

Л.М. Хамаде

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев

Изменения в периферической крови у пациентов с грибовидным микозом на ранних стадиях заболевания

Цель работы — изучить изменения в периферической крови у больных грибовидным микозом на ранних стадиях заболевания.

Материалы и методы. Кожные Т-клеточные лимфомы в основном представлены грибовидным микозом (ГМ) и его лейкоемическим вариантом — синдромом Сезари. В последние годы было признано, что изменения в периферической крови у больных с грибовидным микозом являются отдельным прогностическим фактором, влияющим на выбор тактики лечения и определения стадии заболевания. Однако данных о специфике таких изменений периферической крови на ранних стадиях грибовидного микоза практически нет. С помощью метода проточной цитометрии проведен ретроспективный анализ результатов исследования образцов крови пациентов с грибовидным микозом.

Изучено 47 результатов проточной цитометрии образцов крови 5 пациентов с грибовидным микозом в сравнении с результатами 18 здоровых добровольцев. В исследовании использована панель моноклональных антител для определения уровня различных субпопуляций Т-лимфоцитов.

Результаты и обсуждение. Обнаружено статистически значимое увеличение соотношения уровня $CD3^+CD4^-$ и $CD3^+CD8^+$ Т-клеток, которое изменялось в зависимости от стадии заболевания и было существенно большим, чем у здоровых добровольцев.

Представлено большое количество данных об измененной экспрессии различных кластеров дифференциации в опухолевых клетках при ГМ. Также это заболевание на поздних стадиях сопровождается более выраженными изменениями в периферической крови. Выявленные изменения в периферической крови пациентов с ГМ на стадиях IA и IB могут помочь в определении стадии заболевания и выборе оптимальной тактики лечения.

Выводы. Результаты исследований свидетельствуют об изменениях в периферической крови пациентов с грибовидным микозом. Эти изменения становятся более значимыми с прогрессированием заболевания. Основными проявлениями заболевания на стадиях IA и IB является нарушение соотношения $CD3^+CD4^-$ и $CD3^+CD8^+$ -клеток, которое различается даже между этими стадиями. Проточная цитометрия помогает с большой точностью определять такие изменения, что следует учитывать при выборе тактики лечения и определении стадии заболевания у пациентов с грибовидным микозом.

Ключевые слова

Грибовидный микоз, ранняя стадия, проточная цитометрия, периферическая кровь, соотношение $CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$.

Грибовидный микоз (ГМ) — вялотекущее заболевание с неопластической пролиферацией Т-клеток, которое обычно поражает кожу и почти всегда вовлекает в процесс Т-хелперные клетки. У пациентов с грибовидным микозом также наблюдаются выраженные изменения в периферической крови [20]. 65 % всех кожных лимфом представлены грибовидным микозом и тесно связанным с ним синдромом Сезари.

Грибовидный микоз подразделяется на стадии по классификации TNM, как и все другие

Т-клеточные лимфомы [10]. Однако в последние годы признано, что появление клеток лимфомы в периферической крови, особенно в высоких концентрациях, является независимым и неблагоприятным прогностическим фактором у больных с грибовидным микозом [8, 18, 19].

Важным моментом является оптимальный метод, который используется для идентификации и подсчета количества клеток лимфомы в периферической крови. Оценка изменений периферической крови при грибовидном микозе с

помощью только морфологических критериев не является ни чувствительной, ни специфичной, поскольку интерпретация анализа зависит от исследователя, а в ряде случаев количество циркулирующих опухолевых клеток настолько незначительно, что их трудно обнаружить [11, 12]. Кроме того, у здоровых людей и у людей с доброкачественными кожными заболеваниями иногда может наблюдаться некоторое количество атипичных циркулирующих в крови лимфоцитов [5, 12].

В последние десятилетия проточная цитометрия зарекомендовала себя более надежным методом, чем морфологические исследования при определении клеток лимфомы в периферической крови у пациентов с грибовидным микозом, так как эти клетки часто имеют aberrантный иммунофенотип [3, 4, 6, 9, 16, 22].

