

# Białaczki z dużych ziarnistych limfocytów T i komórek naturalnej cytotoksyczności

## Leukemias of T-cell large granular lymphocytes and natural killers

Bożena Katarzyna Budziszewska

Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa  
 Klinika Hematologii i Transfuzjologii, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

### Streszczenie

*Białaczki z dużych ziarnistych limfocytów (LGL) obejmują biologicznie heterogenną grupę rzadkich nowotworów układu chłonnego wywodzących się z limfocytów T (T-LGL) lub z komórek naturalnej cytotoksyczności (NK-LGL). Wydaje się, że białaczka T-LGL powstaje w wyniku długotrwałej stymulacji antygenowej, a przeżycie komórek LGL jest związane ze stałą aktywacją antyapoptotycznych szlaków wewnątrzkomórkowych JAK/STAT, RAS/RAF/MEK/ERK, sfingolipidów i szlaków zewnątrzkomórkowych, takich jak FAS/FASL. Przebieg kliniczny może być różny — indolentny lub agresywny. U większości pacjentów występują objawy kliniczne pod postacią cytopenii, organomegalii o różnym nasileniu, często ze współistniejącymi chorobami autoimmunizacyjnymi, zwłaszcza reumatoidalnym zapaleniem stawów. Podstawą współczesnej diagnostyki białaczek LGL są cytometria przepływową oraz badanie rearanzacji genów kodujących receptor T-komórkowy. Większość pacjentów wymaga leczenia ze względu na ciężką powiklaną zakażeniami neutropenię. Terapia jest oparta na leczeniu immunosupresyjnym; lekiem z wyboru w I linii jest metotreksat lub cyklofosfamid. Dotychczas nie opracowano standardów postępowania w białaczce T-LGL. Przewlekłe białaczki T/NK-LGL mają charakter indolentny o korzystnym rokowaniu, natomiast białaczki agresywne T/NK-LGL są gwałtownie przebiegającymi chorobami o złym rokowaniu.*

**Słowa kluczowe:** duże ziarniste limfocyty T, komórki naturalnej toksyczności, białaczka, choroby autoimmunizacyjne

**Hematologia 2015; 6, 2: 155–167**

### Abstract

*Leukemias of large granular lymphocytes (LGL) include a heterogeneous group of rare lymphoid malignancies derived from T cells (T-LGL) and natural killers (NK-LGL) T-LGL leukemia arises from long-term antigen stimulation and the survival of LGL cells is associated with constitutive activation of anti-apoptotic intracellular pathways JAK/STAT, RAS/RAF/MEK/ERK, sphingolipids and extracellular FAS/FASL. The clinical course may be indolent or aggressive where majority of patients present clinical symptoms such as cytopenia, organomegaly and underlying autoimmune diseases; particularly rheumatoid arthritis. Diagnosing LGL leukemia is based on flow cytometry and T-cell receptor gene rearrangement. Most patients also require treatment for severe neutropenia complicated infections. T-LGL leukemia therapy is mainly immunosuppressive; the drug of*

**Adres do korespondencji:** Bożena Katarzyna Budziszewska, Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, ul. Indiry Gandhi 14, 02–776 Warszawa, tel.: 22 34 96 299, e-mail: kbudziszewska@ihit.waw.pl

*choice in the first line is methotrexate or cyclophosphamide but there are no established standards for treating LGL leukemia. Both chronic T/NK-LGL leukemias exhibit an indolent clinical course with a favorable prognosis, whereas aggressive T/NK-LGL leukemias are progressive diseases with poor prognosis.*

**Key words:** large granular lymphocytes, natural killer cell, leukemias, autoimmune diseases

*Hematologia 2015; 6, 2: 155–167*

## Wprowadzenie

Białaczki z dużych ziarnistych limfocytów (LGL, *large granular lymphocytes*) należą do rzadkich nowotworów układu chłonnego wywodzących się z limfocytów T (T-LGL) lub z komórek naturalnej cytotoksyczności (NK-LGL). Jest to heterogenna grupa schorzeń stanowiąca 2–3% białaczek z małych limfocytów. Zgodnie z klasyfikacją Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) wyróżnia się T-LGL o przebiegu indolentnym lub agresywnym, przewlekłe choroby limfoproliferacyjne z komórek NK (CLPD-NK, *chronic lymphoproliferative disorders of NK cells*) i agresywną białaczkę NK-LGL. Najczęstszą postacią, stanowiącą 85% przypadków klonalnych chorób LGL, jest białaczka T-LGL [1, 2].

