

# Diagnostyka genetyczna chłoniaków T-komórkowych pierwotnie wywodzących się ze skóry

## Część III: Porównanie częstości występowania nieprawidłowych klonów komórkowych w chłoniakach T-komórkowych skóry analizowanych za pomocą badania molekularnego z zastosowaniem analizy rearanzacji genów TCR $\gamma$ i metody cytogenetycznej

The genetic diagnostics of primary cutaneous T-cell lymphomas  
Part III: The comparison of abnormal cell clone incidence in cutaneous T-cell lymphomas using molecular method of TCR $\gamma$  rearrangement and cytogenetic techniques

Małgorzata Sokołowska-Wojdyło<sup>1\*</sup>, Bogusław Nedoszytko<sup>1\*</sup>, Jolanta Gleń<sup>1</sup>, Monika Zabłotna<sup>1</sup>, Waldemar Placek<sup>2</sup>, Wojciech Silny<sup>3</sup>, Agnieszka Wąsik<sup>4</sup>, Jadwiga Roszkiewicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Akademii Medycznej w Gdańsku, kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. n. med. Jadwiga Roszkiewicz

<sup>2</sup>Katedra i Klinika Dermatologii, Chorób Przenoszonych Drogą Płciową i Immunodermatologii Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. n. med. Waldemar Placek

<sup>3</sup>Katedra i Klinika Dermatologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. n. med. Wojciech Silny

<sup>4</sup>Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Akademii Medycznej we Wrocławiu, kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. n. med. Eugeniusz Baran

\* wkład obu autorów w powstanie pracy jest jednakowy

Post Dermatol Alergol 2007; XXIV, 4: 165–170

### Streszczenie

Ocena klonalności rearanzacji genów łańcucha  $\gamma$  receptora TCR należy już do standardu badań diagnostycznych w przypadku chłoniaków pierwotnie wywodzących się ze skóry z komórek T (ang. *cutaneous T-cell lymphoma* – CTCL). Również analizę aberracji chromosomalnych wykorzystuje się coraz powszechniej w diagnostyce białaczek i chłoniaków pierwotnie węzłowych i skórnych. Celem przedstawianej pracy jest porównanie częstości występowania nieprawidłowych klonów komórkowych w CTCL za pomocą metody cytogenetycznej oraz molekularnej, z zastosowaniem analizy rearanzacji genów TCR $\gamma$ . Materiał badań stanowiły biopsje skóry, węzłów chłonnych oraz krew obwodowa, pochodzące od 31 pacjentów z CTCL [25 przypadków ziarniniaka grzybiastego (ang. *mycosis fungoides* – MF), 3 zespołu Sezary'ego (ang. *Sezary syndrome* – SS), 2 wielokomórkowego anaplastycznego chłoniaka z komórek CD30+ (C-ALCL) oraz 1 angiocentrycznego chłoniaka z komórek T/NK]. Dokonano analizy aberracji chromosomowych w metafazach uzyskanych z hodowli limfocytów krwi obwodowej pobranej od 27 pacjentów z CTCL (17 z MF, 7 z SS, 2 z C-ALCL CD30+, 1 z chłoniakiem z komórek T/NK) za pomocą barwienia metodą GTG. W celu analizy rearanzacji genów TCR $\gamma$  badano tkanki pochodzące od 31 pacjentów z CTCL (25 przypadków MF, 3 SS, 2 C-ALCL, 1 angiocentryczny chłoniak z komórek T/NK). Do wykrycia nieprawidłowych klonów zastosowano metodę elektroforezy w gradencie temperatur (ang. *temperature gradient gel electrophoresis* – TGGE) oraz opracowaną do potrzeb niniejszego badania nową technikę PCR/HD-MDE-PAGE (ang. *polymerase chain reaction/heteroduplex-MDE-polyacrylamide gel*). Monoklonalność TCR $\gamma$  wykryto u 22 (71%) spośród 31 chorych z CTCL, natomiast klonalne aberracje chromosomowe u 19 (70,4%) z 27 badanych z CTCL. Uzyskane wyniki wykazały porównywalną czułość obu metod w wykrywaniu komórek nowotworowych oraz komplementarność metody cytogenetycznej i molekularnej opartej na analizie rearanzacji genu TCR $\gamma$  w diagnostyce i monitorowaniu CTCL.