На сегодняшний день существует мало данных о специфике изменений периферической крови у пациентов с ГМ на ранних стадиях. Для оценки клинического применения проточной цитометрии при изучении изменений в периферической крови у таких пациентов проведен ретроспективный анализ результатов исследования образцов крови, взятых у 5 больных грибовидным микозом, и сравнение их с результатами проточной цитометрии периферической крови 18 добровольцев контрольной группы.

Материалы и методы

Группа исследования

Проточная цитометрия проводилась на 47 образцах крови, взятых у 5 пациентов с грибовидным микозом с 2013 по 2015 год. Все пациенты имели грибовидный микоз в стадии IA или IB, и в течение этого периода эти стадии менялись. Анализ крови контрольной группы проводили 1 раз у каждого добровольца (всего 18 образцов).

Методом проточной цитофлуориметрии изучено наличие в крови следующих субпопуляций Т-лимфоцитов:

- общие Т-лимфоциты (CD45⁺CD5⁺CD19⁻);
- общие Т-лимфоциты (CD45⁺CD3⁺);
- Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺CD8⁻);
- наивные Т-хелперы (CD4⁺CD45RA⁺CD45R0⁻);
- Т-клетки памяти (CD4⁺CD45RA⁻CD45R0⁺);
- активированные Т-хелперы (на стадии дифференцирования) (CD4⁺CD45RA⁺CD45R0⁺);
- активированные Т-хелперы (поздняя активация) (CD45⁺CD4⁺HLA-DR⁺);
- активированные Т-хелперы (ранняя активация) (CD4⁺CD25⁺);
- регуляторные Т-клетки (CD45⁺CD4⁺CD25^{bright}CD127^{neg});

- Т-цитотоксические лимфоциты (CD45⁺CD3⁺CD4⁻CD8⁺);
- Т-цитотоксические активированные лимфоциты (CD45⁺CD3⁺CD8⁺CD38⁺);
- Т-цитотоксические активированные (CD45⁺CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺);
- соотношение CD4/CD8, DNT-L (CD45⁺CD3⁺CD4⁻CD8⁻);
- DPT-L (CD45⁺CD3⁺CD4⁺CD8⁺);
- Т-NK-клетки (цитолитические) (CD45⁺CD3⁺CD16⁺CD56⁺);
- активированные Т-клетки (CD45⁺CD3⁺HLA-DR⁺);
- αβ-Т-клетки (CD3⁺TcRαβ⁺TcRγδ⁻);
- γδ-Т-клетки (CD3^{bright}TcRαβ⁻TcRγδ⁺).

Все пациенты проходили лечение в клинике кафедры дерматологии и венерологии Национального медицинского университета имени О.О. Богомольца. Диагноз грибовидного микоза подтверждался на основании клинических симптомов и результатом анализа периферической крови. Все пациенты хотя бы один раз сдавали анализ крови для проточной цитометрии. Образцы крови анализировались за двухлетний период 2013—2015 гг. Клиническая информация была получена в ходе анализа историй болезни пациентов.

Трехцветная проточная цитометрия

В этом исследовании изучены образцы крови, которые анализировались с помощью трехцветной проточной цитометрии по следующей схеме [17]. Свежая венозная кровь пациентов с грибовидным микозом или добровольцев из группы контроля собирались в пробирки, которые содержали 1,5 мл этилендиаминтетрацетиловой кислоты на каждый мл крови. 100 мкл хорошо перемешанной цельной крови помещали в тестовые пробирки, которые находились в водно-ледяной бане.