U zdrowych osób duże ziarniste limfocyty T stanowią 10–15% jednojądrzastych komórek krwi obwodowej, tj. 0,1–0,3 G/l, i dzielą się na dwie populacje: dojrzałych, grasiczych cytotoksycznych limfocytów T CD8+CD3+ oraz komórek NK CD8+CD3– zdolnych do niszczenia komórek nowotworowych, komórek zakażonych przez wirusy lub wykazujących ekspresję allogenicznych antygenów głównego układu zgodności tkankowej [3]. W warunkach prawidłowej odpowiedzi na obecność patogenu następuje proliferacja dużych ziarnistych limfocytów T. Niekiedy jednak w odpowiedzi na stymulację antygenową proliferacja poliklonalnych cytotoksycznych limfocytów T CD8+ może być nadmierna i przedłużona, co prowadzi do przejściowej, odczynowej limfocytozy T-LGL. Opisano ją w przebiegu ostrych zakażeń, chorób autoimmunizacyjnych oraz powszechnego zmiennego niedoboru odporności (CVID, *common variable immunodeficiency*) [1, 4–6]. Reaktywna limfocytoza T-LGL powinna ulec normalizacji samoistnie lub w wyniku zastosowanej terapii choroby podstawowej w ciągu 6 miesięcy. Jeśli trwa dłużej niż 6 miesięcy, to rozpoznaje się przewlekłą limfocytozę T-LGL [1, 3].

Zarówno w przebiegu prawidłowych, jak i patologicznych odpowiedzi immunologicznych wśród

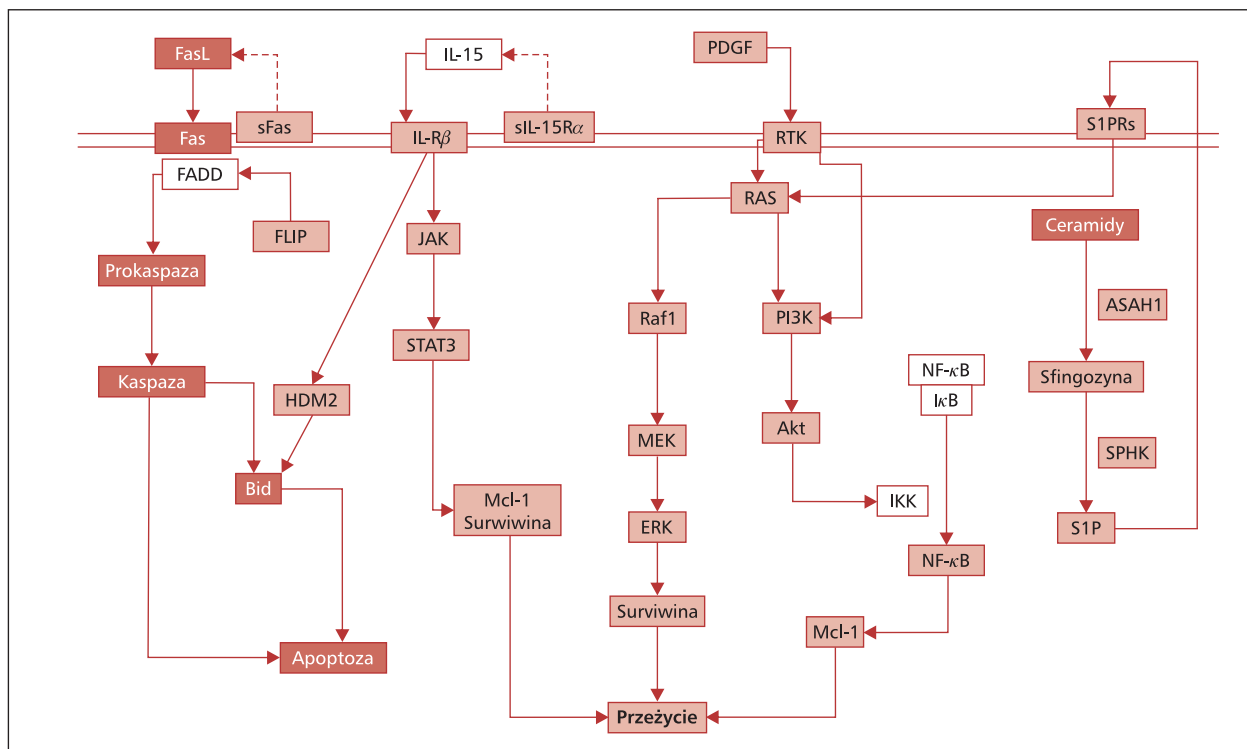
T-LGL mogą się pojawić również komórki klonalne CD8+CD3+, co określa się jako oligoklonalną lub monoklonalną limfocytozę T-LGL. Monoklonalna limfocytoza może być reakcją na obecność choroby autoimmunizacyjnej, infekcji wirusowych, przebytej splenektomii, przeszczepienie allogenicznych krwiotwórczych komórek macierzystych (allo-HSCT, *allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*) lub innych transplantacji narządowych [7–12]. Co więcej, przewlekła klonalna limfocytoza CD8+CD3+ występuje u osób starszych i nigdy nie rozwija się w białaczkę T-LGL [11, 13], choć fenotypowo komórki te nie różnią się od komórek białaczkowych [14]. Taka nienowotworowa proliferacja jest niekiedy określana jako stan przednowotworowy lub „klonopatia T-komórkowa o nieustalonym znaczeniu” (TCUS, *T-cell clonopathy of undetermined significance*), analogicznie do gammapatii monoklonalnej o nieustalonym znaczeniu (MGUS, *monoclonal gammopathy of undetermined significance*) [15, 16]. W monoklonalnej limfocytozie TCUS, w przeciwieństwie do klasycznej białaczki T-LGL, nie występują objawy kliniczne ani inne zmiany w badaniu morfologicznym krwi.