**Słowa kluczowe:** CTCL, TCR, aberracje chromosomalne, klon, rozrost monoklonalny.

---

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

## Abstract

TCR $\gamma$  genes rearrangement analysis has already become a standard diagnostic method in cutaneous T-cell lymphomas (CTCL). Chromosomal aberration analysis has been more commonly used in diagnostics of leukaemias and lymphomas. The aim of the study was to compare the frequency of neoplastic clone incidence in CTCL determined by cytogenetic and molecular methods (TCR $\gamma$  genes rearrangement analysis). The skin, lymph nodes and peripheral blood from 31 patients (25 with mycosis fungoides, 3 with Sezary syndrome, 2 with CTCL CD30+, 1 with angiocentric NK/T cell lymphoma) were analyzed. The chromosomal aberrations in metaphase culture of peripheral blood lymphocytes from 27 patients with CTCL (17 – MF, 7 – SS, 2 C-ALCL, 1 – angiocentric T/NK cell lymphoma) were tested with GTG method. The TCR $\gamma$  genes rearrangement in biopsies from 31 patients with CTCL (25 – MF, 3 – SS, 2 – C-ALCL, 1 – angiocentric NK/T cell lymphoma) were analyzed with PCR TGGE (polymerase chain reaction/temperature gradient gel electrophoresis) and PCR/HD-MDE-PAGE (PCR/Heteroduplex – MDE – Polyacrylamide Gel). TCR $\gamma$  monoclonality was confirmed in 71% of patients with CTCL. Clonal chromosomal aberrations were found in 70.4% of CTCL cases. The results were comparable and confirmed the complementarity of both methods in diagnostics and monitoring of CTCL.

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

## Wstęp

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. *mycosis fungoides* – MF) i zespół Sezary’ego (ang. *Sezary syndrome* – SS). Diagnostyka CTCL, mimo dość wyraźnych kryteriów, jest wciąż trudna. Szczególnie dotyczy to wczesnych stadiów chłoniaków, które klinicznie mogą imitować choroby zapalne, np. wyprysk, atopowe zapalenie skóry, łuszczycę, przyłuszczycę, liszaj płaski, a nawet erytrodermię [1, 2]. Dużym problemem diagnostycznym w przypadku CTCL jest wczesna detekcja komórek nowotworowych w skórze i we krwi obwodowej. Jedną z metod ich identyfikacji to wykrywanie we krwi obwodowej komórek Lutznera (Sezary’ego), które mają duże, pofałdowane jądro komórkowe (mózgokształtne – *cerebriforme*). Obecność tych komórek w liczbie  $>1000/\text{mm}^3$  stanowi cechę diagnostyczną w SS. Jednak fakt wykrywania komórek Lutznera w innych, nienowotworowych ww. dermatozach obarcza tę metodę dużym błędem i nie zawsze pozwala na jednoznaczną interpretację wyników [1, 2].

Obecnie duże nadzieje we wczesnej diagnostyce CTCL wiąże się z badaniem cytogenetycznym oraz molekularnym, opierającym się na wykrywaniu nieprawidłowych klonów komórek T za pomocą analizy rearanżacji genów TCR $\gamma$  [2–7].

W przedstawianej pracy porównano częstość występowania nieprawidłowych klonów komórkowych w pierwotnych chłoniakach T-komórkowych skóry analizowanych za pomocą metody cytogenetycznej oraz molekularnej z zastosowaniem analizy rearanżacji genów TCR $\gamma$ .

## Materiał i metody

Materiał badań stanowiły biopsje skóry, węzłów chłonnych oraz krew obwodowa, pochodzące od 31 pacjentów Kliniki Dermatologii Akademii Medycznej z rozpoznaniem CTCL [25 przypadków MF, 3 SS, 2 anaplastycznego chłonia

niaka wielokomórkowego CD30+ (*cutaneous anaplastic large cell lymphoma* – C-ALCL) i 1 angiocentrycznego chłonia z komórek NK/T].