Эритроциты лизировали согласно схеме, описанной в руководстве по эксплуатации, с использованием раствора аммония хлорида (Ortho-munelysingsolution; OrthoDiagnosticSystem, Raritan, NJ) в течение 10 мин при комнатной температуре. Лимфоциты периферической крови отмывали и ресуспендировали в холодном фосфатно-буферном растворе, который содержал 2 % эмбриональную бычью сыворотку (FBS; GIBCO, Paisley, Scotland, U.K.) и 0,02 % натрия азид (NaN₃) при концентрации 2 · 10⁶/мл. Все последующие процедуры проводили в условиях водно-ледяной бани. 100 мл суспензии смешивали с 10 мл раствора каждого моноклонального антитела и инкубировались в темноте при температуре 4 °С 30 мин. Через 30 мин клетки отмывали дважды с помощью холодного изото-

Таблиця 1. Показатели экспрессии маркеров активации/дифференциации Т-клеток у пациентов с грибовидным микозом и здоровых добровольцев

	CD3 ⁺			
	CD4 ⁺		CD8 ⁺	
	%	Абс. (клеток/мкл)	%	Абс. (клеток/мкл)
<i>Здоровые добровольцы</i>				
Среднее число	59,6 ± 8,8	725 ± 142	32,8 ± 8	401 ± 116
<i>Пациенты с грибовидным микозом</i>				
Среднее число	67,1 ± 14,3	730 ± 464	25,6 ± 10,8	245 ± 149

Примечание. $p < 0,05$. Так же в табл. 2—4.

нического раствора натрия хлорида и ресуспендировали с 300 мл физиологического раствора, содержащего эмбриональную бычью сыворотку и NaN_3 с последующей немедленной проточной цитометрией.

Количественный анализ трехцветной цитометрии проводили с использованием FAC-Scan-Instrument (Becton Dickinson). Все данные анализировались с использованием программного обеспечения CellQuest (Becton Dickinson). Живые лимфоциты фиксировались вместе с сигналами переднего и бокового рассеяния света.

Статистический анализ

Статистический анализ проведен с использованием программного обеспечения SigmaSat версии 1.0 (Jandel Corporation, San Rafael, CA). Пропорции сравнивали с помощью U-критерия Манна—Уитни и коэффициента корреляции Спирмена. Для всех статистических тестов статистическая значимость подтверждалась при значении P менее 0,05.

Результаты и обсуждение

Проведен проточный цитометрический анализ образцов крови с помощью панели антител для определения соотношения $\text{CD3}^+\text{CD4}^+/\text{CD3}^+\text{CD8}^+$ и уровня субпопуляций $\text{CD3}^+\text{CD4}^+$ Т-клеток в соответствии с экспрессией ими различных поверхностных маркеров.

Характеристика пациентов

В исследовании принимали участие 3 мужчины и 2 женщины с медианой возраста 62 года (от 16 до 82 лет). В основную группу вошли 5 пациентов с грибовидным микозом. Всем больным несколько раз (минимум 2) проводили анализ крови с использованием проточной цитометрии в период 2013—2015 гг. Медиана лимфоцитов была (77,5 ± 8,5) %, или (1048 ± 526) клеток/мкл. Методом проточной цитометрии было определе-

но, что среднее число $\text{CD3}^+\text{CD4}^+$ -лимфоцитов составило (67,1 ± 14,3) %, или (730 ± 464) клеток/мкл. Величина соотношения $\text{CD3}^+\text{CD4}^+/\text{CD3}^+\text{CD8}^+$ составляла в среднем 6,2 (табл. 1). Кроме того, была обследована контрольная группа из 18 здоровых доноров.

Маркеры активации/дифференциации

Проведено сравнение результатов 47 исследований крови пациентов с грибовидным микозом и крови 18 здоровых доноров на наличие маркеров активации/дифференциации.

Процент $\text{CD3}^+\text{CD4}^+$ -лимфоцитов был несколько увеличен в случаях ранней стадии ГМ (IA) и существенно увеличен при более поздней стадии заболевания (IB) (случаи, когда образцы крови брались у пациентов во время наличия у них диффузной эритродермии, поражающей менее 10 % поверхности кожи, и 2 случая — когда кожные изменения затронули более 10 % поверхности кожи). В сравнении с контрольной группой абсолютное количество $\text{CD3}^+\text{CD4}^+$ -лимфоцитов на стадии заболевания IB было существенно большим ($p < 0,05$). Также процентное и абсолютное количество $\text{CD3}^+\text{CD8}^+$ Т-клеток было меньшим на стадии IA и еще меньшим на стадии IB по сравнению с группой контроля (см. табл. 1).