## Białaczka z dużych ziarnistych limfocytów T

Białaczkę z dużych ziarnistych limfocytów T opisano w 1985 roku jako klonalną chorobę obejmującą szpik kostny i śledzionę [17], która może wystąpić w każdym wieku, nawet u dzieci, ale najczęściej chorują na nią osoby starsze około 60. roku życia. Średni okres pojawienia się objawów od momentu postawienia diagnozy to 37 miesięcy, a średni czas przeżycia pacjentów z białaczką T-LGL przekracza 10 lat [18–21].

## Etiopatogeneza

Istnieje kilka hipotez dotyczących etiologii chorób nowotworowych wywodzących się z LGL. Jedną z nich jest przewlekła stymulacja przez antygeny wirusowe, takie jak: ludzki wirus limfotropowy (HTLV-I, *human T-cell lymphotropic virus type I*)



**Rycina 1.** Sieć wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych biorących udział w patogenezie białaczki z dużych ziarnistych limfocytów T; nadregulowane i stale aktywne przekaźniki zaznaczono jasnym kolorem, sygnały hamujące — ciemnym kolorem, a na biało — przekaźniki, których status jest niezmienny lub nie do końca poznany (wg [27]); ASAH — kwaśna ceramidaza; ERK — extracellular signal-regulated kinase; FasL — ligand Fas; IL — interleukina; MEK — kinaza białkowa aktywowana mitogenem; NF- $\kappa$ B — czynnik transkrypcyjny NF kappa B; PDGF — płytkopochodny czynnik wzrostu; Pi3k — kinaza-3-fosfatydyloinozytolu; RTK — receptor kinazy tyrozynowej; S1P — fosforan sfingozyny 1; sFas — rozpuszczalny Fas

**Figure 1.** The signaling network underlying large granular lymphocytes T-cell leukemia pathogenesis. Up-regulated or constitutively active nodes are highlighted in light color; down-regulated or inhibited signals are in dark color; the states of with the nodes are unknown or unchanged compared with normal (acc. to [27]); ASAH — acid ceramidase; ERK — extracellular signal-regulated kinase; FasL — Fas ligand; IL — interleukin; MEK — mitogen-activated protein kinase; NF- $\kappa$ B — nuclear factor kappa B; PDGF — platelet-derived growth factor; Pi3k — phosphatidylinositol 3 kinase; RTK — receptor tyrosine kinase; S1P — sphingosine-1-phosphate; sFas — soluble Fas

lub autoantygeny, która prowadzi do aktywacji i klonalnej ekspansji cytotoksycznych limfocytów T CD8+. U większości pacjentów wykazano obecność białka env p21e (BA 21) pochodzącego z otoczki wirusa HTLV-I [22–25].

Istotnym mechanizmem uczestniczącym w patogenezie chorób wywodzących się z T-LGL jest zahamowanie apoptozy. Jak wcześniej wspomniano, podczas infekcji lub jakiegokolwiek stymulacji antygenowej dochodzi do gwałtownej proliferacji T-LGL, a ich liczba może się zwiększyć nawet 50 tys. razy. Po eliminacji antygeny komórki te są niszczone w mechanizmie tak zwanej aktywacji wywołującej śmierć komórki (AICD, *activation-induced cell death*). Jednak w białaczkowych komórkach T-LGL proces ten nie przebiega prawidłowo

i limfocyty T nie ulegają apoptozie. Istotną rolę odgrywają w nim liczne wewnątrzkomórkowe antyapoptotyczne szlaki sygnałowe ulegające aktywacji, co umożliwia przeżycie komórki. Należą do nich szlaki: JAK2/STAT3, RAS/RAF/MEK/ERK i SFK/PI3K/Akt oraz sfingolipidy [26, 27]. Sieć wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych biorących udział w patogenezie białaczki T-LGL przedstawiono na rycinie 1.

