

Współczesna diagnostyka skórnych chłoniaków T-komórkowych

Modern diagnostic methods in cutaneous T-cell lymphomas

ALEKSANDRA GRZANKA, WALDEMAR PLACEK

Katedra i Klinika Dermatologii Akademii Medycznej w Bydgoszczy, kierownik Katedry i Kliniki prof. dr hab. med. Waldemar Placek

Abstract

Primary Cutaneous T-cell Lymphomas (CTCL) are differentiated group of limfoproliferative disorders originating from skin lymphocytes. Clinical presentation and histopathology findings usually are insufficient to make diagnosis. Additional methods are needed to diagnose CTCL. These include immunohistochemistry, immunocytochemistry and molecular methods. Particularly T-cell receptor gene rearrangement analysis may be used for diagnosing early stages of the disease, as well as for defining primary tumor site and monitoring its expansion.

This article outlines the modern methods used in cutaneous lymphomas diagnostic process.

Key words: T-cell lymphomas, diagnostics, TCR gene rearrangement.

Streszczenie

Pierwotne chłoniaki skórne z komórek T są zróżnicowaną grupą chorób limfoproliferacyjnych, wywodzących się pierwotnie ze skóry. Diagnostyka tej grupy chorób na podstawie obrazu klinicznego i histopatologicznego jest niewystarczająca. Pomocne są metody immunohistochemiczne, immunocytochemiczne oraz molekularne. Szczególnie te ostatnie pozwalają, dzięki badaniu rearanżacji genów receptora TCR, na wczesne wykrycie i umiejscowienie rozrostu nowotworowego oraz monitorowane rozwoju choroby. Artykuł omawia w zarysie współczesne metody diagnostyczne chłoniaków skóry.

Słowa kluczowe: chłoniaki T-komórkowe, diagnostyka, rearanżacja genu TCR.

(PDia 2004; XXI, 5: 220–225)

Skórne chłoniaki z komórek T (CTCL) są złożoną klinicznie grupą chorób limfoproliferacyjnych, dotyczących pierwotnie skóry. Przyjmuje się, że proces nowotworowy musi być ograniczony do skóry przez 6 mies., aby rozpoznać CTCL.

Klasyfikacja

Klasyfikacją porządkującą pierwotne chłoniaki skóry jest klasyfikacja EORTC. Do tej pory klasyfikacje chłoniaków niezziarnicznych nie podkreślały odrębności CTCL. EORTC opiera się nie tylko na obrazie histopatologicznym, ale również bierze pod uwagę obraz kliniczny, immunofenotypowanie oraz badanie rearanżacji genów TCR (tab. 1.) [1]. Do chłoniaków o łagodnym przebiegu po raz pierwszy zaliczono *Lymphomatoid pa-*

pulosis (LP). Mimo łagodnego przebiegu klinicznego, podobnego do PLEVA, wykryto w ponad 60 przypadkach zrearanżowany klon komórek T. LP również często współistnieje z *Mycosis fungoides* oraz w 10–20% przypadków może rozwinąć się inna rozrostowa choroba układu limfoproliferacyjnego. W klasyfikacji EORTC utworzono grupę tymczasową, gdzie umieszczono jednostki o niejasnym jak dotąd przebiegu: skórę ziarniniakową wiotką, CTCL pleomorficzny z małych i średnich komórek oraz podskórny chłoniak z komórek T przypominający *pannikulitis* [1].

Etiologia i patogenez

Najczęstszą postacią CTCL jest *Mycosis fungoides*, stanowiący 2,2% wszystkich chłoniaków [2]. Etiologia

Adres do korespondencji: lek. Aleksandra Grzanka, Katedra i Klinika Dermatologii, Akademia Medyczna im. L. Rydygiera, ul. Kurpińskiego 5, 85-096 Bydgoszcz, tel. +48 525 85 40 18, faks +48 52 585 40 18, e-mail: aleksandrag@op.pl