Соотношение $\text{CD4}/\text{CD8}$

Соотношение $\text{CD3}^+\text{CD4}^+/\text{CD3}^+\text{CD8}^+$ в среднем равнялось 10,5 у пациентов с грибовидным микозом и 1,2 в контрольной группе (диапазон 0,07—12,9). Эти различия были статистически значимыми ($p < 0,041$).

Интересно, что образцы крови, где соотношение $\text{CD3}^+\text{CD4}^+/\text{CD3}^+\text{CD8}^+$ было увеличено (> 10), в основном взяты у пациентов с IB-стадией (83 % общего количества образцов крови с $\text{CD3}^+\text{CD4}^+/\text{CD3}^+\text{CD8}^+ > 10$). В то же время образцы крови, где соотношение $\text{CD3}^+\text{CD4}^+/\text{CD3}^+\text{CD8}^+$

Таблица 2. Уровни CD4⁺CD25⁺ Т-клеток и CD4⁺CD25^{bright}CD127^{neg} Т-клеток

	CD4 ⁺ CD25 ⁺ (%)	CD4 ⁺ CD25 ^{bright} CD127 ^{neg} (%)
Здоровые доноры	9,27 ± 0,5	1,4 ± 0,3
Пациенты с грибковым микозом	9,7 ± 0,4	1,9 ± 0,9

Таблица 3. Оценка уровня CD4⁺CD45R0⁺ Т-клеток и CD4⁺CD45RA⁺ Т-клеток

	CD4 ⁺ CD45R0 ⁺		CD4 ⁺ CD45RA ⁺	
	%	Абс. (клеток/мкл)	%	Абс. (клеток/мкл)
<i>Здоровые добровольцы</i>				
Среднее число	12,3 ± 4,3	256 ± 103	31 ± 7,5	308 ± 56
<i>Пациенты с грибковым микозом</i>				
Среднее число	11,6 ± 3,2	300 ± 125	28 ± 8,3	298 ± 49

Таблица 4. Оценка уровней αβ-Т-клеток и γδ-Т-клеток

	αβ		γδ	
	%	Абс. (клеток/мкл)	%	Абс. (клеток/мкл)
<i>Здоровые добровольцы</i>				
Среднее число	71 ± 9,3	950 ± 217	4,4 ± 1,7	56 ± 12
<i>Пациенты с грибковым микозом</i>				
Среднее число	73 ± 8,7	1032 ± 183	3,8 ± 1,9	65 ± 23

CD3⁺CD8⁺ было невысоким (< 10), получены у пациентов с более ранней стадией грибкового микоза IA (76 % общего количества образцов крови с CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ < 10). При этом в группе контроля соотношение было существенно более низким.

Оценка других субпопуляций Т-лимфоцитов

Также оценен уровень субпопуляций других Т-лимфоцитов в образцах крови пациентов с грибковым микозом в сравнении с этими показателями у здоровых доноров.

В процессе исследования не обнаружены существенные различия в относительном количестве CD4⁺CD25⁺ Т-клеток и CD4⁺CD25^{bright}CD127^{neg} Т-клеток в общей популяции CD4⁺ Т-клеток в образцах крови пациентов с грибковым микозом и у здоровых доноров: (9,27 ± 0,5) и (9,7 ± 0,4) % CD4⁺CD25⁺ Т-клеток и (1,4 ± 0,3) и (1,9 ± 0,9) % CD4⁺CD25^{bright}CD127^{neg} Т-клеток у здоровых доноров и пациентов с ГМ соответственно (табл. 2).