Badanie cytogenetyczne polegało na analizie aberracji chromosomowych w metafazach uzyskanych z hodowli limfocytów krwi obwodowej pobranej od 27 pacjentów z CTCL (17 przypadków MF, 7 SS, 2 C-ALCL i 1 pacjent z angiocentrycznym chłoniakiem z komórek NK/T), barwionych metodą GTG (trypsyna + Giemsa). Zgodnie z ogólnie przyjętymi zasadami za aberrację klonalną uznawano taką, która występowała u pacjenta w 2 metafazach (aberracje strukturalne) lub 3 metafazach (aberracje liczbowe).

W celu wykrycia rearanżacji genów TCR $\gamma$  badano tkanki pochodzące od 31 pacjentów z CTCL (25 przypadków MF, 3 SS, 2 C-ALCL i 1 angiocentrycznego chłonia z komórek NK/T). Z wycinków skórnych i fragmentów węzłów chłonnych przechowywanych w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  izolowano genomowy DNA za pomocą zestawu A&A Biotechnology (Polska) i następnie przeprowadzono łańcuchową reakcję polimerazy z użyciem 3 mieszanin starterów komplementarnych do odcinka łączącego V-J TCR $\gamma$ , jak opisano poprzednio [3]. Otrzymane produkty rozdzielano metodą elektroforezy w gradiencie temperatur (HD-TGGE) i/lub na żelu denaturującym MDE-PAGE. Uzyskane produkty rozdziatu analizowano i archiwizowano przy użyciu programu komputerowego FOTOAnalyst PC Image firmy Fotodyne.

## Wyniki

Analiza cytogenetyczna pacjentów z MF wykazała obecność aberracji chromosomowych u 11 (64,3%) z 17 badanych. Klonalne aberracje chromosomowe wykrywano u 4 chorych (wyłącznie liczbowe u 3 pacjentów i aberrację strukturalną u 1 pacjenta), natomiast u 7 występowały aberracje nieklonalne. Wszyscy chorzy z aberracjami chromosomowymi byli w stadium zaawansowania CTCL co najmniej II (T1,2 lub 3, N0,1, M0). Kariotyp prawidłowy stwierdzono u 6 pacjentów, spośród których 3 było w sta-

dium I zaawansowania, a 3 w stadium II. Monoklonalność genów TCR $\gamma$  wykryto u 64% pacjentów z MF – wszyscy byli w co najmniej II stadium zaawansowania choroby (tab. 1).

U wszystkich pacjentów z zespołem Sezary'ego wykrywano klonalne aberracje chromosomowe. Poza 1 przypadkiem z delecją del(8)(p21), jako jedyną zmianą w komórkach, kariotyp pozostałych pacjentów był najczęściej złożony, z licznymi aberracjami strukturalnymi i liczbowymi. Odnotowano okołodiploidalną liczbę chromosomów z klonami poliploidalnymi. Obserwowane aberracje chro-

mosomowe prowadziły najczęściej do utraty materiału chromosomów 2, 9, 10, 13 i 17. Wyniki badań cytogenetycznych pacjentów przedstawiono w tab. 2. i 3. Przykładowe kariotypy zamieszczono na ryc. 1. i 2.

Aberracje chromosomalne stwierdzono także u 1 z 2 pacjentów z CTCL CD30+. Kariotyp pozostałych pacjentów z tej grupy był prawidłowy (wyniki tab. 2.–3.). Monoklonalność genów TCR $\gamma$  odnotowano u wszystkich pacjentów z SS, C-ALCL, a także u pacjenta z angiocentrycznym chłoniakiem z komórek NK/T. Zestawienie badań cytoge-

