

Diagnostyka genetyczna chłoniaków T-komórkowych pierwotnie wywodzących się ze skóry

Część II: Znaczenie aberracji chromosomowych w diagnostyce i patogenezie chłoniaków T-komórkowych skóry

The genetic diagnostics of primary cutaneous T-cell lymphomas

Part II: The role of chromosomal aberrations in diagnostics and pathogenesis of primary cutaneous T-cell lymphomas

Bogusław Nedoszytko, Małgorzata Sokołowska-Wojdyło, Monika Zabłotna, Jolanta Gleń, Jadwiga Roszkiewicz

Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Akademii Medycznej w Gdańsku, kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. n. med. Jadwiga Roszkiewicz

Post Dermatol Alergol 2007; XXIV, 4: 157–164

Streszczenie

Chłoniaki T-komórkowe, wywodzące się pierwotnie ze skóry (ang. *cutaneous T-cell lymphoma* – CTCL), stanowią niejednorodną grupę nowotworów, z których najczęstszymi są ziarniniak grzybiasty (ang. MF – *mycosis fungoides*) i zespół Sezary’ego (ang. *Sezary syndrome* – SS). Etiologia CTCL pozostaje ciągle nieznaną. Do prawdopodobnych czynników etiologicznych zalicza się przewlekłą stymulację antygenową związaną z ekspozycją na różne związki chemiczne, infekcje bakteryjne i wirusowe, palenie papierosów oraz przewlekłą ekspozycję na światło. Prowadzą one do powstania mutacji genowych i chromosomowych, które przyczyniają się do wytworzenia komórek o fenotypie niestabilności genomowej. Opublikowane do tej pory wyniki badań cytogenetycznych w CTCL dotyczą najczęściej przypadków MF/SS. Dotychczas nie została wykryta swoista, powtarzalna aberracja chromosomowa. Karyotyp badanych chłoniaków jest najczęściej złożony, z obecnością licznych aberracji strukturalnych i liczbowych. Aberracje chromosomowe przeważnie występują w zaawansowanych klinicznie stadiach CTCL, a ich wykrycie poprzedza progresję choroby. Najczęściej zauważanymi zmianami są aberracje prowadzące do utraty materiału genetycznego chromosomów 1p, 2p, 6q, 9p, 10q i 12q, 13q i 17p, co wiąże się z utratą zlokalizowanych w tych regionach genów supresorowych, takich jak CDKN2A, PTEN, RB1, TP53 i nowo odkrytego genu NAV3. Obserwowane w komórkach CTCL mutacje mogą prowadzić także do aktywacji onkogenów, mutacji czynników transkrypcyjnych, zaburzenia regulacji cyklu komórkowego, zaburzeń procesów naprawy DNA oraz procesu apoptozy.

Słowa kluczowe: CTCL, TCR, aberracje chromosomowe, klon, rozrost monoklonalny.

Abstract

Primary cutaneous T-cell lymphomas (CTCL) are a heterogeneous group of neoplasms, from which mycosis fungoides (MF) and Sezary syndrome (SS) are the most frequently observed. The aetiology of CTCL is still unknown. The most probable factors involved in CTCL pathogenesis are chronic response to antigens (chemicals, viruses, bacteria), smoking and chronic exposure to UV causing gene and chromosome mutations and consequently establishing genomic instability phenotype. Cases of MF/SS diagnosis dominate among published results of cytogenetic analysis of CTCL. Chromosomal aberrations are observed mostly in advanced stages of disease and precede disease progression. No specific, recurrent chromosomal aberrations were found for this type of neoplasms. The karyotypes of examined lymphomas are mostly complex with many different structural and numerical aberrations. The most frequently observed changes are loss of genetic material of chromosomes 1p, 2p, 6q, 9p, 10q, 12q, 13q and 17p, which result in loss of several tumor suppressor genes located in these regions like CDKN2A (9p), PTEN (10q),

Adres do korespondencji: dr n. med. Bogusław Nedoszytko, Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Akademii Medycznej w Gdańsku, ul. Dębinki 7, 80-211 Gdańsk

RB1 (13q), TP53 (17p) and newly described gene NAV3 (12q). It was described that chromosomal aberrations may cause many other molecular changes like oncogene activation, transcription factor dysregulation, cell cycle aberration, DNA reparation and apoptosis process dysregulation.

Key words: CTCL, TCR, chromosomal aberrations, clone, monoclonal proliferation.

Chłoniaki T-komórkowe, wywodzące się pierwotnie ze skóry (ang. *cutaneous T-cell lymphoma* – CTCL), są grupą nowotworów należących do pozawęzłowych chłoniaków *non-Hodgkin lymphoma* (NHL). Zgodnie z klasyfikacją WHO/EORTC z 2005 r. CTCL zalicza się do nowotworów wywodzących się z dojrzałych komórek T o charakterze pamięci, najczęściej CD4+, subpopulacji limfocytów T-pomocniczych. Rzadziej powstają z komórek T-cytotoksycznych CD8 (+) lub jednocześnie z komórek T i NK. Najczęściej występującymi grupami CTCL są ziarniniak grzybiasty (ang. *mycosis fungoides* – MF) i jego odmiany, zespół Sezary’ego (ang. *Sezary syndrome* – SS) oraz rozrosty limfoproliferacyjne z komórek CD30+, które łącznie stanowią ok. 90% wszystkich CTCL [1, 2].