Tab. 1. Podział skórnych chłoniaków T-komórkowych wg klasyfikacji EORTC

łagodne	<i>Mycosis fungoides</i> <i>Mycosis fungoides</i> z mucynozą mieszkową siatkowica pagetoidalna olbrzymiokomórkowy CTCL, CD30+ – anaplastyczny – immunoblastyczny – pleomorficzny <i>Lymphomatoid papulosis</i>
agresywne	zespół Sezarego olbrzymiokomórkowy CTCL, CD30- – immunoblastyczny – pleomorficzny
grupa tymczasowa	skóra ziarniniakowa wiotka CTCL pleomorficzny z małych i średnich komórek <i>Subcutaneous panniculitis – like T-cell lymphoma</i>

chłoniaków skóry do tej pory jest nieznana. Długotrwała ekspozycja na czynniki chemiczne, fizyczne, wirusy nie ma wpływu na rozwój MF. Badano wpływ zakażenia wirusem HTLV-I, HHV-8, wirusa Epsteina-Barra, jednak do tej pory nie potwierdzono związku z rozwojem *Mycosis fungoides* [3–5]. Analiza antygenów zgodności tkankowej wykazała korelacje z HLA B8, Bw 35, DR5, AW31, AW32 [6]. Badano związek aberracji chromosomalnych u pacjentów z MF/SS, które z reguły występują częściej w zaawansowanych stadiach klinicznych i wykazano aberracje chromosomu 1, 2, 6, 9, 10, 13, 17, które wydają się być ważne dla rozwoju choroby [7]. Nędoszytko i Roszkiewicz przeanalizowali aberracje chromosomalne u 29 pacjentów z MF i 10 z SS, gdzie wykazano aberrację chromosomów 10/10q, 9/9p, 13/13q, 17/17p i 2/2p, co może być związane z występowaniem tam nowotworowych genów supresorowych – PTEN, CDKN2A, RB1, TP53 [8]. Potwierdzono również aberracje chromosomu 9p21 kodującego białka P15 i P16. Zaburzoną ekspresję białka P15 wykazano w 85% przypadków pacjentów z MF i białka P16 w 59% u pacjentów z aberracją genu P16. Nie wykazano korelacji tych zaburzeń ze stadium klinicznym MF/SS [9].

W MF/SS monoklonalne limfocyty T migrują do naskórka w złożonym mechanizmie. We wszystkich chłoniakach skórnych na tych limfocytach ekspresji ulega CLA (*cutaneous lymphocyte antigen*), antygen powierzchniowy, który nie ulega ekspresji w chorobach zapalnych skóry. CLA wchodzi w interakcję z E-selektyną, znajdującą się na komórkach endotelialnych w naczyniach skórnych. Limfocyty T posiadają także cząstkę adhezyjną LFA-1, która wchodzi w interakcję z recepto-

rem ICAM-1 występującym na keratynocytach. Duża ekspresja ICAM-1 wynika z odpowiedzi na interferon γ produkowany przez limfocyty Th1 [10]. Wskutek wymienionych procesów limfocyty migrują do naskórka, co powoduje m.in. powstanie mikroropni Pautiera.

Obraz kliniczny

Mycosis fungoides jest chorobą o stosunkowo łagodnym przebiegu i klinicznie przebiega w III stadiach: rumieniowym, naciekowym i guzowatym.

Pierwsze stadium stwarza często trudności diagnostyczne, ponieważ zmiany skórne są niecharakterystyczne – w postaci ognisk rumieniowych ze złuszczeniem, mogące przypominać łuszczycę, przyłuszczycę plackowatą, wyprysk, AZS. Przyłuszczyca plackowata wielogniskowa jest często stanem chorobowym poprzedzającym rozwój MF.

W drugim okresie pojawiają się zmiany naciekowe zarówno w obrębie zmian rumieniowych, jak i w niezmiętej wcześniej skórze, szerzące się obwodowo lub tworzące okrągłe, łukowate ogniska. Średni okres przeżycia w stadium I i II wynosi 12 lat.

W stadium III pojawiają guzy, które mają tendencję do rozpadu. Następnie dochodzi do zajęcia narządów wewnętrznych. Od początku choroby występuje silny świąd skóry [11].

Opisano również odmiany *Mycosis fungoides* z mucynozą mieszkową, z przebarwieniami i odbarwieniami skóry, pęcherzową, pęcherzykową oraz hiperkeratotyzną [11].

Zespół Sezarego jest drugą jednostką co do częstości wśród CTCL, jednak o odmiennym przebiegu. Na obraz składa się: erythrodermia, uogólnione powiększenie węzłów chłonnych oraz obecność komórek Sezarego (z mózgokształtnym jądrem) we krwi (powyżej 5%). Mogą również występować łysienie, onychodystrofia, nadmierne rogowacenie dłoni i stóp. Choroba ta szybko postępuje, średnie 5-letnie przeżycie wynosi 11% [12].

Diagnostyka

Chłoniaki skóry sprawiają trudności diagnostyczne, dlatego też oprócz obrazu klinicznego, histologicznego wykorzystuje się do rozpoznania immunohistochemię, badanie w mikroskopie elektronowym oraz badanie reakcji geny TCR metodą PCR (polimerazowej reakcji łańcuchowej).