**Tab. 1.** Wyniki badania monoklonalności rearanżacji łańcucha  $\gamma$  receptora TCR

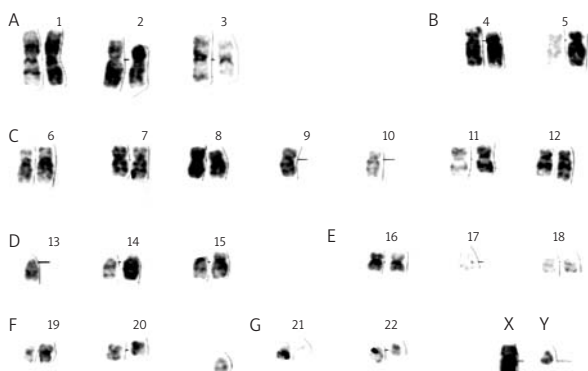
Liczba pacjentów	Rozpoznanie	Monoklonalność	Poliklonalność
25	ziarniniak grzybiasty (MF)	16 (64%)	9
3	zespół Sezary'ego (SS)	3	0
2	CTCL CD30+	2	0
1	angiocentryczny chłoniak z komórek T/NK	1	0

**Tab. 2.** Wyniki badania cytogenetycznego pacjentów z zespołem Sezary'ego

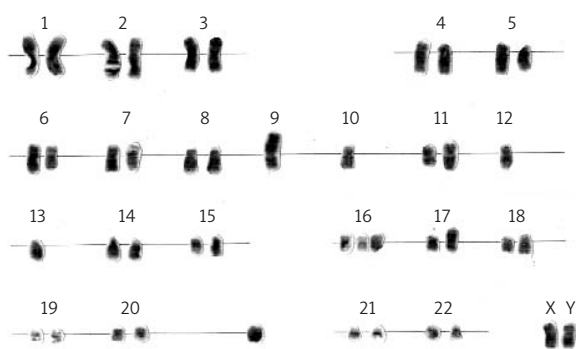
Lp.	Inicjały	Płeć/wiek	Kariotyp
1.	MS	M/49	46,XY,del(8)(p21) [3]
2.	JJ	K/73	44,XX,-1,der(1)t(1;14)(q12;q11),der(3)t(1;3)(p32;p21),+der(3)t(3;?8)(q12;q22),der(4)t(1;?;4)(q21;?;p16),del(5)(p12;p14),-9,inv(9)(p11;q13)c,der(10)add(10)(p13)t(10;17)(q23;q11),der(12)t(9;12)(q13;p13),del(13)(q12q14),-14,-17,psudic(17;?)(p11;?),+mar [28]/46,XX,inv(9)(p11;q13) [30]
3.	FH	M/69	46,XY,der(1)t(1;11)(p36;q21),add(4)(q31),-10,+11,der(11)t(1;11)(p36;q21),der(11)t(11;20)(q13;q11),der(20)t(13;20)(q14;q11)[cp11]/46,idem,add(1)(p36),t(2;14)(q11;q32) [5]
4.	JK	M/38	38-39,XY,add(2)(q31),add(10)(q22),der(12)t(7;12)(q11;p13),add(11)(q25),add(12)(p13),-14,-15,i(17)(q10),+3mar [3]
5.	DR	K/66	43-46,X,-X,der(X;17)(q10;p10),add(2)(p13),del(6)(q23),-9,add(9)(p21),-10,add(11)(q23),-13,+16,+mar[cp12]
6.	BK	K/66	43-45,X,der(X)t(X;11)(p22.1;q13),der(2)t(10;2;10;2;10;13;4;13;4),der(4)t(4;13;4)(q22;?;q31),+7,der(10)t(3;10)(p11;q11),der(13)t(2;13)(p23;q14?),i(17)(q10),der(18)t(18;12;22)(p11.2;?;q13?)der(19)t(19;21)((p13;q11),-21[cp29]/44-45,idem,+7,+7 [4]/44-45,X,-X,der(2)t(10;2;10;2;10;13;4;13;4),t(2;11)(q21;q11),+der(2)t(2;11)(q21;q11),der(4)t(4;13;4)(q22;?;q31),+7,del(8)(q22),del(9)(q13),+del(9)(q13),+del(9)(q11),-10,der(10)t(8;10)(q22;?;p15),-13,der(13)t(2;13)(p23;q14?),der(17)t(X;17)(q13;p11)der(18)t(18;12;22)(p11.2;?;q13?),der(19)t(19;21)(p13;q11),-21[cp19]/46,XX [9]/92,XXXX [6]
7.	WB	M/66	43,XY,add(2)(p13),add(3)(p21),-9,-10,add(12)(q24),-13,-17,A+mar [30]/86,XXYY idemx2 [8]

