of *H.pylori*, and even fewer examined their presence in large cell lymphomas. In this series *H.pylori* was present in both histological grades of lymphoma, but more frequently so in small cell lymphomas, as described in **chapter 4**. Also, a lower frequency of *H.pylori* was observed in our lymphoma cases, compared to other investigations. From our data we concluded that although *H.pylori* colonisation is an important factor in the

genesis of gastric lymphoma, other factors are also necessary. This holds especially true for large cell lymphomas, in which less *H.pylori* was found. However, using the specific method for the detection of *H.pylori*, it was noticed that apart from *H.pylori*, other bacteria were frequently seen, especially in the large cell cases.

Therefore, a more exact analysis of these bacteria was performed in **chapter 5**. Bacterial flora, other than *H.pylori*, was detected in a surprisingly high proportion of patients with gastric lymphoma. The possible explanations for this phenomenon are discussed in **chapter 5** and include among others decreased acid secretion by tumour tissue or bacterial overgrowth due to treatment for gastric complaints. Furthermore, the localisation and density of bacterial flora was compared in small and large cell lymphomas. Large cell lymphomas had a higher density of *H.pylori* in corpus mucosa. The role of other bacteria in gastric lymphoma has to be further elucidated.

Deregulation of genes in cancer is often caused by chromosomal abnormalities, and especially in non-Hodgkin's lymphoma specific numerical and structural chromosomal aberrations can be recognized in different subtypes. Sometimes, these specific abnormalities are even used for diagnostic purposes, and incorporation of genetic information in the REAL classification for lymphomas also shows their significance. Small cell gastric lymphomas of MALT have been studied for chromosomal aberrations by both classical cytogenetics as well as by interphase cytogenetics. Trisomy of chromosome 3 has been reported in a number of studies and is included as characteristic for small cell MALT lymphomas in the REAL classification.

Assuming that large cell primary gastric lymphomas are derived from small cell gastric MALT lymphoma, it could be expected that large cell lymphomas displayed the same aberrations than small cell lymphomas. Indeed, in **chapter 6** we describe numerical aberrations of chromosome 12, 15 and 18 in both small and large cell lymphoma. Also, more, and more different aberrations per case in large cell lymphomas were noticed. This may be explained by the accumulation of genetic abnormalities when tumours transform to more aggressive states and are genetically more instable.

In contrast to observations described in the literature, in this series we could not confirm the frequent presence of trisomy of chromosome 3 in primary gastric lymphoma, neither in the small cell nor in large cell cases. This discrepancy may, in part, be explained by the low number of cases in our study, however, taking into account the relative frequent trisomy described in literature, it would be very unlikely that in this series no small cell lymphoma bearing this abnormality would be present. Another explanation could be of technical nature. The probes used for the detection of chromosome 3 (D3Z1 and pAE0.68) both easily gave rise to minor binding sites, forcing us to apply rather stringent washes. This sometimes resulted in weak signals and it was difficult to find the right balance between stringent

washes and amplification of the signals. Misinterpretation of minor binding sites as signals, therefore, has to be considered a significant confounding problem in the evaluation of chromosome 3.

In **chapter 7**, a combined evaluation of both clinical and pathological data in gastric lymphoma is reported. Sixty-nine patients were studied retrospectively. Common complaints at presentation were abdominal pain, dyspepsia and weight loss. Overall five year survival was 46%. A better survival was found in patients with small cell lymphoma, MALT histology, low stage at presentation, young age and surgical therapy. Discussion exists about the interpretation of the role of MALT histology and surgical therapy. It seems that these factors are interrelated, because lymphomas with MALT histology were more often localized at presentation and as such more liable to surgical treatment.

Differences in apoptotic or proliferative indices did not identify prognostic significant subgroups. The clinical role of *H.pylori* or chromosomal aberrations could not be evaluated because of the low number of cases.

Chapters 8 and 9 describe cell turnover studies and clinical studies on primary intestinal lymphoma, respectively. A very interesting difference in the comparison between gastric and intestinal lymphoma is the notion that intestinal lymphomas are probably derived from already present gut associated lymphoid tissue, whereas gastric lymphomas are derived from acquired mucosa-associated lymphoid tissue. Furthermore, although MALT is abundantly present in the intestines and is generally not present in the stomach, gastric lymphoma is more common than intestinal lymphoma.

In this series we selected intestinal lymphomas associated to the mucosa and classified them in the same way as the stomach lymphomas. Furthermore, a refined histological classification was applied, in which the percentage of diffusely intermingled blasts was scored. As in gastric lymphoma, large cell intestinal lymphomas were more common than small cell lymphomas.