Также не было обнаружено существенных различий в уровне Т-хелперов активированных/памяти (CD4⁺CD45R0⁺) и Т-хелперов наивных

(CD4⁺CD45RA⁺): (12,3 ± 4,3) и (11,6 ± 3,2) %, или (256 ± 103) и (300 ± 125) клеток/мкл CD4⁺CD45R0⁺ Т-клеток; (31 ± 7,5) и (28 ± 8,3) %, или (308 ± 56) и (298 ± 49) клеток/мкл CD4⁺CD45RA⁺ Т-клеток; у здоровых доноров и у пациентов с грибковым микозом соответственно (табл. 3).

Уровни αβ-Т-клеток и γδ-Т-клеток среди пациентов и здоровых доноров также существенно не различались: (71 ± 9,3) и (73 ± 8,7) %, или (950 ± 217) и (1032 ± 183) клеток/мкл для αβ-Т-клеток; (4,4 ± 1,7) и (3,8 ± 1,9) %, или (56 ± 12) против (65 ± 23) клеток/мкл для γδ-Т-клеток у здоровых доноров и пациентов соответственно (табл. 4).

Прогрессирование грибкового микоза характеризуется переключением иммунной системы на более супрессивный и менее цитотоксический характер [8].

В исследовании ретроспективно проанализирована возможность использования проточной цитометрии при изучении изменений периферической крови у пациентов с ранними стадиями грибкового микоза. Изучены 47 результатов проточной цитометрии у 5 пациентов с

грибовидным микозом на разных стадиях в сравнении с показателями 30 здоровых добровольцев.

Известно, что опухолевые клетки грибовидного микоза в основном обладают CD4⁺-фенотипом [2] и только в небольшом количестве случаев имеют CD8⁺-фенотип [14]. Закономерно предположить, что при росте и прогрессировании неоплазии клетки опухоли с aberrантным фенотипом будут попадать в кровь. Ранее было предложено использовать соотношение CD4/CD8 для определения стадии заболевания. Считается, что соотношение CD4/CD8 больше 10 определяет наличие у пациентов синдрома Сезари [23]. В настоящем исследовании не изучалась кровь пациентов с синдромом Сезари, однако отмечено, что в образцах крови пациентов со стадией IA грибовидного микоза соотношение CD4/CD8 было в среднем 3,9, тогда как в образцах крови пациентов со стадией IB грибовидного микоза оно достигло среднего уровня 6,6. Это указывает на стойкие изменения в периферической крови пациентов с грибовидным микозом на ранних стадиях заболевания до того, как уровень опухолевых клеток в крови повысится значительно. Проточная цитометрия позволяет с точностью установить уровень этого соотношения и помочь в определении стадии заболевания.

Существуют данные, что Т-клеточные лимфомы могут изменять уровень и функцию Т-регуляторных клеток (CD4⁺CD25⁺ и CD4⁺CD25^{bright}CD127^{neg}) в периферической крови пациентов с грибовидным микозом [1]. Однако в исследовании не была обнаружена статистически значимая разница в уровнях Т-регуляторных клеток у пациентов с грибовидным микозом и здоровых доноров. Существуют также исследования, в которых тем не менее обнаружено нарушение функции этих клеток [13]. Как стало известно ранее, супрессивные функции Т-регуляторных клеток обратно пропорционально снижались в зависимости от количества опухолевых клеток в периферической крови пациентов с ГМ. Возможно, на более поздних стадиях заболевания

уровень Т-регуляторных клеток будет также снижаться, как и их функции, что требует дальнейшего изучения.