**Tab. 3.** Wyniki badania cytogenetycznego pacjentów z CTCL CD30+ i angiocentrycznym chłoniakiem z komórek T/NK nosa

Lp.	Inicjały	Kariotyp
CTCL CD30+		
1.	RH	46,XX [30]
2.	LG	46,XY,del(3)(p23) [2]/54-62,+1,+7[2]/92,XXYY [3], niekl. [4]
chłoniak angiocentryczny nosa z komórek T/NK		
1.	łH	46,XY/92,XXYY [30/2]



**Ryc. 1.** Kariogram pacjenta z zespołem Sezary'ego z charakterystycznymi aberracjami: monosomią chromosomów 9, 10, 13 i 17 (pełny zapis kariotypu w tab. 2.)



**Ryc. 2.** Kariogram pacjenta z zespołem Sezary'ego z charakterystycznymi aberracjami, delecją 6q, izochromosomem i(17q) oraz monosomią chromosomów 9, 10 i 13 (pełny zapis kariotypu w tab. 2.)

netycznych oraz molekularnych przedstawia tab. 3. Łącznie w badaniu molekularnym monoklonalność wykryto u 22 (71%) spośród 31 badanych z CTCL, natomiast obecność klonalnych aberracji chromosomowych u 19 (70,4%) spośród 27 badanych z CTCL.

## Dyskusja

Pomimo wyraźnego określenia kryteriów diagnostycznych CTCL, ich diagnostyka nadal nie jest łatwa. Oprócz badania histopatologicznego oraz immunohistochemicznego

skóry, powiększonych węzłów chłonnych, szpiku i badań obrazowych narządów wewnętrznych, współczesna diagnostyka oferuje możliwość oceny klonalności rearanżacji genów receptora TCR oraz analizę aberracji chromosomalnych zarówno w skórze, jak i we krwi chorych [1, 3, 7, 8].

Zastosowanie metody tańcuchowej reakcji polimeryzy PCR oraz elektroforezy o wysokiej rozdzielczości pozwala na wykrywanie klonu TCR we krwi u ok. 40% pacjentów z MF, natomiast w skórze w 90% przypadków MF [9–13]. Ogólnie nieprawidłowe klony komórkowe wykrywano w 40–90% wszystkich CTCL [14].

W przeprowadzonych badaniach monoklonalność genu TCR $\gamma$  stwierdzono u 64% pacjentów z MF, u wszystkich pacjentów z SS, C-ALCL, a także u pacjenta z angiocentrycznym chłoniakiem z komórek T/NK typu nosowego. Łącznie monoklonalność wykryto u 22 (71%) spośród 31 badanych CTCL, co jest wynikiem zgodnym z badaniami innych autorów [2, 14]. Monoklonalność rearanżacji genów TCR $\gamma$  korelowała z obrazem klinicznym CTCL oraz ze stopniem zaawansowania choroby. Poliklonalność rearanżacji odnotowano we wczesnych stadiach MF, natomiast monoklonalność raczej w późnych stadiach MF i SS.

Stwierdzenie monoklonalności genów TCR zostało uznane za niezależny negatywny czynnik prognostyczny w odpowiedzi CTCL na leczenie [13]. W większości przypadków zaobserwowano identycznie zrearanżowany klon w skórze, węzłach chłonnych i krwi pacjentów z CTCL [13]. Znajdowano także różne klony zrearanżowanego genu TCR w skórze i węzłach chłonnych u ok. 1/3 pacjentów z MF [12]. Stwierdzenie monoklonalności genów TCR nie jest jednoznaczne ze złośliwością procesu chorobowego [15]. Odnotowano bowiem jej obecność we krwi zdrowych osób oraz w skórze pacjentów z dermatozami zapalnymi [15–18]. Istnienie klonu nowotworowego w tych przypadkach zależało od wieku i wiązało się głównie z komórkami CD8+ [19].