Typowy obraz histologiczny *Mycosis fungoides* nie zawsze jest widoczny. Na jego obraz składa się pasmowaty naciek limfocytarny w górnej warstwie skóry, z komórek małych lub średniej wielkości, o hiperechogenicznym, mózgokształtnym jądrze; często dodatkowo w brodawkach skórnych występuje naciek z komórek

Tab. 2. Obraz kliniczny oraz fenotyp limfocytów chłoniaków skórnych z komórek T

	Obraz kliniczny	Immunofenotypowanie
<i>Mycosis fungoides</i>	stadium rumieniowe, stadium naciekowe, stadium guzowate	CD3+, D4+, CD45RO+, CD8CD30-, CD3+, CD4-, CD8+ (rzadko), CD2-, CD3-, CD5-, CD7- (utrata pan T)
<i>Mycosis fungoides</i> z mucynozą mieszkową	grudki przymieszkowe, łysienie skóry głowy, nacieczone blaszki i guzy w obrębie karku i głowy	jw.
siatkowica pagetoidalna	ogniska łuszczycopodobne, hiperkeratotyczne obejmujące głównie kończyny dolne	CD3+, CD4+, CD8-, CD3+, CD4-, CD8+, CD30+/-
olbrzymiokomórkowy CTCL, CD 30	guzy i guzki z tendencją do wrzodzenia, limfadenopatia, samoistna remisja (25%)	CD4+, CD8-, CD2-, CD3-, CD5-, CD30+ CD4-, CD8+
<i>Lymphomatoid papulosis</i>	polimorfizm zmian: grudki na podłożu rumieniowym, zlewające się, tworzące rumieniowo-krwotoczne nacieki, czasem wrzodziejące zmiany grudkowo-pęcherzykowe, grudkowo-krostkowe, pozostawiające atroficzne blizny	typ A i C: CD2+/-, CD3+, CD5+/-, CD8-, CD30+, CD15- typ B: CD3+, CD4+, CD8-, CD30-
zespół Sezarego	erythrodermia, limfadenopatia, komórki Sezarego we krwi	CD3+, CD4+, CD8-, CD30-
olbrzymiokomórkowy CTCL, CD 30-	pojedyncze grudki, nacieki zapalne	CD4+, CD2+/-, CD3+, CD5+/-, CD30-
skóra ziarniniakowa wiotka	fałdy wiotkiej skóry w okolicach pach i pachwin	CD3+, CD4+, CD8-
CTCL pleomorficzny z małych i średnich komórek	czerwonopurpurowe guzy i guzki	CD3+, CD4+, CD2+/-, CD5+/-
<i>Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma</i>	guzki, grudki, owrzodzenia głównie kończyn, gorączka, spadek masy ciała, osłabienie	CD3+, CD4+, CD8-, CD3+, CD4-, CD8+

zapalnych oraz epidermotropizm komórek jednojądrzastych, tworzący z czasem skupiska, tzw. mikroropnie Pautiera. Nacieki z limfocytów zapalnych zmniejsza się na korzyść nowotworowych wraz z rozwojem choroby [13].

W mikroskopie elektronowym obraz nowotworowych limfocytów jest dwójakiego rodzaju: są to komórki duże, z owalnym jądrem oraz średniej wielkości z jądrem mózgowkształtnym i powcinanym. Obecność cytoplazmatycznych organelli również może być różna. Cecha wspólną tych dwóch typów komórek jest obecność gęstych, ciemnych ziarnistości o średnicy ok. 30 nm, które mają tendencję do skupiania się w jednej części cytoplazmy. Mogą to być struktury ułatwiające rozpoznanie chłoniaka skóry [14].

Charakterystyczny obraz komórek Sezarego (o mózgowkształtnym jądrem) w mikroskopie elektronowym można wykorzystać do różnicowania chłoniaków skóry z dermatozami zapalnymi. NCI (*nuclear contour index*), który jest stosunkiem obwodu jądra do kwadratu jego powierzchni, wynosi w okrągłych limfocytach 3,5, a w MF/SS 7 [15]. Jednak nie zawsze taki obraz jest widoczny. Również komórki mózgowkształtne nie zawsze są komórkami T. Mogą to być komórki Langerhansa. Nie ma także znaczącej różnicy na poziomie ultrastrukturalnym między komórkami T pomocniczymi a supresorowymi. Najważniejsza jest identyfikacja limfocytów me-

todami immunocytochemicznymi i dopiero wtedy obliczenie NCI. Iwahara potwierdził wzrost NCI w chłoniakach skóry oraz jego wzrost wraz z rozwojem choroby po wyznakowaniu limfocytów [16].