Proliferative and apoptotic indices were determined (**chapter 8**), and like in gastric lymphoma, were correlated with histology, small cell lymphomas showing a low cell turnover, whereas large cell lymphomas demonstrated high apoptotic and proliferative indices.

Comparing these cell turnover parameters in intestinal lymphoma to those in gastric lymphoma, it was noticed that apoptotic indices in intestinal lymphomas in general were slightly higher than in gastric lymphomas. This can be explained by the presence of T-cell lymphomas, which showed higher apoptotic indices. This higher rate of apoptosis may be partly explained by the relative absence of bcl-2 expression in T-cell lymphomas, but is probably also due to other factors involved in the regulation of apoptosis.

Overexpression of the p53 protein was not often present in intestinal lymphoma, and like in gastric lymphoma, was more common in large cell lymphomas as

compared to small cell lymphomas, suggesting a similar role in the progression of small to large cell lymphoma.

Chapter 9 shows that although only few patients had lymphomas overexpressing this p53 protein, these patients had a significantly worse survival. In general, also a higher proliferation was found in p53 positive lymphomas.

A more useful indicator of survival was the histological classification dividing cases in small and large cell lymphoma. In this series, none of the patients with small cell lymphoma died of the disease. Apart from histology, the B- or T-cell phenotype of the lymphoma was important. Although not significant, T-cell lymphomas were associated with a very poor survival.

There was no role for proliferation as a predictor of survival, however, apoptosis seemed to be of relevance. Patients with lymphomas displaying high apoptotic rates demonstrated a worse survival. The explanation for this phenomenon could be that most lymphomas with high apoptotic rates were large cell lymphomas.

In the general discussion (**chapter 10**), the results of this thesis are discussed in the context of the literature. Furthermore, interesting topics of future research are identified, in particular the antigen driven nature in these tumours and possibly also other tumours.

Samenvatting

Samenvatting

Het primaire non-Hodgkin lymfoom van het maag-darm kanaal is een zeldzame aandoening, die steeds meer gezien wordt als een specifieke klinische en pathologische entiteit. In de laatste tien jaar is veel van de ontstaanswijze van deze ziekte ontrafeld. Er blijven echter nog veel vragen over. Deze betreffen het relatief gunstige beloop van het maaglymfoom, en de classificatie en klinische stadiëring van deze ziekte. In dit proefschrift werden daarom klinische en pathologische kenmerken van maag-darm lymfomen bestudeerd in relatie tot deze aspecten.

In **hoofdstuk 1** worden de ontwikkelingen op het gebied van maag-darm lymfomen in chronologische volgorde beschreven. Mijlpalen waren de definiëring van het MALT concept (mucosa-geassocieerde lymfoïde weefsel) en de betrokkenheid van het micro-organisme *Helicobacter pylori* in deze ziekte. Ook worden de ontwikkelingen in histologische classificaties en klinische stadiëringen beschreven. Uiteindelijk worden de doelstellingen van dit onderzoek besproken.

Het bestudeerde cohort werd geselecteerd uit de archieven van het Limburgs Lymfomen Panel, dat maandelijks elk nieuwe lymfoproliferatieve aandoening bespreekt die wordt gediagnostiseerd in deze regio, die ongeveer 1 miljoen mensen beslaat. In **hoofdstuk 2** worden de inclusiecriteria beschreven en daarnaast algemene informatie omtrent de leeftjidsverdeling, man-vrouw ratio, stadium en lokalisatie in het maag-darm kanaal van het geselecteerde cohort. Achtergrondinformatie omtrent de gebruikte methoden om celgroei, geprogrammeerde celdood en numerieke chromosoomafwijkingen te meten wordt ook beschreven in dit hoofdstuk.

De meeste maag-darm lymfomen ontstaan in de maag. Alhoewel maag- en darmlymfomen in het verleden samen bestudeerd werden, is het nu duidelijk dat zij een volstrekt andere ontstaanswijze en klinisch beloop hebben. Het primaire maaglymfoom is een aandoening met een relatief gunstig beloop. Middels de bestudering van het groeipatroon van deze aandoening hebben we geprobeerd iets van de pathogenese op te helderen. In **hoofdstuk 3** werden zowel de mate van celdeling als de mate van celdood in de vorm van apoptose gemeten, zodat een indruk van celaanmaak en celafbraak werd verkregen. Dit omdat de laatste jaren steeds duidelijker wordt dat een verstoring in de weefselhomeostase zowel een gevolg kan zijn van verstoorde aanmaak als van verstoorde afbraak. Uit de data kwam duidelijk naar voren dat kleincellige maaglymfomen vooral groeien als een gevolg van een verstoorde celdood (apoptose), mogelijk ten gevolge van inhibitie van dit proces door hoge expressie van het bcl-2 eiwit in deze tumoren. Dit in tegenstelling tot grootcellige maaglymfomen, die een zeer snelle turnover van cellen liet zien, met zowel snelle aanmaak als ook snelle afbraak van cellen.