Występowanie aberracji chromosomowych jest jedną z cech komórek nowotworowych, która pozwala na ich odróżnienie od komórek prawidłowych. U chorych z MF/SS aberracje wykrywa się w ok. 60% przypadków, najczęściej w zaawansowanych stadiach tych chłoniaków. Kariotyp opisanych do tej pory przypadków MF/SS był często złożony, z licznymi aberracjami strukturalnymi i liczbowymi. Nie wykryto dotychczas swoistej, powtarzalnej aberracji chromosomowej [7, 20–25].

**Tab. 4.** Zestawienie wyników badań molekularnych i cytogenetycznych (M – monoklonalność, P – poliklonalność, (+) stwierdzono klonalne aberracje chromosomalne, (–) nie stwierdzono klonalnych aberracji, (+/–) stwierdzono aberracje, ale nieklonalne

Rozpoznanie	Liczba pacjentów	Klonalność TCR $\gamma$	Aberracje chromosomalne
ziarniak grzybiasty (MF)	11	6M 5P	2(+);4(-) 1(+);2(+/-);2(-)
zespół Sezary'ego	2	2M	2(+);0(-)
CTCL CD30+	2	2M	1(+);1(-)
angiocentryczny chłoniak z komórek T/NK	1	1M	1(-)

W badanych przez autorów artykułu przypadkach MF/SS, aberracje chromosomowe obserwowano u wszystkich pacjentów z SS, a tylko u 64% chorych z MF. Złożoność aberracji chromosomowych korelowała ze stadium klinicznym zaawansowania choroby.

Cechą badanych pacjentów z MF/SS była niestabilność chromosomowa, objawiająca się zmiennością kariotypową oraz występowaniem licznych komórek z nieklonalnymi aberracjami strukturalnymi. Zjawisko takie obserwowali także inni autorzy, co wskazuje na niestabilność genetyczną komórek MF/SS [21, 24, 26, 27]. Dostrzeżone w badaniu aberracje chromosomowe prowadziły najczęściej do utraty materiału chromosomów 2, 9, 10, 13 i 17, co jest zgodne z obserwacjami innych autorów [20–25] i może wiązać się z utratą zlokalizowanych w tych chromosomach genów supresorowych CDKN2A i 2B (*locus* 9p21), RB1 (*locus* 13q), PTEN (*locus* 10q) i TP53 (*locus* 17p) [20–25].

Obecność aberracji chromosomalnych obok rearanżacji TCR przemawia za klonalną ekspansją komórek T. Wykrycie aberracji może przemawiać za zbliżającym się nawrotem choroby lub jej postępem [19, 28]. Obecność komórek z takimi samymi klonalnymi aberracjami chromosomowymi niektórzy badacze [28–31] wykrywali nie tylko we krwi, ale także w skórze i węzłach chłonnych osób zdrowych.

Związek klonalności genów TCR z obecnością zaburzeń chromosomalnych opisywano już w chłoniakach. Stwierdzono np. trisomię chromosomu 7 w linii nowotworowych komórek wywodzących się z CTCL równoległe do 3 klonalnie zrearanżowanych odcinków TCR $\beta$  zarówno w tej linii komórek, jak i w skórze oraz krwi pacjenta, od którego ta linia się wywodziła [32]. Trisomię chromosomu 7 spotyka się także w tkankach bez złośliwego procesu rozrostowego i najprawdopodobniej wiąże się z wiekiem, przez co nie może być markerem złośliwości procesu [2, 33].

Wykazywano także na poziomie pojedynczej komórki, że nowotworowe limfocyty T wykazują zarówno rearanżacje monoklonalne TCR $\gamma$ , jak i mikroskopowo wykrywalne aberracje chromosomowe stanowiące wspólnie wyznacznik złośliwości procesu [34].