Immunofenotypowanie limfocytów przeprowadza się na podstawie obecności antygenów CD (*cluster of differentiation*) na powierzchni komórki. Większość monoklonalnych limfocytów w MF posiada fenotyp limfocytów T CD2, CD3, CD5 oraz CD4 – charakterystyczny dla limfocytów T pomocniczych, ale niektóre wykazują ekspresję CD8, charakterystyczną dla limfocytów T supresorowych/cytotoksycznych. Często dochodzi do utraty antygeny CD7 już we wczesnych stadiach MF, co ma złe znaczenie prognostyczne i pomaga w różnicowaniu pacjentów z MF i z łagodnymi, zapalnymi dermatozami. W późniejszych stadiach może dochodzić do utraty CD2 i CD5. W chłoniaku olbrzymiokomórkowym CD30+ należy stwierdzić obecność antygeny CD30+ w ponad 75% komórek (tab. 2.) [17–19].

Rozwój badań naukowych pozwolił wykorzystać technikę PCR w diagnostyce chłoniaków skóry. Metoda ta umożliwia szybkie otrzymanie dużej liczby kopii danego fragmentu DNA.

Limfocyty T posiadają receptory TCR, które są odpowiedzialne za rozpoznawanie różnych antygenów przez te komórki. Białka te są kodowane przez geny znajdując-

ce się na chromosomie 7 (łańcuch $\alpha\gamma$) i 14 (łańcuch $\beta\delta$). Na powierzchni 95% limfocytów T ulegają ekspresji łańcuchy $\alpha\beta$, na pozostałych łańcuchy $\gamma\delta$. Niezależnie od tego, które łańcuchy ulegają ekspresji, to podczas dojrzewania limfocytów dochodzi do rearanzacji różnych regionów genów TCR, co warunkuje powstanie wielu klas limfocytów. U chorych z pierwotnymi chłoniakami skóry dochodzi do rozrostu limfocytów z jednej linii. Są to limfocyty monoklonalne, posiadające ten sam rodzaj rearanzacji genów TCR, który jest wykrywany w PCR. Spośród genów kodujących receptory TCR najmniej skomplikowany jest *locus* genu γ , składający się tylko z 11 funkcjonalnych segmentów 4V i 5J. Wszystkie możliwe rearanzacje mogą być wykryte małą ilością primerów, co ułatwia diagnostykę chłoniaków [20].

Występujące o wiele rzadziej chłoniaki o ekspresji receptorów $\gamma\delta$ są grupą chorób o znacznie gorszym rokowaniu niż chłoniaki $\alpha\beta$ [21].

PCR jest przydatna, zwłaszcza we wczesnych stadiach choroby, gdzie ani obraz kliniczny, ani histopatologiczny nie jest charakterystyczny. Świadczą o tym badania, które przeprowadził Tok i wsp. Przedstawili oni do oceny histopatologicznej 38 skrawków parafinowych od pacjentów z chłoniakami skóry we wczesnym stadium trzem histopatologom, aby je zakwalifikowali do 3 grup: 1) gdzie obraz jest niediagnostyczny; 2) gdzie obraz sugeruje chłoniaka skóry; 3) gdzie można jednoznacznie postawić rozpoznanie CTCL. Okazało się, że histopatolodzy nie byli zgodni w swoich rozpoznaniach, a przeprowadzone PCR wykazało monoklonalną rearanzację w 73% w grupie niediagnostycznej, 71% w grupie sugerującej chłoniaki i w 74% w grupie z rozpoznaniem hist.-pat. CTCL [20]. Stosunkowo niski odsetek wykrycia monoklonalności wynika z tego, że badania były przeprowadzone na skrawkach parafinowych, w których DNA z czasem ulega degradacji.

Porównywano również metodę hybrydyzacji *Southern blot* (SB) z PCR. SB jest czasochłonną metodą wymagającą tkanek świeżo mrożonych, w których jest co najmniej 5–10% komórek klonalnych. W przeciwieństwie do SB – PCR jest szybszą metodą, wymagającą mniejszej ilości materiału, którą można przeprowadzić zarówno na mrożonych, jak i na parafinowych skrawkach. 14 laboratoriów przeprowadziło analizę SB, gdzie wykryto 10/14 przypadków CTCL. Przeprowadzając PCR TCR β , wykryto rearanzację tylko w 47,1% przypadków, co wynika ze złożoności genów kodujących receptor β . Z kolei 21 laboratoriów przeprowadziło PCR TCR γ i uzyskano klonalność w 77,9% przypadków. Znamienne różnicę wykazano w detekcji monoklonalności na tkankach mrożonych (85,4%) i parafinowych (65,9%) [22].