Etiologia CTCL pozostaje nieznana. Uważa się, że w patogenezie tych nowotworów ważne są podatność osobnicza i działanie czynników środowiskowych, do których zalicza się przewlekłą stymulację antygenową związaną z ekspozycją na różne związki chemiczne (herbicydy, rozpuszczalniki organiczne), infekcje bakteryjne i wirusowe (EBV, HTLV, borelioza), palenie papierosów oraz przewlekłą ekspozycję na światło. Efektem ich działania są mutacje genowe i/lub chromosomowe prowadzące do transformacji komórki limfoidalnej w komórkę nowotworową i wytworzenia w niej stanu niestabilności genetycznej. Niestabilność ta prowadzi do powstawania kolejnych mutacji, generujących zmienność komórek nowotworu, prowadzących do klonalnej ewolucji guza i jego złośliwienia. W przypadku niektórych pacjentów niestabilność genetyczna może być wywołana także czynnikami endogennymi, takimi jak wrodzone defekty immunologiczne (zespół Wiskott-Aldricha, ataksja, teleangiectazja, agammaglobulinemia, choroby autoimmunologiczne). Pomimo znacznego postępu prac nad wyjaśnieniem patogenezy CTCL nadal mało wiadomo o podłożu molekularnym tych nowotworów, jak i o zmianach genetycznych w nich zachodzących [1–6].

Badania cytogenetyczne w CTCL

Obecność aberracji chromosomowych jest jedną z cech komórek nowotworowych, która pozwala na ich odróżnienie od komórek prawidłowych. Za twórcę cytogenetyki nowotworów uważa się niemieckiego embriologa Teodora Boveriego, który w 1914 r. sformułował chromosomową teorię powstawania nowotworów. Zgodnie z nią transformacja komórki prawidłowej w nowotworową zachodzi w wyniku nieprawidłowości podziału jądra komórkowego, prowadzących do zmniejszenia lub zwiększenia liczby kopii chromosomów w komórkach potomnych. Pierwszym dowodem słuszności było wykrycie

w 1960 r. przez Howella i Hungerforda w przewlekłej białaczce szpikowej swoistej, powtarzalnej aberracji tzw. chromosomu filadelfijskiego, powstałego w wyniku translokacji t(9;22), w wyniku której dochodzi do aktywacji onkogenu ABL, co jest uważane za pierwotną przyczynę powstawania tego nowotworu [3, 4].

Intensywny rozwój metod hodowli komórek nowotworowych oraz opracowanie nowych metod analizy zmian chromosomowych, takich jak porównawcza hybrydyzacja genomowa (ang. *comparative genomic hybridisation* – CGH), metoda hybrydyzacji *in situ* z zastosowaniem wielu barwników fluorescencyjnych (metoda m-FISH), spektralnego kariotypowania (ang. *spectral karyotyping* – SKY) czy metody badające profil ekspresji wielu genów (technika mikromacierzy, *microarrays*) oraz *real time PCR*, doprowadziły do znacznego postępu w dziedzinie cytogenetyki nowotworów. Do tej pory zbadano aberracje chromosomowe w ponad 30 tys. nowotworów [3–5, 7].

Podstawowym osiągnięciem cytogenetyki nowotworów jest wykrycie w wielu różnych typach nowotworów powtarzalnych aberracji strukturalnych lub liczbowych, które wydają się mieć zasadnicze znaczenie w patogenezie nowotworu. Są one pomocne zarówno w ich diagnostyce, prognozowaniu, jak i śledzeniu progresji klinicznej [3, 4, 7]. Do takich zmian można zaliczyć translokację t(X;18) w maziowczaku złośliwym (łac. *sarcoma synoviale*), t(12;22)(q13;q12) w mięsaku jasnokomórkowym, t(12;16)(q13;p11) w tłuszczakomięsaku (łac. *liposarcoma myxoides*) czy trisomię chromosomu 12, obserwowaną w łagodnych nowotworach jajnika (łac. *thecoma*) i przewlekłej białaczce limfocytarnej B-komórkowej [3–5, 7–12].

Aberracje chromosomowe w nowotworach dzieli się na pierwotne i wtórne. Aberracje pierwotne są często jedyną zmianą obserwowaną w komórkach nowotworu i mają podstawowe znaczenie w jego patogenezie. Aberracje wtórne to wynik niestabilności genetycznej komórek nowotworu. Generują zmienność i prowadzą do klonalnej ewolucji nowotworu. Na podstawie analizy zaburzeń genetycznych w różnych nowotworach, Sandberg [4] zaproponował 3 drogi prowadzące do powstania nowotworu:

- 1) pierwotną przyczyną powstania nowotworu jest mutacja genowa, a mutacje chromosomowe wykrywa się w późniejszych etapach rozwoju nowotworu;
- 2) do powstania nowotworu potrzeba 2 kolejnych mutacji – genowej i chromosomowej;
- 3) pierwotną przyczyną powstania nowotworu jest mutacja chromosomowa.

W opublikowanych do tej pory pracach wykazano, iż aberracje chromosomowe mogą prowadzić do wielu róż-

norodnych zaburzeń w funkcjonowaniu komórek. Skutkiem ich mogą być:

- aktywacja protoonkogenów i przekształcenie ich w onkogeny, co powoduje niekontrolowaną proliferację komórek nowotworowych;
- inaktywacja lub utrata genów supresorowych, co prowadzi do zwiększenia tempa proliferacji komórek nowotworowych;
- inaktywacja genów związanych z procesami apoptozy, co przedłuża czas życia komórek nowotworowych;
- mutacja genów związanych z procesami naprawy DNA, co skutkuje niestabilnością genetyczną komórek i powstawaniem wtórnych mutacji zwiększających zdolności adaptacyjne komórek nowotworowych;
- mutacja genów kodujących czynniki transkrypcyjne, czego efektem jest wzrost ekspresji genów podlegających ich regulacji [3–5, 7].

W przypadku chłoniaków opisano dotychczas wyniki analizy cytogenetycznej ponad 2 tys. nowotworów. Wykryto kilkadziesiąt swoistych, powtarzalnych aberracji chromosomowych, charakterystycznych dla różnych typów chłoniaków. Do najbardziej znanych należą translokacje t(8;14), t(2;8) i t(8;22) w chłoniaku Burkitta, których efektem jest aktywacja onkogeny c-MYC, t(14;18) w chłoniaku centroblastyczno-centrocytarnym prowadząca do podwyższonej ekspresji genu BCL-2, którego produkt hamuje apoptozę, czy t(11;14) w chłoniaku z komórek płaszczka (ang. *mantle cell lymphoma*), powodująca zaburzenia regulacji cyklu komórkowego przez nadmierną ekspresję genu BCL-1 kodującego cyklinę D1 [4, 7, 8, 13].