Другие данные указывают, что большая часть CD4⁺-лимфоцитов, находящихся в коже пациентов с грибовидным микозом, имеет фенотип CD45RA⁻/CD45RO⁺ [24]. Существует концепция, что CD4⁺ Т-клетки экспрессируют различный фенотип до (Т-клетки наивные) и после (Т-клетки памяти) первой активации [24]. Сначала они экспрессируют CD45RA-антиген, а после активации перманентно увеличивают экспрессию антигены CD45RO, LFA-3, CD2, LFA-1. Эта концепция объясняет злокачественную дегенерацию Т-клеток при грибовидном микозе и других Т-клеточных лимфомах. В более поздних исследованиях установлено, что такие злокачественные клетки могут экспрессировать измененные уровни CD45RA, CD45RO, CD150. В дальнейшем при прогрессировании заболевания такие клетки могут попадать в периферическую кровь пациентов. В нашем исследовании мы не нашли никаких различий в уровне CD45RA и CD45RO Т-клеток в периферической крови между пациентами с грибовидным микозом в стадиях IA и IB, а также между ними и группой контроля.

Выводы

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о наличии изменений в периферической крови пациентов с грибовидным микозом. Более того, эти изменения становятся более значимыми с прогрессированием заболевания. Основными проявлениями заболевания на стадии IA и IB является нарушение соотношения CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD8⁺-клеток, которое является различным даже между этими стадиями. Проточная цитометрия помогает с большой точностью определять наличие таких изменений, что может помочь в выборе тактики лечения и определения стадии заболевания у пациентов с грибовидным микозом.

Список литературы

- Berger C.L., Tigelaar R., Cohen J. et al. (2005) Cutaneous T-cell lymphoma: malignant proliferation of T-regulatory cells // *Blood*.— Vol. 105.— P. 1640–1647.
- Berger C.L., Warburton D., Raafat J. et al. Cutaneous T-cell lymphoma: neoplasm of T cells with helper activity // *Blood*.— 1979.— Vol. 53.— P. 642–651.
- Bernengo M.G., Novelli M., Quaglino P. et al. The relevance of the CD4⁺ CD26-subset in the identification of circulating Sezary cells // *Br. J. Dermatol.*— 2001.— Vol. 144.— P. 125–135.
- Borowitz M.J., Weidner A., Olsen E.A. et al. Abnormalities of circulating T-cell subpopulations in patients with cutaneous

- T-cell lymphoma: cutaneous lymphocyte-associated antigen expression on Tcells correlates with extent of disease // *Leukemia*.— 1993.— Vol. 7.— P. 859–863.
- Duncan S.C., Winkelmann R.K. Circulating Sezary cells in hospitalized dermatology patients // *Br. J. Dermatol.*— 1978.— Vol. 99.— P. 171–178.
- Jones D., Dang N.H., Duvic M. et al. Absence of CD26 expression is a useful marker for diagnosis of T-cell lymphoma in peripheral blood // *Am. J. Clin. Pathol.*— 2001.— Vol. 115.— P. 885–892.
- Kim E.J., Hess S., Richardson S.K. et al. Immunopathogenesis and therapy of cutaneous T cell lymphoma // *J. Clin. Invest.*— 2005.— Vol. 115.— P. 798–812.
- Kim Y.H., Liu H.L., Mraz-Gernhard S. et al. Long-term