Rozbieżność w wykrywalności rearanzacji monoklonalnej wynika z tego, że badacze posługują się różną

metodyką. W przeprowadzanych badaniach wyniki różnią się w zależności od metody PCR – termocykler, *Light Cycler*, jak również od sposobu analizy produktów za pomocą elektroforezy: na żelu agarozowym, poliakrylamidowym, w gradiencie czynnika chemicznego (DGGE), w gradiencie temperatur (TGGE), sekwencjonowaniem [23–25]. Większość rearanzacji można wykryć pojedynczą parą primerów dla regionów V γ 1-8, J γ 1/2, a pozostałe dzięki starterom V9, V10-11, J2, JP [26, 27]. Z kolei użycie większej ilości primerów zwiększa prawdopodobieństwo wykrycia monoklonalnej populacji limfocytów, a co za tym idzie, zmniejszenie fałszywie ujemnych wyników [28].

Gutzmer i wsp. wykryli 59–72% monoklonalnych rearanzacji u 22 pacjentów z CTCL za pomocą pojedynczej pary starterów do regionu V γ 1-8 i J γ 1/2, w zależności od rodzaju użytej metodyki [29]. Dippel i wsp. wykryli 76% rearanzacji u chorych z zaawansowanym chłoniakiem skóry [30]. Przy użyciu kilku par starterów (*multiplex* PCR) wykrywalność monoklonalności rośnie do 90%. Luo wykazał to w 92% [23], a Vega w 98% przypadków [25]. Vega zidentyfikował sekwencjonowaniem 115 indywidualnych rearanzacji w 60 badanych próbach. W 16 przypadkach (27%) była to rearanzacja monoklonalna, w 2 przypadkach zaobserwowano rearanzację biklonalną. Vega przeprowadził też dla porównania badania metodą konwencjonalną PCR DGGE na 41 przypadkach. W 37 (90%) stwierdzono rearanzację. Użycie metody 4-kolorowej polimerazowej reakcji łańcuchowej (*Four Color PCR*) pozwoliło dowiedzieć, że możliwy jest rozwój chłoniaka z dwóch różnych populacji komórek nowotworowych [25].

W nacieku limfocytarnym znajdują się zarówno komórki nowotworowe, jak i zapalne. Podjęto próbę precyzyjnego określenia lokalizacji nacieku komórek nowotworowych w skórze za pomocą mikromanipulacji [31]. Za pomocą immunofenotypowania wybrano komórki CD4, V β x+ z różnych części skóry, w różnych stadiach *Mycosis fungoides* i przeprowadzono PCR pojedynczych komórek. We wczesnym stadium MF w podnaskórkowym nacieku znaleziono głównie limfocyty poliklonalne, które mogą tworzyć barierę ochronną. W stadiach późniejszych przeważają znacznie limfocyty monoklonalne. Prawdopodobne jest, że przewlekła stymulacja antygenowa może być przyczyną ekspansji komórek nowotworowych. Wiadomo, że ilość komórek reaktywnych CD8+ jest czynnikiem prognostycznym, ponieważ komórki CD8+ niszczą komórki nowotworowe w mechanizmie MCH1 [32, 33]. W tych badaniach znaleziono komórki reaktywne CD4+, które znajdują się częściej w skórze niż w naskórku, mogące brać udział w reakcji przeciwnowotworowej [31].

Podjęto również próbę określenia, czy naciek z komórek nowotworowych w różnych miejscach u jedne-

Tab. 3. Podział kliniczny *Mycosis fungoides* na podstawie klasyfikacji TNM

Stadium	T (tumor)	N (<i>lymph node</i>)	M (<i>metastasis</i>)
IA	rumienie i nacieki <10% powierzchni skóry (T1)	brak limfadenopatii lub zmiany odczynowe w węzłach (N0)	brak (M0)
IB	rumienie i nacieki >10% powierzchni skóry (T2)	brak limfadenopatii lub zmiany odczynowe w węzłach (N0)	brak
II A	T1 lub T2	limfadenopatia bez cech histologicznych (N1)	brak
IIB	guzy (T3)	N0 lub N1	brak
III	erythrodermia (T4)	N0 lub N1	brak
IVA	N1-N4	brak limfadenopatii z cechami histologicznymi chłoniaka (N2) lub limfadenopatia z cechami histologicznymi chłoniaka (N3)	brak
IV B	N1-N4	N0-N3	są obecne (M1)