W przypadku C-ALCL monoklonalność TCR stwierdza się w większości przypadków. Monoklonalny rozrost w obu przypadkach C-ALCL może być potwierdzeniem tych wyników. Za pomocą badania cytogenetycznego aberracje wykryto tylko w 1 przypadku tego chłoniaka. Nie wykryto t(2;5), swoistej dla ALCL CD30+ o pozaskórnym pochodzeniu, co potwierdzać może fakt rzadkiego występowania tej aberracji w skórnej postaci ALCL [33, 34].

W pozawęzłowym chłoniaku z komórek NK/T typu nosowego w większości przypadków odnotowuje się konfigurację *germline* genu TCR. Rearanżację monoklonalną stwierdza się niezmiernie rzadko w odmianie o fenotypie limfocytów T cytotoksycznych [2, 13]. Cechą kariotypu tych guzów jest delecja długich ramion chromosomu 6 [34]. Badany przypadek chłoniaka angiocentrycznego z komórek T/NK typu nosowego wykazywał monoklonalność genów TCR $\gamma$  i brak klonalnych aberracji chromosomowych.

Łącznie w przeprowadzonych badaniach testami molekularnymi monoklonalność wykryto u 22 (71%) spośród 31 badanych z CTCL, natomiast obecność klonalnych aberracji chromosomowych stwierdzono u 19 (70,4%) spośród 27 badanych z CTCL, co daje porównywalną czułość dwóch metod w wykrywaniu klonalnych rozrostów nowotworowych. Podobne wyniki uzyskali w swoich badaniach Muche i wsp. [2].

Za pomocą badania cytogenetycznego wykrywa się niewielkie klony komórkowe. Pozwala to na śledzenie progresji nowotworu i klonalnej ewolucji komórek nowotworu, jednak jego wykonanie jest czasochłonne i wymaga dużego doświadczenia badacza. Za badaniem klonalności za pomocą metod analizy rearanżacji genu receptora TCR przemawia wysoka czułość, szybkość wykonania badania i mniejsza pracochoćność, jednak wykrywanie monoklonalności u niektórych osób zdrowych oraz osób z dermatozami zapalnymi ogranicza jego wartość diagnostyczną.

W podsumowaniu przeprowadzone badania wskazują na komplementarność metody cytogenetycznej i molekularnej opartej na analizie rearanżacji genu TCR $\gamma$  w diagnostyce i monitorowaniu CTCL.

#### Piśmiennictwo

1. Willemze R, Jaffe ES, Burg G, et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood* 2005; 105: 3768-85.
2. Marcus Muche J, Karenko L, Gellrich S, et al. Cellular coincidence of clonal T cell receptor rearrangement and complex clonal chromosomal aberrations – a hallmark of malignancy in cutaneous T cell lymphoma. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 574-8.
3. Wojdyto M. Zastosowanie PCR w diagnostyce chłoniaków skóry z komórek T. *Przegl Dermatol* 1997; 84: 409-17.
4. Ralfkiaer E, O'Connor NTJ, Crick J, et al. Genotypic analysis of cutaneous T-cell lymphomas. *J Invest Dermatol* 1987; 88: 762-5.
5. Bakels V, van Oostveen JW, Gordijn RL, et al. Diagnostic value of T-cell receptor beta gene rearrangement analysis on peripheral blood lymphocytes of patients with erythroderma. *J Invest Dermatol* 1991; 97: 782-6.
6. Bachelez H, Bioul L, Flageul B, et al. Detection of clonal T-cell receptor gamma gene rearrangements with the use of the polymerase chain reaction in cutaneous lesions of mycosis fungoides and Sezary syndrome. *Arch Dermatol* 1995; 131: 1027-31.
7. 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.
8. Siegel RS, Pandolfino T, Guitart J, et al. Primary cutaneous T-cell lymphoma: review and current concepts. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2908-25.
9. Bottaro M, Berti E, Biondi A, et al. Heteroduplex analysis of T-cell receptor gamma gene rearrangements for diagnosis and monitoring of cutaneous T-cell lymphomas. *Blood* 1994; 83: 3271-8.
10. Theodorou I, Delfau-Larue MH, Bigorgne C, et al. Cutaneous T-cell infiltrates: analysis of T-cell receptor gamma gene rearrangement by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis. *Blood* 1995; 86: 305-10.
11. Muche JM, Lukowsky A, Asadullah K, et al. Demonstration of frequent occurrence of clonal T cells in the peripheral blood