- outcome of 525 patients with mycosis fungoides and Sezary syndrome: clinical prognostic factors and risk for disease progression // *Arch. Dermatol.*— 2003.— Vol. 139.— P. 857—866.
9. Klemke C.D., Brade J., Weckesser S. et al. The diagnosis of Sezary syndrome on peripheral blood by flow cytometry requires the use of multiple markers // *Br. J. Dermatol.*— 2008.— Vol. 159.— P. 871—880.
 10. Lamberg S.I., Diamond E.L., Lorincz A.L. et al. Mycosis fungoides cooperative study // *Arch. Dermatol.*— 1975.— Vol. 111.— P. 3.
 11. Lutzner M.A., Emerit I., Durepaire R. et al. Cytogenetic, cytophotometric, and ultrastructural study of large cerebriform cells of the Sezary syndrome and description of a small-cell variant // *J. Nat. Cancer Inst.*— 1973.— Vol. 50.— P. 1145—1162.
 12. Lutzner M.A., Hobbs J.W., Horvath P. Ultrastructure of abnormal cells: in Sezary syndrome, mycosis fungoides, and parapsoriasis en plaque // *Arch. Dermatol.*— 1971.— Vol. 103.— P. 375—386.
 13. Machteld M.T., Tracey J.M., Lisa H., Sean J.W., Leonie S.T., Susan J. Lack of suppressive CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ T-cells in advanced stages of primary cutaneous T-cell Lymphoma.
 14. Massone C., Crisman G., Kerl H. et al. The prognosis of early mycosis fungoides is not influenced by phenotype and T-cell clonality // *Br. J. Dermatol.*— 2008.— Vol. 159.— P. 881—886.
 15. Olsen E., Vonderheid E., Pimpinelli N. et al. Revisions to the staging and classification of mycosis fungoides and Sezary syndrome: a proposal of the International Society for Cutaneous Lymphomas (ISCL) and the cutaneous lymphoma task force of the European Organization of Research and Treatment of Cancer (EORTC) // *Blood.*— 2007.— Vol. 110.— P. 1713—1722.
 16. Rapp G., Muche J.M., Abken H. et al. CD4(+)CD7(-)T-cells compose the dominant T-cell clone in the peripheral blood of patients with Sezary syndrome // *J. Am. Acad. Dermatol.*— 2001.— Vol. 44.— P. 456—461.
 17. Scala E., Carbonari M., Del Porto P., Cibati M., Tedesco T., Mazzone A.N., Paganelli R., Fiorilli M. LAG-3 expression and IFN- γ production are variably coregulated in different human T lymphocyte subpopulations // *J. Immunol.*— 1998.— Vol. 161.— P. 489—493.
 18. Scarisbrick J.J., Whittaker S., Evans A.V. et al. Prognostic significance of tumor burden in the blood of patients with erythrodermic primary cutaneous T-cell lymphoma // *Blood.*— 2001.— Vol. 97.— P. 624—630.
 19. Schechter G.P., Sausville E.A., Fischmann A.B. et al. Evaluation of circulating malignant cells provides prognostic information in cutaneous T cell lymphoma // *Blood.*— 1987.— Vol. 69.— P. 841—849.
 20. Taswell H.F., Winkelmann R.K. Sezary syndrome—a malignant reticulocytic erythroderma // *JAMA.*— 1961.— Vol. 177.— P. 465—472.
 21. Van der Loo E.M., Cnossen J., Meijer C.J. Morphological aspects of T-cell subpopulations in human blood: characterization of the cerebriform mononuclear cells in healthy individuals // *Clin. Exp. Immunol.*— 1981.— Vol. 43.— P. 506—516.
 22. Wang S., Li N., Heald P. et al. Flow cytometric DNA ploidy analysis of peripheral blood from patients with sezary syndrome: detection of aneuploid neoplastic T-cells in the blood is associated with large cell transformation in tissue // *Am. J. Clin. Pathol.*— 2004.— Vol. 122.— P. 774—782.
 23. Willemze R., Jaffe E.S., Burg G. et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas // *Blood.*— 2005.— Vol. 105.— P. 3768—3785.
 24. Wolfram S., Volker M. CD4⁺ cutaneous T-cell lymphoma show the phenotype of helper/inducer T cells (CD45RA⁻, CDw29⁺).

Л.М. Хамаде

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ

Зміни в периферичній крові у пацієнтів з грибоподібним мікром на ранніх стадіях захворювання

Мета роботи — вивчити зміни в периферичній крові у хворих на грибоподібний мікром на ранніх стадіях захворювання.

Матеріали та методи. Шкірні Т-клітинні лімфоми головним чином представлені грибоподібним мікром (ГМ) та його лейкоцичним варіантом — синдромом Сезарі. В останні роки було визнано, що зміни в периферичній крові у хворих з грибоподібним мікром є окремим прогностичним фактором, що впливає на вибір тактики лікування і визначення стадії захворювання. Однак даних про специфіку таких змін периферичної крові на ранніх стадіях грибоподібного мікром практично немає. За допомогою методу проточної цитометрії проведено ретроспективний аналіз результатів дослідження зразків крові пацієнтів з грибоподібним мікром.