Badania cytogenetyczne chłoniaków pierwotnie wywodzących się ze skóry są stosunkowo nieliczne i dotyczą przede wszystkim przypadków ziarniniaka grzybiastego,

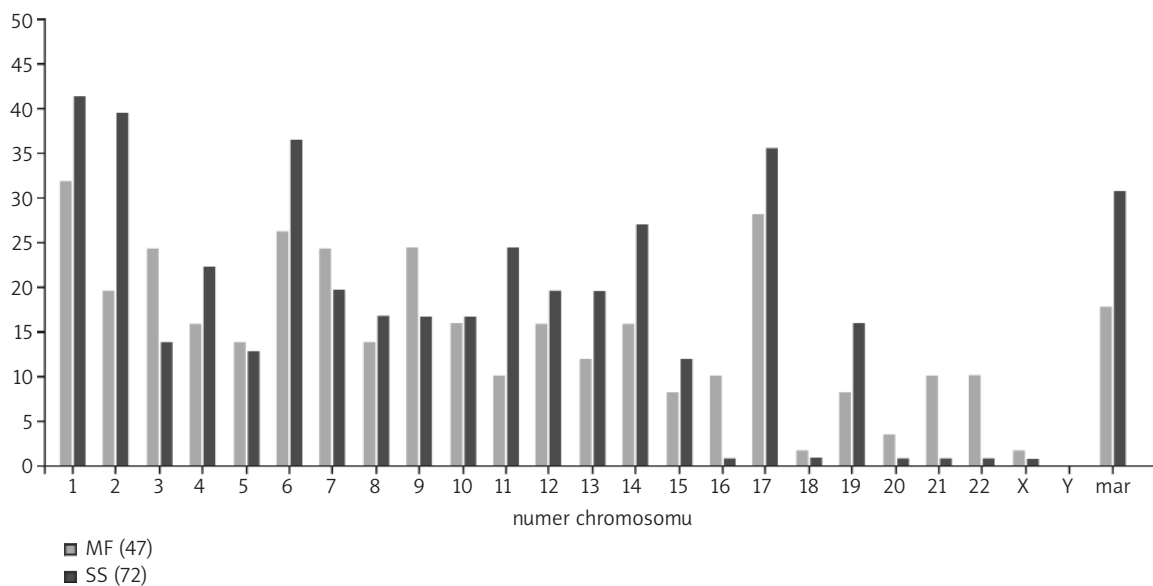
zespołu Sezary'ego i rozrostów limfoproliferacyjnych z komórek T CD30+.

Aberracje chromosomowe w ziarniniaku grzybiastym (MF) i zespole Sezary'ego (SS)

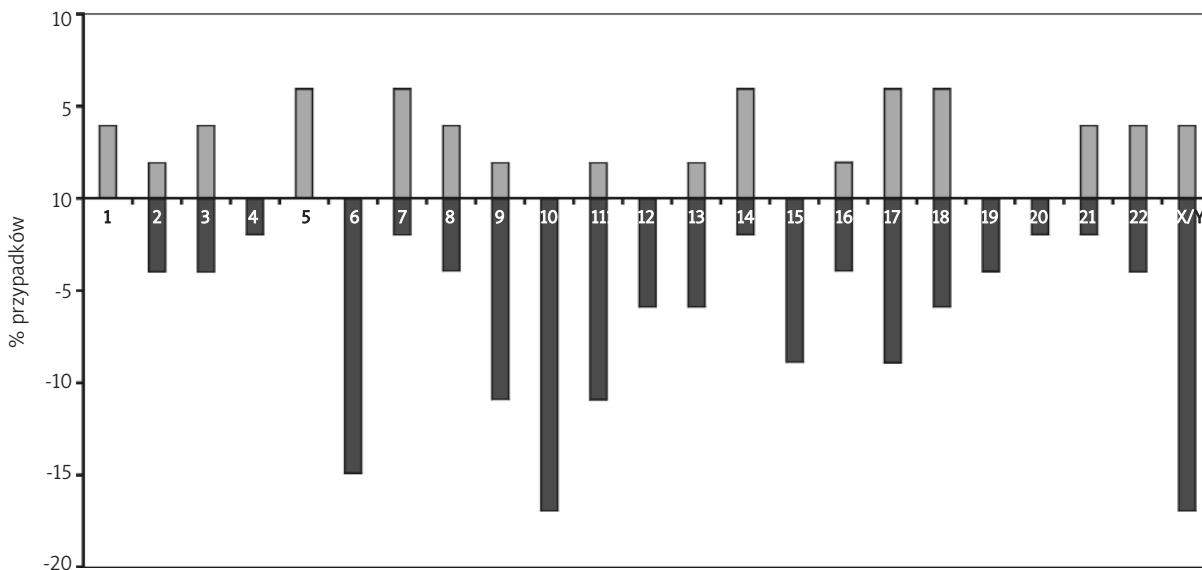
Badania cytogenetyczne MF/SS wiążą się z wieloma trudnościami, spowodowanymi słabą proliferacją komórek tego nowotworu *in vitro*, dlatego też jest on ciągle stosunkowo słabo poznany. W opublikowanych do tej pory ponad 100 przypadkach MF/SS z aberracjami chromosomowymi obserwowano najczęściej złożone kariotypy, z obecnością różnych aberracji chromosomowych liczbowych i strukturalnych. Dotychczas nie udało się zidentyfikować swoistej dla nich, powtarzalnej aberracji chromosomowej [6, 13–24].