Voordat een kleincellig maaglymfoom zich autonoom kan ontwikkelen, hebben al een aantal andere processen plaatsgevonden. De aanwezigheid van mucosa-

geassocieerd lymfoïd weefsel (MALT) lijkt noodzakelijk te zijn voor de ontwikkeling van een maaglymfoom, gezien het feit dat er in de normale maag geen georganiseerd lymfoïd weefsel aanwezig is. Chronisch actieve *Helicobacter pylori* gastritis lijkt verantwoordelijk voor de ontwikkeling van dit MALT. Ofschoon de aanwezigheid van deze bacterie is aangetoond in een aantal studies, is dit vrijwel nooit met specifieke methodes gedaan en daarnaast bijna alleen in kleincellige maaglymfomen. **Hoofdstuk 4** beschrijft de resultaten van deze studie, waarin *Helicobacter pylori* werd gevonden in zowel kleincellige als grootcellige maaglymfomen, maar vaker in de eerstgenoemde. Bovendien lieten deze data, in vergelijking met de bestaande literatuur, een lagere frequentie van *Helicobacter pylori* aanwezigheid zien. Hieruit kan geconcludeerd worden dat *Helicobacter pylori* kolonisatie van de maag zeker een belangrijke factor is in de ontwikkeling van het maaglymfoom, maar dat er daarbij ook andere factoren nodig zijn. Dit geldt met name voor de grootcellige maaglymfomen, waarin minder *Helicobacter pylori* werd gezien. Dankzij het gebruik van een specifieke detectiemethode voor *Helicobacter pylori*, werd echter ook opgemerkt dat in grootcellige lymfomen vaker andere bacteriële flora werd gezien. Daarom werd in **hoofdstuk 5** een aanvullende analyse verricht ten aanzien van deze non-*Helicobacter pylori* bacteriële flora. Deze werd in een verrassend hoog percentage van de grootcellige lymfomen gevonden. Mogelijke verklaringen voor dit fenomeen worden besproken en zijn onder andere een verminderde zuurproductie door de tumor en bacteriële overgroei tengevolge van behandeling voor dyspepsie. Ook werden de localisatie en densiteit van bacteriële flora vergeleken in klein- en grootcellige lymfomen. Hierbij werden nauwelijks verschillen gevonden. De rol van deze andere bacteriële flora dient nog verder uitgezocht te worden, mogelijk dat ook deze bacteriën een rol spelen in de pathogenese van deze ziekte.

Bij tumorgroei worden vaak genetische afwijkingen in de zin van chromosoom afwijkingen aangetroffen. Vooral non-Hodgkin lymfomen zijn een voorbeeld van tumoren die vaak specifieke structurele chromosomale afwijkingen vertonen in de verschillende subtypes. Deze specifieke afwijkingen worden zelfs gebruikt voor diagnostische doeleinden. Verder blijkt hun belang ook uit de inclusie van genetische informatie in de REAL (Revised European-American Lymphoma) classificatie. Kleincellige MALT lymfomen zijn op genetisch niveau bestudeerd, met behulp van klassieke cytogenetica en in situ hybridisatie. Een trisomie (drie chromosomen van één type in plaats van twee) van chromosoom drie is beschreven in enkele studies en wordt in de REAL classificatie genoemd als karakteristiek voor deze lymfomen.

Als grootcellige maaglymfomen inderdaad voortkomen uit kleincellige primaire maaglymfomen, zouden ze in ieder geval dezelfde genetische afwijkingen moeten hebben als kleincellige lymfomen. Inderdaad worden in **hoofdstuk 6** numerieke afwijkingen van chromosoom 12, 15 en 18 beschreven in beide histologische

entiteiten. Daarnaast werden in grootcellige lymfomen vaker afwijkingen gezien en ook vaker meer afwijkende chromosomen per lymfoom. Een mogelijke verklaring hiervoor is de toename van genetische instabiliteit in meer agressieve grootcellige lymfomen met een snellere turnover.

De in de literatuur beschreven frequentie van voorkomen van trisomie 3 kon niet worden bevestigd in onze studie. Mogelijk is dit een gevolg van het lage aantal bestudeerde lymfomen, echter gezien de frequentie beschreven in de literatuur is het zeer onwaarschijnlijk dat in deze serie zo weinig trisomieën van chromosoom drie werden gezien. Een andere verklaring zou een technische kunnen zijn. De gebruikte probes voor de detectie van chromosoom drie gaven makkelijk aanleiding tot aspecifieke aanhechting, wat zeer grondig wassen noodzakelijk maakte. Dit laatste resulteerde weer in zwakkere signalen, en het bleek moeilijk een goed evenwicht te vinden tussen de wasprocedure en signaalintensiteit. Misinterpretatie van signalen lijkt daarom een moeilijk probleem te zijn bij de evaluatie van chromosoom drie.