go pacjenta pochodzi z jednego klonu komórek, jak również czy z upływem czasu u danego chorego występuje ten sam rozrost monoklonalny. Delfau-Laure, wykonując standardowe PCR DGGE, znaleźli identyczny klon w różnych miejscach u jednego pacjenta [34]. *Four colour PCR* jest mniej czułą metodą, ale pozwala wykryć różne klony komórek, dzięki oznaczeniu różnymi kolorami primerów. Badając tą metodą wycinki pobrane w tym samym czasie, ale z różnych miejsc, uzyskano taki sam klon w 65% przypadków, a różne klony komórek w 24%, brak rearanżacji w 11%. Z kolei pobierając biopsję od jednego pacjenta w przedziale czasu, uzyskano taką samą rearanżację w 82% przypadków, różną w 8% i brak rearanżacji w 9%. Obecność różnych klonów prawdopodobnie wynika z wieloletniej, przewlekłej stymulacji różnymi superantygenami. Z kolei obecność innego klonu w późniejszym czasie może być spowodowana zastosowaną terapią, wskutek której następuje eradykacja dominującego klonu i pozostają mniejsze. Rozwój innego klonu może być spowodowany również delecją *locus* TCR dominującego klonu [35].

W prognozowaniu oraz wyborze leczenia ważne miejsce znajduje klasyfikacja TNM, na podstawie której utworzono klasyfikację kliniczną, mającą szerokie zastosowanie (tab. 3.) [36].

Z węzła chłonnego pobiera się biopsję, aby określić stadium zaawansowania choroby lub gdy stwierdza się powiększone węzły chłonne w badaniu fizykalnym. W początkowym zajęciu węzłów chłonnych naciek zajmuje strefę podkorową, potem pojawiają się mniejsze lub większe ogniska atypowych komórek z zachowaną strukturą węzłów, a następnie częściowe lub całkowite zamazanie struktury węzłów chłonnych. Zajęcie węzłów jest ważnym czynnikiem prognostycznym, dlatego też poleca się pobieranie biopsji z kilku węzłów chłonnych

danego regionu. Breneman i wsp. przeprowadzili biopsję 2–3 węzłów chłonnych u 8 pacjentów. U 5 z nich pojedyncze węzły chłonne zostały zakwalifikowane do różnych grup. Różnice w ocenie węzłów chłonnych powodowały, że pacjenci mogli być przyporządkowani do różnych stadiów choroby i różnych grup ryzyka, co ma również wpływ na leczenie [37].

Kontrowersyjną sprawą jest wykrycie komórek Sezarego we krwi u chorych. Wraz z rozwojem choroby komórki nowotworowe są obecne we krwi oraz w narządach wewnętrznych. Wiadomo, że znajdują się one w stadium III i IV, ale wykryto je również u pacjentów w stadium I i II. Przeprowadzając PCR, znaleziono monoklonalne komórki u 35% pacjentów w stadium I i II [38]. Podobne wyniki mieli Muche i wsp. [39]. Zdania co do tego, czy obecność tych komórek we krwi ma znaczenie prognostyczne są podzielone. Beylot-Barry wykryła monoklonalność u 42% chorych na CTCL we wczesnych stadiach choroby i u 74% w późnych stadiach choroby. Taki sam klon był w 15% przypadków w stadium I i II oraz 63% w stadium III i IV. Autorzy twierdzą, że wyjściowy stan kliniczny oraz identyczny klon komórek w skórze i krwi są niezależnym czynnikiem prognostycznym [40]. Muche i wsp. tłumaczą obecność klonalnych komórek we krwi we wczesnych stadiach choroby jako wynik krążenia tych komórek między węzłami chłonnymi a skórą, a wykrycie ich zależy w dużej mierze od czułości zastosowanej metody.

Trudna, jak dotąd, diagnostyka chłoniaków T-komórkowych, dzięki rozwojowi nauk medycznych oraz połączeniu dostępnych metod diagnostycznych, stała się łatwiejsza. Udoskonalanie metodyki molekularnej pozwala nam precyzyjniej określić istotę rozrostu nowotworowego, co wiąże się nowymi możliwościami leczenia tej złożonej grupy chorób.