Przeprowadzone do tej pory badania cytogenetyczne w CTCL doprowadziły do odkrycia, iż identyczne aberracje chromosomowe występują w limfocytach krwi obwodowej, komórkach skóry i węzłach chłonnych, co potwierdza monoklonalne pochodzenie tych nowotworów. Stwierdzono, iż stopień złożoności aberracji chromosomowych koreluje ze stopniem klinicznym nowotworu. U chorych z MF we wczesnym stadium klinicznym występują najczęściej pojedyncze zmiany liczbowe chromosomów (trisomie, monosomie), natomiast kariotyp pacjentów z SS jest bardziej złożony i związany z obecnością licznych aberracji strukturalnych i liczbowych. Wykazano także, iż aberracje chromosomowe wykrywa się również w przyłuszczycy (łac. *parapsoriasis*) – chorobie, która może poprzedzać MF [16–18, 25].

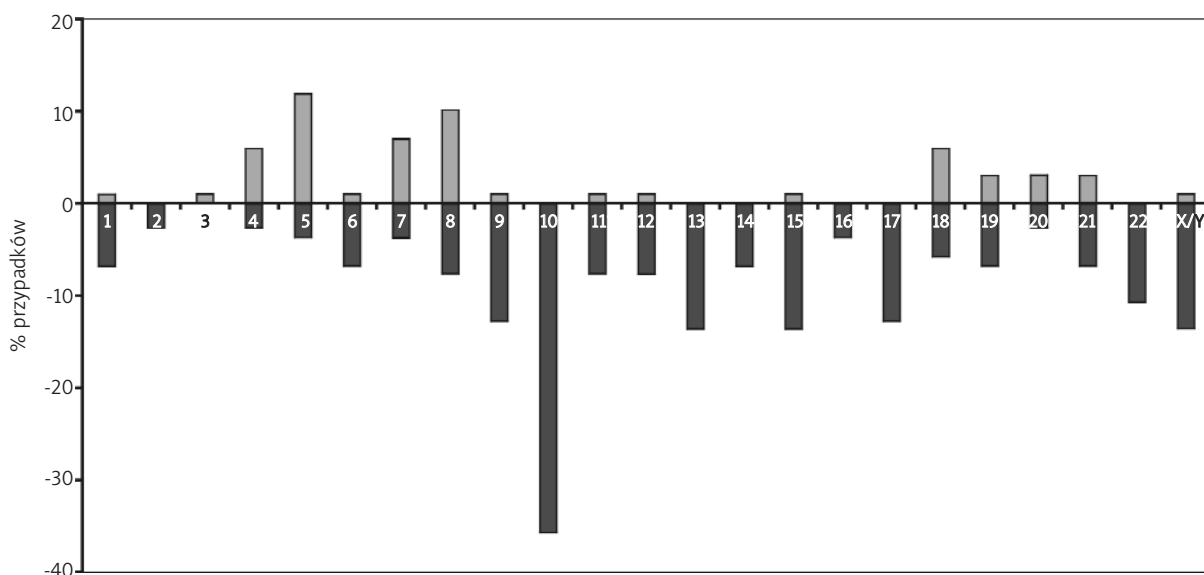
Najczęściej spotykane aberracje chromosomowe w opublikowanych przypadkach ziarniniaka grzybiastego oraz w zespole Sezary'ego przedstawiono na ryc. 1.–3. [7, 14–23, 25].



Ryc. 1. Częstość aberracji strukturalnych w opisanych przypadkach MF i SS [3–5, 7, 13–25]



Ryc. 2. Częstość liczbowych aberracji chromosomowych w opisanych przypadkach *mycosis fungoides* (N=47) [3–5, 7, 13–25]



Ryc. 3. Częstość liczbowych aberracji chromosomowych w opisanych przypadkach zespołu Sezary'ego (N=72) [3–5, 7, 13–25]

Komórki opisanych przypadków MF/SS miały najczęściej okotodiploidalną liczbę chromosomów, jednak w części przypadków obserwowano komórki poliploidalne. Poliploidyzacja wiąże się czasami z transformacją MF w bardziej złośliwą postać chłoniaka wielkomórkowego, rozwojem guzów i zajęciem węzłów chłonnych [20, 21, 25].

W obu zespołach najczęściej obserwowano aberracje strukturalne chromosomów 1, 6 i 17 oraz występowanie chromosomów markerowych niezidentyfikowanego pochodzenia (ryc. 1). W SS częściej niż w MF

występują aberracje strukturalne chromosomów 2, 6, 11 i 14, podczas gdy aberracje chromosomów 3 i 9 częściej występują w MF. Powtarzalnymi aberracjami były delecja 6q (z miejscami pęknięć w 6q21, 6q23), 9p (z miejscami pęknięć w 9p21, 9p23), 13q i izochromosom i(17q).

W przypadku aberracji liczbowych w obu nowotworach najczęściej dochodzi do utraty chromosomu 9, 10, 13, 15, 17, 22 oraz chromosomów płciowych (ryc. 2.–3.). Dodatkowo w przypadku MF często obserwowano utraty

chromosomów 6 i 11. Chromosomami, których liczba kopii ulegała zwielokrotnieniu, były 7 i 8 w SS, a w przypadku MF dodatkowo także 5, 14, 17 i 18. Trisomia chromosomów 7 i 8 oraz utrata chromosomów płciowych była niekiedy jedyną obserwowaną zmianą w kariotypie badanych guzów. W wyniku aberracji chromosomowych dochodziło najczęściej do utraty materiału genetycznego chromosomów 10/10q, 2/2p, 9/9p, 6/6q, 13/13q, 17/17p i wzrostu liczby kopii chromosomów 8/8q, 7, 17q.

W wielu pracach udowodniono, iż aberracje chromosomowe – obserwowane w MF/SS – prowadzą do utraty genów supresorowych, aktywacji onkogenów, mutacji czynników transkrypcyjnych, zaburzenia regulacji cyklu komórkowego, procesów naprawy DNA oraz procesu apoptozy [23, 24, 26–38].