In **hoofdstuk 7** worden de resultaten beschreven van een gecombineerde analyse van klinische en pathologische data. In deze studie werden 69 patiënten retrospectief bestudeerd. Frequente klachten en symptomen bij presentatie waren buikpijn, dyspepsie en gewichtsverlies. De overall vijf-jaars overleving was 46%. Een betere overleving werd gevonden in patiënten met kleincellige lymfomen, MALT histologie, presentatie in lage stadia, jongere leeftijd en chirurgische therapie. Over de rol van MALT histologie en chirurgie is enige discussie mogelijk. Deze twee prognostisch gunstige factoren kunnen aan elkaar gerelateerd zijn, omdat lymfomen met MALT histologie vaker in een lager stadium bij patiënten vastgesteld worden. Dit maakt deze lymfomen toegankelijker voor chirurgische therapie. Groepen ingedeeld volgens lage of hoge celdelingsgraad of celdood ratio lieten geen prognostische verschillen zien. De klinische rol van *Helicobacter pylori* of chromosoom afwijkingen kon niet geëvalueerd worden in verband met het lage aantal gevallen, waarin deze resultaten bekend waren.

Cel turnover en retrospectieve klinische analyse in primaire darmlymfomen worden respectievelijk in **hoofdstuk 8 en 9** beschreven. Een interessant verschil tussen maag- en darmlymfomen is het feit dat darmlymfomen waarschijnlijk voortkomen uit al aanwezig lymfoïd weefsel, terwijl dit in de maag eerst verworven moet worden. Daarnaast leidt de aanwezigheid van mucosa-geassocieerd weefsel in de darm klaarblijkelijk veel minder vaak tot de ontwikkeling van een lymfoom, aangezien ongeveer 2/3 van alle maag-darm lymfomen zich in de maag manifesteert.

In deze studie werden darmlymfomen geselecteerd die een duidelijke relatie met de mucosa hadden en deze werden op dezelfde manier geclassificeerd als de maaglymfomen. Bovendien werd een verfijnde histologische classificatie gebruikt, waarin het percentage blasten werd gescoord. Net zoals in maaglymfomen, werden

ook in de darmlymfomen meer grootcellige lymfomen gevonden.

Celdeling en celdood ratios werden bepaald en bleken ook hier geassocieerd met het histologisch patroon (**Hoofdstuk 8**). Ook in darmlymfomen lieten kleincellige varianten een veel lagere cel turnover ratio zien dan grootcellige lymfomen.

Vergelijking met de waarden in maaglymfomen, toonde dat celdood ratio's in darmlymfomen over het algemeen genomen hoger waren. Dit zou kunnen worden verklaard met de aanwezigheid van T-cel lymfomen, die veel celdood lieten zien. Dit laatste zou een gevolg kunnen zijn van de afwezigheid van bcl-2 expressie in T-cel lymfomen, maar is waarschijnlijk ook een gevolg van andere factoren die een rol spelen in de regulatie van celdood.

Overexpressie van het p53 eiwit kwam niet vaak voor in darmlymfomen, en was net zoals in maaglymfomen vaker aanwezig in grootcellige lymfomen. Dit suggereert in beide een rol in de progressie van klein- naar grootcellige lymfomen, zoals die ook in nodale lymfomen wordt beschreven.

Alhoewel p53 slechts zelden voorkwam, hadden patiënten met een p53 positief lymfoom een significant slechtere prognose (**Hoofdstuk 9**). In het algemeen werd ook een hogere proliferatie gevonden in p53 positieve lymfomen. Een meer bruikbare indicator voor de prognose was de histologische classificatie in klein en grootcellige lymfomen. In de bestudeerde groep was er geen enkele patiënt met een kleincellig darmlymfoom die overleed tengevolge van deze ziekte.

Afgezien van de histologie was ook het B- of T-cel fenotype belangrijk. Ofschoon niet significant, leken T-cel lymfomen een duidelijk slechtere prognose te hebben.

Ook in darmlymfomen was celgroei geen voorspeller van de survival, celdood echter wel van belang te zijn. Patiënten met een hogere celdood index leken een slechtere overleving te hebben. Een mogelijke verklaring hiervoor is dat dit ook met name de grootcellige lymfomen waren.

In **hoofdstuk 10** worden de resultaten van deze studie beschreven in de context van bestaande literatuur. Daarnaast worden een aantal interessante aspecten van deze zeldzame ziekte naar voren gebracht die nader onderzoek behoeven.