Piśmiennictwo

1. Willemze R, Kerl H, Sterry W, et al.: EORTC classification for primary cutaneous lymphomas. A proposal from the Cutaneous Lymphoma Study Group of the European Organization for research and Treatment of Cancer. *Blood* 1997, 90: 354-71.
2. Weinstock MA, Horm JW: Mycosis fungoides in the United States. Increasing incidence and descriptive epidemiology. *JAMA* 1988, 260 (1): 42-6.
3. Tuyp E, Burgoyne A, Aitchison T, et al.: A case control of possible causative factors in mycosis fungoides. *Arch Dermatol* 1987, 123: 196-200.
4. Kikuchi A, Nishikawa T, Ikeda Y, et al.: Absence of human T-lymphotropic virus type I in Japanese patients with cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 1997, 89: 1529-32.
5. Wood GS, Schaffer JM, Boni R, et al.: No evidence of HTLV-I proviral integration in lymphoproliferative disorders associated with cutaneous T-cell lymphoma. *Am J Pathol* 1997, 150: 667-73.
6. Sander CA, Simon M, Puchta U, et al.: HHV-8 in lymphoproliferative lesions in skin. *Lancet* 1996, 348: 475-6.
7. Schneider BF, Christian M, Hess CE, et al.: Familial occurrence of cutaneous T-cell lymphoma: A case report of monozygotic twin sisters. *Leucemia* 1995, 9: 1979-81.
8. Thangavelu M, Finn WG, Yelevarthi KK, et al.: Recurring structural chromosome abnormalities in peripheral blood lymphocytes of patients with mycosis fungoides/Sezary syndrome. *Blood* 1997, 89: 3371-7.
9. Nedoszytko B, Roszkiewicz J, Wasik A, et al.: Chromosomal aberrations in Mycosis fungoides and Sezary syndrome patients. The 11th Congress of the EADV, Prague 2002.
10. Scarisbrick J, Woolford E, Colonje E, et al.: Frequent abnormalities of P15 and P16 genes in MF and Sezary Syndrome. *J Invest Dermatol* 2002, 118: 348-52.
11. Rook AH, Heald P: The immunopathogenesis of cutaneous T-cell lymphoma. *Hematol Oncol Clin North AM* 1995, 9: 997-1010.
12. Koh HK, Charif M, Weinstock MA: Epidemiology and clinical manifestations of cutaneous T-cell lymphoma. *Hematol Oncol Clin North AM* 1995, 9: 943-60.
13. Buechner SA, Winkelmann RK: Sezary syndrome: A clinicopathologic study of 39 cases. *Arch Dermatol* 1983, 119: 979-86.
14. Wieselthier JS, Koh HK: Sezary Syndrome: Diagnosis, prognosis and critical review of treatment options. *J Am Acad Dermatol* 1990, 22: 381-401.
15. Kowichi J, Kazuo M, Yoshiko I: Heterogeneity of Cutaneous T-cell Lymphoma. *Cancer* 1985, 56: 2458-69.
16. McNutt MS, Crain WR: Quantitative electron microscope comparison of lymphocyte nuclear contours in mycosis fungoides and benign infiltrates in the skin. *Cancer* 1981, 47: 698-709.
17. Iwahara K, Hashimoto K: T-Cell Subsets and NCI of skin-infiltrating in CTCL. *Cancer* 1984, 54: 440-6.
18. Duncan KO, Heald PW: T-cell technology in the diagnosis and management of cutaneous T-cell lymphoma. *Comp Ther* 1998, 24: 117-22.
19. Ormsby A, Bergfeld WF, Tubbs RR, et al.: Evaluation of a new paraffin- reactive CD7 T-cell deletion marker and a polymerase chain reaction-based T-cell receptor gene rearrangement assay: implications for diagnosis of mycosis fungoides in community clinical practice. *J Am Acad Dermatol* 2001, 45: 405-13.
20. Diamodidou E, Cohen PR, Kurzock R: Mycosis Fungoides and Sezary syndrome. *Blood* 1996, 88: 2385-409.
21. Tok J, Szabolcs MJ, Silvers DN, et al.: Detection of clonal T-cell receptor gamma chain gene rearrangements by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis (PCR/DGGE) in archival specimens from patients with early cutaneous T-cell lymphoma: correlation of histologic findings with PCR/DGGE. *J Am Acad Dermatol* 1998, 38 (3): 453-60.
22. Toro JR, Liewehr DJ, Pabby N, et al.: Gamma-delta T-cell phenotype is associated with significantly decreased survival in cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 2003, 101 (9): 3407-12.