W komórkach MF/SS obserwowano mutacje następujących genów supresorowych TP53 (17p13), CDKN2A (9p13), PTEN (10q23.3), RB (13q14) [25–33]. Mutacje genu TP53 i PTEN wykrywa się w zaawansowanych stadiach MF, natomiast spadek ekspresji genu CDKN2A spowodowany mutacją lub zwiększoną metylacją promotora genu obserwuje się zarówno we wczesnych, jak i zaawansowanych stadiach CTCL. Dlatego też uważa się, że mutacje CDKN2A są wczesnymi zdarzeniami w patogenezie CTCL, natomiast mutacje genów TP53 i PTEN należy wiązać z fazą późną prowadzącą do progresji nowotworu [24, 26–32].

Badania MF/SS przeprowadzone przez Karenko i wsp. [20] wykazały dużą częstość aberracji zarówno strukturalnych, jak i liczbowych z udziałem chromosomu 12. W cytowanej pracy wykazano, iż te zmiany prowadzą do zaburzenia funkcji nowo odkrytego genu supresorowego NAV3. Gen NAV3 (POMFIL1) jest jednym z trzech homologów genu *unc-53*, który u nicienia *Cenorabditis elegant* odpowiada za rozwój neuronów. Funkcja genu NAV3 u człowieka nie jest do końca poznana. Istnieją dane wskazujące, iż odpowiada on za procesy replikacji DNA i jest jednym z genów supresorowych odpowiedzialnych za powstawanie nowotworów. Przy zastosowaniu sond molekularnych identyfikujących gen NAV3 wykazano utratę genu NAV3 w komórkach pochodzących ze skóry i węzła chłonnego pacjenta z delecją chromosomu 12. Wykazano także, że aberracje tego genu występowały w zmianach skórnych u 50% chorych z wczesnym stadium ziarniniaka grzybiastego i u 85% chorych z zaawansowaną postacią tego chłoniaka oraz w tym samym procencie przypadków u chorych z zespołem Sezary’ego, podczas gdy nie występowały one u pacjentów z atopowym zapaleniem skóry (ryc. 4.). Utrata jednego allele tego genu jest już wystarczająca, aby zaburzyć jego funkcję i może prowadzić do rozwoju nowotworu [19].

Ostatnie badania Ranki i wsp. [38] wykazały, iż wyłączenie genu NAV3 za pomocą metody *silencing RNA* (siRNA), w której wprowadzony do komórek RNA komplementarny do genu hamuje ekspresję genu, spowodowało obniżenie ekspresji interleukiny 2 (IL-2), która odgrywa krytyczną rolę w polaryzacji limfocytów T w kierunku Th2.

W badaniach Hahtola i wsp. [37], stosując technikę mikromacierzy (ang. *microarrays*) oraz *real time PCR*, zbadano profil ekspresji 22 tys. genów w limfocytach krwi obwodowej pochodzących od 17 pacjentów z ziarniniakiem grzybiastym i zespołem Sezary’ego. W porównaniu z kontrolną grupą osób zdrowych, u chorych z MF i SS wykazano znaczące obniżenie ekspresji genów specyficznych dla limfocytów Th1 (TBX21, NKG7, RANTES) oraz wzrost aktywności genów odgrywających rolę w polaryzacji limfocytów T w kierunku Th2 (S100P, LIR9). Wykazano także, iż ekspresja niektórych genów ulega zmniejszeniu przy zastosowaniu terapii efektywnej (geny S100, CCR10, BCL2, VAV3, GZMB).

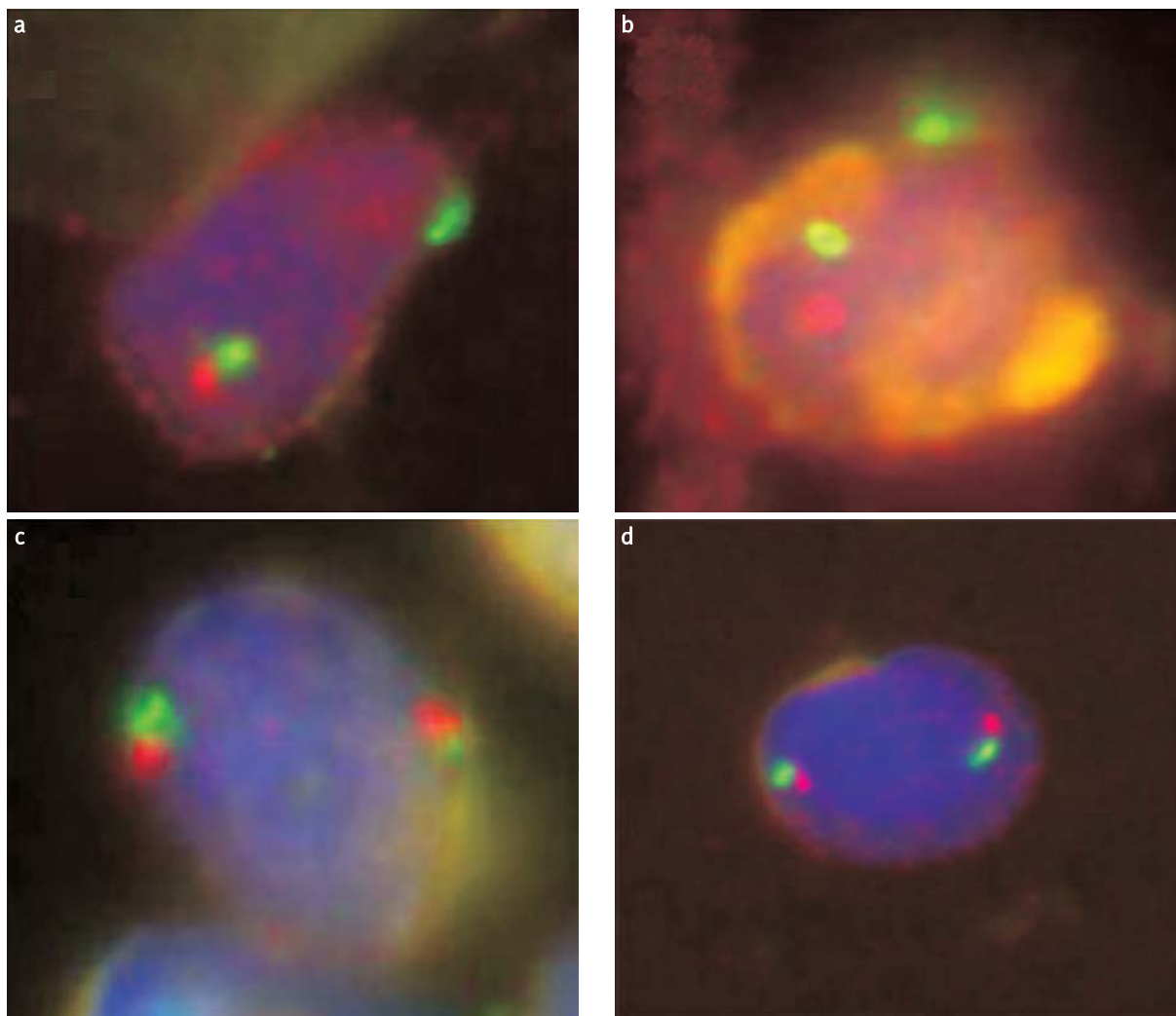
W wielu pracach korelowano występowanie aberracji chromosomowych ze stadium klinicznym nowotworu. Wykazano, iż znacznie krótszy czas przeżycia mają chorzy z SS, u których wykryto aberracje strukturalne chromosomów, złożony kariotyp i obecność monosomii chromosomu 10, niż chorzy bez aberracji chromosomowych, z obecnością pojedynczych mutacji chromosomowych i brakiem monosomii chromosomu 10 [18, 22]. Badania cytogenetyczne, wykonane u tego samego pacjenta w różnych okresach choroby, wykazały, iż progresja nowotworu wiąże się z pojawianiem się złożonych aberracji chromosomowych z udziałem chromosomów 17 i 8 [17].