Вивчено 47 результатів проточної цитометрії зразків крові 5 пацієнтів з грибоподібним мікром у порівнянні з результатами 18 здорових добровольців. У дослідженні використано панель моноклональних антитіл для визначення рівня різних субпопуляцій Т-лімфоцитів.

Результати та обговорення. Виявлено статистично значуще збільшення співвідношення рівня CD3⁺CD4⁺ і CD3⁺CD8⁺ Т-клітин, яке змінювалося залежно від стадії захворювання і було суттєво більшим, ніж у здорових добровольців.

Представлено велику кількість даних про змінену експресію кластерів диференціації в клітинах пухлини при ГМ. Також це захворювання на пізніх стадіях супроводжується більше вираженими змінами в периферичній крові. Виявлені зміни в периферичній крові пацієнтів з ГМ на стадіях IA і IB можуть допомогти у визначенні стадії захворювання та виборі оптимальної тактики лікування.

Висновки. Результати досліджень свідчать про зміни в периферичній крові хворих на грибоподібний мікром. Ці зміни стають більш значущими в динаміці прогресування захворювання. Основними виявами захворювання на стадіях IA та IB є порушення співвідношення CD3⁺CD4⁺ та CD3⁺CD8⁺-клітин, яке відрізняється навіть між цими стадіями. Проточна цитометрія дає змогу з великою точністю визначати такі зміни, що варто враховувати під час вибору тактики лікування та визначення стадії захворювання у хворих на грибоподібний мікром.

Ключові слова: грибоподібний мікром, рання стадія, проточна цитометрія, периферична кров, співвідношення CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺.

L.M. Hamadeh

O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv

Changes in peripheral blood of patients with mycosis fungoides at early stages of disease

Objective – to study changes in the peripheral blood of patients with mycosis fungoides at the early stages of the disease.

Materials and methods. Cutaneous T cell lymphomas are primarily presented by mycosis fungoides (MF) and its leukemic variant, Sezary syndrome. In recent years, it was recognized, that changes in the peripheral blood of MF patients are a separate prognostic factor that affects the tactics of treatment and the staging of the disease. However, there are almost no data about the specifics of such peripheral blood changes at early stages of MF. A retrospective study of blood samples of patients with mycosis mycosis was conducted by means of flow cytometry method.

We studied 47 results of flow cytometry of blood samples from five patients with MF and compared them with the results from 18 healthy volunteers. During the research, we used the flow cytometry results where panel of monoclonal antibodies was used to determine the level of different subpopulations of T-lymphocytes.

Results and discussion. We found a statistically significant increase in the CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ T cells ratio, which varied depending on the stage of the disease and was significantly greater than in healthy volunteers.

There is a large amount of data about altered expression of differentiation clusters in tumor cells at MF. In addition, the disease in the later stages is accompanied by more pronounced changes in the peripheral blood. We have identified changes in the peripheral blood of patients with MF of IA and IB stages, which can assist in the staging of the disease and selecting optimal treatment strategies.

Conclusions. The results of the survey indicate changes in the peripheral blood of patients with mycosis fungoides. These changes become more significant with the progression of the disease. The main manifestation of the disease at stages IA and IB is a violation of the ratio of CD3⁺CD4⁺ and CD3⁺CD8⁺ cells, which is different at these stages. Flow cytometry helps to determine the presence of such changes with great accuracy, which should be taken into consideration when selecting the strategy of treatment and determining the stage of disease in patients with mycosis fungoides.

Key words: mycosis fungoides, early stage, flow cytometry, peripheral blood, CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ ratio.

Дані про автора:

Хамаде Луай Мустафа, аспірант кафедри дерматології та венерології
Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
01601, м. Київ, бульв. Т. Шевченка, 13
E-mail: dvk2@ukr.net