- of patients with primary cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 1997; 90: 1636-42.
12. Fraser-Andrews EA, Woolford AJ, Russell-Jones R, et al. Detection of a peripheral blood T cell clone is an independent prognostic marker in mycosis fungoides. *J Invest Dermatol* 2000; 114: 117-21.
  13. Delfau-Larue MH, Dalac S, Lepage E, et al. Prognostic significance of a polymerase chain reaction-detectable dominant T-lymphocyte clone in cutaneous lesions of patients with mycosis fungoides. *Blood* 1998; 92: 3376-80.
  14. Ponti R, Quaglino P, Novelli M, et al. T-cell receptor gamma gene rearrangement by multiplex polymerase chain reaction/heteroduplex analysis in patients with cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides/Sezary syndrome) and benign inflammatory disease: correlation with clinical, histological and immunophenotypical findings. *Br J Dermatol* 2005; 153: 565-73.
  15. Posnett DN, Sinha R, Kabak S, Russo C. Clonal populations of T cells in normal elderly humans: the T cell equivalent to "benign monoclonal gammopathy". *J Exp Med* 1994; 179: 609-18.
  16. Vega F, Luthra R, Medeiros LJ, et al. Clonal heterogeneity in mycosis fungoides and its relationship to clinical course. *Blood* 2002; 100: 3369-73.
  17. Kolowos W, Herrmann M, Ponner BB, et al. Detection of restricted junctional diversity of peripheral T cells in SLE patients by spectratyping. *Lupus* 1997; 6: 701-7.
  18. Muche JM, Lukowsky A, Heim J, et al. Demonstration of frequent occurrence of clonal T cells in the peripheral blood but not in the skin of patients with small plaque parapsoriasis. *Blood* 1999; 94: 1409-17.
  19. Wack A, Cossarizza A, Heltai S, et al. Age-related modifications of the human alpha beta T cell repertoire due to different clonal expansions in the CD4+ and CD8+ subsets. *Int Immunol* 1998; 10: 1281-8.
  20. 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.
  21. 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.
  22. 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.
  23. 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.
  24. Fischer TC, Gellrich S, Muche JM, et al. Genomic aberrations and survival in cutaneous T cell lymphomas. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 579-86.
  25. Mitelman F, Johansson B, Mertens F (eds). *Mitelman Database of Chromosome Aberrations in Cancer* (2006). <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>.
  26. 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.
  27. 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.
  28. Johnson KL, Tucker JD, Nath J. Frequency, distribution and clonality of chromosome damage in human lymphocytes by multi-color FISH. *Mutagenesis* 1998; 13: 217-27.
  29. Karenko L, Hyytinen E, Sarna S, et al. 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.
  30. Broberg K, Toksvig-Larsen S, Lindstrand A, Mertens F. Trisomy 7 accumulates with age in solid tumors and non-neoplastic synovia. *Genes Chromosomes Cancer* 2001; 30: 310-5.
  31. Rubes J, Vozdova M, Robbins WA, et al. Stable variants of sperm aneuploidy among healthy men show associations between germinal and somatic aneuploidy. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 1507-19.
  32. Bagot M, Echchakir H, Mami-Chouaib F, et al. Isolation of tumor-specific cytotoxic CD4+ and CD4+CD8dim+ T-cell clones infiltrating a cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 1998; 91: 4331-41.
  33. 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.
  34. Wong KF, Zhang YM, Chan JKC. Cytogenetic abnormalities in natural killer cell lymphoma/leukaemia – is there a consistent pattern? *Leuk Lymphoma* 1999; 34: 241-50.