W badaniach Fischer i wsp. [24] wykazano skrócenie czasu przeżycia u pacjentów ze wzrostem liczby kopii chromosomów 7q i 8q oraz z utratą materiału genetycznego 6q, 10q, 13q i 17p. Jedną z cech zaawansowanych stadiów CTCL jest niestabilność genetyczna komórek charakteryzująca się występowaniem wielu klonów komórkowych, wzrostem częstości wymian chromatyd siostrzanych (SCE) w limfocytach krwi obwodowej oraz niestabilnością mikrosatelitarnego DNA, co sugeruje, iż progresja nowotworu wiąże się z nabywaniem fenotypu mutatorowego, powstającego w wyniku zaburzenia mechanizmów naprawy DNA i prowadzącego do wzrostu liczby mutacji w komórkach nowotworu [10, 33].

Skóra ziarniniakowa wiotka (ang. *granulomatous slack skin*) jest rzadkim schorzeniem skóry, będącym podtypem MF, który charakteryzuje się utratą włókien elastycznych skóry i naciekami olbrzymich komórek zawierających liczne jądra komórkowe. W 2 analizowanych cytogenetycznie przypadkach tego schorzenia obserwowano trisomię chromosomu 8 jako jedyną aberrację chromosomową w kariotypie [39, 40].

Aberracje chromosomowe w rozrostach limfoproliferacyjnych z komórek T CD30+

Spektrum tych nowotworów obejmuje anaplastycznego chłoniaka wielkokomórkowego (ang. *cutaneous anaplastic large cell lymphoma* – C-ALCL), *lymphomatoid papulosis* (LyP) i odmiany z pogranicza – tzw. *borderline*, w których kryteria nie pozwalają jednoznacznie zakwalifikować do odpowiedniej grupy.



Ryc. 4. Technika FISH (*fluorescence in situ hybridisation*) – jądra komórkowe wybarwione 2 sondami identyfikującymi centromer chromosomu 12 (zielona) i region zawierający gen NAV3 (czerwona). W jądrach komórkowych od pacjenta z SS (a, b) wykryto delecję genu NAV3 [16]

Chłoniaki wielkokomórkowe z komórek T CD30+, które pierwotnie powstają w innych organach niż skóra (węzły chłonne, przewód pokarmowy, płuca), charakteryzuje obecność swoistej translokacji t(2;5)(p23;q35) i wykrywa się ją w 40–60% tych nowotworów. Translokacja prowadzi do powstania genu fuzyjnego powstałego z połączenia genu ALK (*locus* 2p23 to gen kodujący białko błony komórkowej, receptor kinazy tyrozynowej), który nie wykazuje ekspresji w normalnych komórkach limfoidalnych, z genem NPM (*locus* 5q35 – koduje białko jąderka: nukleofozminę, związaną z powstawaniem rybosomów). Fuzyjny gen ALK/NPM koduje białko p80 o stałej ekspresji w komórkach nowotworowych, w odróżnieniu od prawidłowych białek, i jest obecny zarówno w cytoplazmie, jak i jądrze komórkowym o konstytutywnej aktywności kinazy tyrozynowej [3–5, 7, 13].

W odróżnieniu od chłoniaków o pochodzeniu pozaskórnym, translokację t(2;5) bardzo rzadko spotyka się w pierwotnie skórnych rozrostach z komórek T CD30+. Może być to pomocne w ich różnicowaniu z pozaskórnymi ALCL, w przypadku których czasami wtórnie dochodzi do zajęcia skóry. Brak ekspresji prawidłowego białka ALK i obecność translokacji w wycinku skórnym może wskazywać na pozaskórne pochodzenie nowotworu [2, 41–45].

Badania Mao i wsp. [45] wykazały, iż w komórkach C-ALCL występują aberracje prowadzące do wzrostu liczby kopii chromosomu 1/1p, 5, 6, 7, 8/8p i 19. Obserwowano wzrost liczby kopii onkogenów FGFR1 (8p11), NRAS (1p13.2), MYCN (2p24.1), RAF1 (3p25), CTSB (8p22), FES (15q26.1) i CBFA2 (21q22.3). Za pomocą metody *real-time PCR* potwierdzono w komórkach tych chłoniaków wzrost ekspresji onkogeny CTSB i MYCN oraz dodatkowo onko-

geny REL (2p13p12), JUNB (19p13.2) i YES1 (18p11.3). Badania te wskazują na złożoność zmian genetycznych w C-ALCL, zaangażowanie wielu różnych onkogenów w patogenezie tego nowotworu, jednak poznanie ich znaczenia wymaga dalszych badań.