23. Arber D, Brazier R, Bagg A, et al.: Evaluation of T-cell receptor testing in lymphoid neoplasms: results of a multicenter study of 29 extracted DNA and paraffin-embedded samples. *J Mol Diagn* 2001, 3 (4): 133-40.
24. Luo V, Lessin SR, Wilson RB, et al.: Detection of clonal T-cell receptor gamma gene rearrangements using fluorescent-based PCR and automated high-resolution capillary electrophoresis. *Mol Diagn* 2001, 6 (3): 169-79.
25. Assaf Ch, Hummel M, Dippel E, et al. High detection rate of T-cell receptor beta chain rearrangements in T-cell lymphoproliferations by family specific polymerase chain reaction in combination with the GeneScan technique and DNA sequencing. *Blood* 2000, 96: 640-6.
26. Vega F, Medeiros LJ, Jones D, et al.: A novel four-color PCR assay to assess T-cell receptor gamma gene rearrangements in lymphoproliferative lesions. *Am J Clin Pathol* 2001, 116 (1): 17-24.
27. Theodorou I, Raphael M, Lutz C, et al.: Recombination pattern of the TCR (locus in human peripheral T-cell lymphomas. *J Pathol* 1994, 174: 233-42.
28. Fodinger M, Buchmayer H, Schwarzinger I, et al.: Multiplex PCR for rapid detection of T-cell receptor - (chain gene rearrangements in patients with lymphoproliferative diseases. *Br J Haematol* 1996, 94: 136-9.
29. Lawnicki LC, Rubocki RJ, Chan WC, et al.: The distribution of gene segments in T-cell receptor (gene rearrangements demonstrates the need for multiple primer sets, *J Mol Diagn* 2003, 5: 82-7.
30. Gutzmer R, Mommert S, Kiehl P, et al.: Detection of clonal T cell receptor gamma gene rearrangements in cutaneous T cell lymphoma by LightCycler-polymerase chain reaction. *J Invest Dermatol* 2001, 116 (6): 926-32.
31. Dippel E, Asstaf C, Hummel M, et al.: Clonal T-cell receptor gamma-chain gene rearrangement by PCR-based GeneScan analysis in advanced cutaneous T-cell lymphoma: a critical evaluation. *J Pathol* 1999, 188 (2): 146-54.
32. Gellrich S, Lukowsky A, Schiling T, et al.: Microanatomical Compartments of clonal and Reactive T-cell in Mycosis Fungoides: Molecular Demonstration by Single Cell Polymerase Chain Reaction of T-cell Receptor Gene Rearrangements. *J Invest Dermatol* 2000, 115: 620-4.
33. Berger CL, Wang N, Christensen I: The immune response to class I-associated tumor specific cutaneous T-cell lymphoma. *J Invest Dermatol* 1996, 107: 392-7.
34. Hoppe RT, Medeiros J, Warnke RA, et al.: CD - 8-Positive tumor - infiltrating lymphocytes influence the long term survival of patients with mycosis fungoides. *J Am Acad Dermatol* 1995, 32: 448-54.
35. Delfau-Larue MH, Petrella T, Lahet C, et al.: Value of clonality studies of cutaneous T lymphocytes in the diagnosis and follow-up of patients with mycosis fungoides. *J Pathol* 1998, 184 (2): 185-90.
36. Vega F, Luthra R, Medeiros LJ, et al.: Clonal heterogeneity in mycosis fungoides and its relationship to clinical course. *Blood* 2002, 100 (9): 3369-73.
37. Sausville EA, Eddy JL, Makuch RW, et al.: Histopathologic staging at initial diagnosis of mycosis fungoides and the Sezary syndrome. *Ann Intern Med* 1988, 109 (5): 372-82.
38. Breneman DL, Raju US, Breneman JC, et al.: Lymph node grading for staging of mycosis fungoides may benefit from examination of multiple excised lymph nodes. *J Am Acad Dermatol* 2003, 48 (5): 702-6.
39. Laetsch B, Haffner AC, Dobbeling U, et al.: CD4+/CD7 - T-cell frequency and polymerase chain reaction-based clonality assay correlate with stage in cutaneous T-cell lymphomas. *J Invest Dermatol* 2000, 114 (1): 107-11.
40. Mucic M, Lukowsky A, Anhudte, et al.: Peripheral Blood T-cell Clonality in Mycosis fungoides - An Independent Prognostic Marker. *J Invest Dermatol* 2000, 115 (3): 504-5.
41. Beylot-Barry M, Sibaud V, Thiebaut R, et al.: Evidence that an identical T cell clone in skin and peripheral blood lymphocytes is an independent prognostic factor in primary cutaneous T cell lymphomas. *J Invest Dermatol* 2001, 117 (4): 920-6.