Badania cytogenetyczne *Lymphomatoid papulosis* należą do rzadkości. W przypadku opisanym przez Peters i wsp. [46] obserwowano kariotyp z trisomią chromosomu 7, del(10)(q24), add(12)(p13) i obecnością chromosomu markerowego. W przypadkach Ly, które ulegały przemianom w MF, stwierdzano za pomocą metod molekularnych występowanie w obu stadiach choroby tych samych klonów komórkowych, co sugeruje, iż obie klinicznie odmienne choroby wiążą się z proliferacją tego samego klonu limfocytów T [47].

Podsumowanie

Obecność aberracji chromosomowych jest jedną z cech komórek CTCL, jednak w odróżnieniu od innych chłoniaków nie wykryto dla tej grupy nowotworów powtarzalnej, swoistej aberracji. Wykazano, że progresja CTCL wiąże się z powstaniem niestabilności genetycznej komórek, prowadzącej do wzrostu liczby aberracji chromosomowych w kariotypie i zwiększeniem stopnia złośliwości klinicznej nowotworu. Do pierwotnych aberracji zalicza się mutacje prowadzące do utraty krótkich ramion chromosomu 9, a aberracje wtórne to mutacje chromosomów 10, 13, 17 i innych. Aberracje chromosomowe odgrywają znaczącą rolę w patogenezie CTCL, prowadząc do utraty genów supresorowych, aktywacji onkogenów, zaburzenia procesów proliferacji, procesu apoptozy i mechanizmów naprawy DNA.

Piśmiennictwo

- Willemze R, Jaffe ES, Burg G, et al. WHO–EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood* 2005; 105: 3768-85.
- Burg G, Kempf W, Cozzio A, et al. WHO/EORTC classification of cutaneous lymphomas 2005: histological and molecular aspects. *J Cutan Pathol* 2005; 32: 647-74.
- Heim S, Mitelman F. *Cancer Cytogenetics*. 2nd ed. Wiley-Liss 1995.
- Sandberg AA. *The chromosomes in human cancer and leukemia*. 2nd ed. Elsevier, New York, 1990.
- Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology. URL <http://AtlasGeneticsOncology.org>.
- Grzanka A, Placek W. Współczesna diagnostyka skórnych chłoniaków T-komórkowych. *Post Dermatol Alergol* 2004; 5: 220-5.
- Mitelman Database of Chromosome Aberrations in Cancer, 2006. Mitelman F, Johansson B and Mertens F (eds). <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>.
- Ross FM. The impact of cytogenetics on lymphoma diagnosis. *Curr Diagn Pathol* 2004; 10: 345-50.
- Mrozek K, Nedoszytko B, Babinska M, et al. Trisomy of chromosome 12 in a case of thecoma of the ovary. *Gynaecol Oncol* 1990; 36: 413-6.
- Limon J, Debiec-Rychter M, Nedoszytko B, et al. Aberrations of chromosome 22 and polysomy of chromosome 8 as non-random changes in clear cell sarcoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1994; 72: 141-5.
- Nedoszytko B, Mrozek K, Roszkiewicz A, et al. Clear cell sarcoma of tendons and aponeuroses with t(12;22)(q13;q12) diagnosed initially as malignant melanoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1996; 91: 37-9.
- Fujimura Y, Ohno T, Siddique H, et al. The EWS-ATF-1 gene involved in malignant melanoma of soft parts with t(12;22) chromosome translocation, encodes a constitutive transcriptional activator. *Oncogene* 1996; 12: 159-67.
- Donner LR. Cytogenetics of lymphomas: a brief review of its theoretical and practical significance. *Cancer Genet Cytogenet* 1997; 94: 20-6.
- Limon J, Nedoszytko B, Brozek I, et al. Chromosome aberrations, spontaneous SCE, and growth kinetics in PHA-stimulated lymphocytes of five cases with Sezary syndrome. *Cancer Genet Cytogenet* 1995; 83: 75-81.
- Whang-Peng J, Bunn P, Knutsen T, et al. Cytogenetic abnormalities in patients with cutaneous T-cell lymphomas. *Cancer Treat Rep* 1979; 63: 575-80.
- Karenko L, Hyytinen E, Sarna S, Ranki A. Chromosomal abnormalities in cutaneous T-cell lymphoma and in its premalignant conditions as detected by G-banding and interphase cytogenetic methods. *J Invest Dermatol* 1997; 108: 22-9.
- Karenko L, Sarna S, Kahkonen M, Ranki A. Chromosomal abnormalities in relation to clinical disease in patients with cutaneous T-cell lymphoma: a 5-year follow-up study. *Br J Dermatol* 2003; 148: 55-64.
- Thangavelu M, Finn WG, Yelavarthi KK, et al. Recurring structural chromosome abnormalities in peripheral blood lymphocytes of patients with mycosis fungoides/Sezary syndrome. *Blood* 1997; 89: 3371-7.
- Karenko L, Hahtola S, Paivinen S, et al. Primary cutaneous T cell lymphomas show a deletion or translocation affecting NAV3, the human UNC-53 homologue. *Cancer Res* 2005; 65: 8101-10.
- So CC, Wong KF, Siu LL, Kwong YL. Large cell transformation of Sezary syndrome. A conventional and molecular cytogenetic study. *Am J Clin Pathol* 2000; 113: 792-7.
- Prochazkova M, Chevret E, Beylot-Barry M, et al. Large cell transformation of mycosis fungoides: tetraploidization within skin tumor large cells. *Cancer Genet Cytogenet* 2005; 163: 1-6.
- Espinete B, Salido M, Pujol RM, et al. Genetic characterization of Sezary's syndrome by conventional cytogenetics and cross-species color banding fluorescent in situ hybridization. *Haematologica* 2004; 89: 165-73.
- Schlegelberger B, Weber-Matthiesen K, Sterry W, et al. Combined immunophenotyping and karyotyping in peripheral T cell lymphomas demonstrating different clonal and non-clonal chromosome aberrations in T helper cells. *Leuk Lymphoma* 1994; 15: 113-25.
- Fischer TC, Gellrich S, Muche JM, et al. Genomic aberrations and survival in cutaneous T cell lymphomas. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 579-86.
- Schlegelberger B, Zhang Y, Weber-Matthiesen K, Grote W. Detection of aberrant clones in nearly all cases of angioimmunoblastic lymphadenopathy with dysproteinemia – type T-cell lymphoma by combined interphase and metaphase cytogenetics. *Blood* 1994; 84: 2640-8.
- Li G, Chooback L, Wolfe JT, et al. Overexpression of p53 protein in cutaneous T cell lymphoma: relationship to large cell transformation and disease progression. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 767-70.

27. Marrogi AJ, Khan MA, Vonderheid EC, et al. p53 tumor suppressor gene mutations in transformed cutaneous T-cell lymphoma: a study of 12 cases. *J Cutan Pathol* 1999; 26: 369-78.
28. Navas IC, Ortiz-Romero PL, Villuendas R, et al. p16 (INK4a) gene alterations are frequent in lesions of mycosis fungoides. *Am J Pathol* 2000; 156: 1565-72.
29. Peris K, Stanta G, Fargnoli MC, et al. Reduced expression of CDKN2a/p16INK4a in mycosis fungoides. *Arch Dermatol Res* 1999; 291: 207-11.
30. Mao X, Lillington D, Scarisbrick JJ, et al. Molecular cytogenetic analysis of cutaneous T-cell lymphomas: identification of common genetic alterations in Sezary syndrome and mycosis fungoides. *Br J Dermatol* 2002; 147: 464-75.
31. Wain EM, Mitchell TJ, Russell-Jones R, Whittaker SJ. Fine mapping of chromosome 10q deletions in mycosis fungoides and Sezary syndrome: identification of two discrete regions of deletion at 10q23.33-24.1 and 10q24.33-25.1. *Genes Chromosomes Cancer* 2005; 42: 184-92.
32. Mao X, Orchard G, Vonderheid EC, et al. Heterogeneous abnormalities of CCND1 and RB1 in primary cutaneous T-cell lymphomas suggesting impaired cell cycle control in disease pathogenesis. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 1388-95.
33. Duval A, Raphael M, Brennetot C, et al. The mutator pathway is a feature of immunodeficiency-related lymphomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 5002-7.
34. Mao X, Orchard G, Lillington DM, et al. BCL2 and JUNB abnormalities in primary cutaneous lymphomas. *Br J Dermatol* 2004; 151: 546-56.
35. Mao X, Orchard G, Lillington DM, et al. Amplification and overexpression of JUNB is associated with primary cutaneous T-cell lymphomas. *Blood* 2003; 101: 1513-9.
36. Poenitz N, Simon-Ackermann J, Gratchev A, et al. Overexpression of c-myc in leukaemic and non-leukaemic variants of cutaneous T-cell lymphoma. *Dermatology* 2005; 211: 84-92.
37. Hahtola S, Tuomela S, Elo L, et al. Th1 response and cytotoxicity genes are down-regulated in cutaneous T-cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 4812-21.
38. Ranki A, Päivinen S, Zhou Y, et al. CTCL associated NAV3 gene deletion functionally affect IL-2 expression. 35th Annual European Society for Dermatological Research (ESDR) Meeting, 22-24 September 2005, Tübingen, Germany. Abstracts. *J Invest Dermatol* 2000; 125 (3 Suppl): A1-89.
39. Grammatico P, Balus L, Scarpa S, et al. Granulomatous slack skin: cytogenetic and molecular analyses. *Cancer Genet Cytogenet* 1994; 72: 96-100.
40. Balus L, Manente L, Remotti D, et al. Granulomatous slack skin. Report of a case and review of the literature. *Am J Dermatopathol* 1996; 18: 199-2006.
41. DeCoteau JF, Butmarc JR, Kinney MC, Kadin ME. The t(2,5) chromosomal translocation is not a common feature of primary cutaneous CD30+ lymphoproliferative disorders: comparison with anaplastic large-cell lymphoma of nodal origin. *Blood* 1996; 87: 3437-41.
42. Morris SW, Kirstein MN, Valentine MB, et al. Fusion of a kinase gene, ALK, to a nucleolar protein gene, NPM, in non-Hodgkin's lymphoma. *Science* 1994; 263: 1281-4.
43. Bischof D, Pulford K, Mason DY, Morris SW. Role of the nucleophosmin (NPM) portion of the non-Hodgkin's lymphoma-associated NPM-anaplastic lymphoma kinase fusion protein in oncogenesis. *Mol Cell Biol* 1997; 17: 2312-25.
44. Beylot-Barry M, Lamant L, Vergier B, et al. Detection of t(2,5)(p23,q35) translocation by reverse transcriptase polymerase chain reaction and in situ hybridization in CD30-positive primary cutaneous lymphoma and lymphomatoid papulosis. *Am J Pathol* 1996; 149: 483-92.
45. Mao X, Orchard G, Lillington DM, et al. Genetic alterations in primary cutaneous CD30+ anaplastic large cell lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2003; 37: 176-85.
46. Peters K, Knoll JH, Kadin ME. Cytogenetic findings in regressing skin lesions of lymphomatoid papulosis. *Cancer Genet Cytogenet* 1995; 80: 13-6.
47. Gallardo F, Costa C, Bellosillo B, et al. Lymphomatoid papulosis associated with mycosis fungoides: clinicopathological and molecular studies of 12 cases. *Acta Derm Venereol* 2004; 84: 463-8.