Wydaje się, że najistotniejszym czynnikiem warunkującym proliferację LGL, występującym u prawie wszystkich pacjentów, jest obecność aktywnej formy STAT3 — czynnika transkrypcyjnego szlaku sygnałowego JAK/STAT, który kontroluje proliferację i apoptozę wielu komórek, jak również procesy angiogenezy i odpowiedzi

immunologicznej. Przetrwala aktywacja STAT3, między innymi przy udziale interleukiny 6 (IL-6), jest odpowiedzialna za proliferację limfocytów T poprzez zahamowanie apoptozy niezależnej od BCL-2 [28]. U 40% pacjentów z białaczką T-LGL przyczyną stałej aktywacji czynnika transkrypcyjnego STAT3 jest obecność somatycznych mutacji genu *STAT3*, ale również inne mutacje takich genów, jak *PTPRT*, *BCL11B*, *SLIT2* i *NRP1*, które mogą być związane z aktywacją STAT3 [29, 30]. Stwierdzenie somatycznych mutacji, zwłaszcza genu *STAT3*, może stanowić istotne narzędzie w różnicowaniu „prawdziwej” białaczki T-LGL i odczynowej monoklonalnej limfocytozy T-LGL. Ponadto specyficzne inhibitory STAT3, takie jak na przykład OPB-3112 [31], wprowadzane do badań klinicznych w leczeniu innych nowotworów hematologicznych mogą się stać również terapią celowaną w białaczkę T-LGL [29].

Białaczkowe komórki T-LGL są także odporne na apoptozę zależną od szlaku sygnałowego FAS/ligand FAS (FAS/FASL, *Fas ligand*). W warunkach fizjologicznych interakcja FASL i jego receptora powoduje aktywację szlaków apoptotycznych poprzez tworzenie kompleksu sygnałowego indukującego śmierć komórki (DISC, *death-inducing signaling complex*) w procesie AICD. W komórkach T-LGL stwierdzono nadekspresję białek hamujących kompleks DISC oraz obecność rozpuszczalnego receptora FAS (sFAS, *soluble FAS*), co prowadzi do zahamowania apoptozy za pośrednictwem tego szlaku, mimo wysokiej ekspresji powierzchniowego receptora FAS/FASL oraz nieobecności mutacji genu receptora *FAS* [32, 33]. Upośledzenie zależnej od Fas śmierci komórki przyczynia się do rozwoju białaczki T-LGL.

W komórkach białaczkowych T-LGL stwierdzono również stałą aktywację antyapoptotycznych szlaków sygnałowych RAS/RAF/MEK/ERK, PI3K/AKT i związanego z nimi czynnika transkrypcyjnego kappi B (NF- $\kappa$ B, *nuclear factor kappa B*), co prowadzi do zahamowania apoptozy i zwiększenia przeżywalności monoklonalnych limfocytów T [27].

Jako nadrzędne przekaźniki dla tych szlaków sygnałowych zidentyfikowano interleukinę 15 (IL-15) i płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF, *platelet-derived growth factor*). Interleukina 15, należąca do rodziny IL-2, powoduje ekspresję białek rodziny BCL-1 (BCL-2 i BCL-XL) i, poprzez aktywację szlaków sygnałowych, podtrzymuje populację zarówno prawidłowych komórek pamięci CD8+ i komórek NK, jak i białaczkowych komórek T-LGL [13, 34]. Wykazano, że podjednostka rozpuszczalnego receptora IL-15R $\alpha$  ma regulujący wpływ na

komórki jednojądrzaste krwi obwodowej pacjentów z białaczką T-LGL. Wyższy poziom ekspresji IL-15R $\alpha$  prowadzi do obniżenia progu odpowiedzi na IL-15, a w konsekwencji — do znacznie większej proliferacji komórek białaczkowych T-LGL pod wpływem egzogennej IL-15, w porównaniu z komórkami prawidłowymi [35]. Płytkopochodny czynnik wzrostu jest najsilniejszym czynnikiem wzrostu dla komórek T i NK w białaczkę T/NK-LGL. Obok IL-15 odgrywa kluczową rolę w patogenezie w białaczkę T-LGL, regulując przeżywalność komórek poprzez szlaki sygnałowe PI3K-AKT i MEK/ERK [36].

W patogenezie białaczki T-LGL uczestniczą również sfingolipidy odgrywające znaczącą rolę w procesach proliferacji, apoptozy i migracji komórek. O losie komórki decyduje nie tyle ilość sfingolipidów, co równowaga między ceramidami proapoptotycznymi, takimi jak sfingozyna, a antyapoptotycznymi, takimi jak fosforan sfingozyny 1 (S1P- *sphingosine-1 phosphate*). Analiza molekularna ujawnia, że w komórkach białaczkowych T-LGL równowaga ta zostaje zaburzona na korzyść czynników antyapoptotycznych [37].

### Definicja

Białaczka z dużych ziarnistych limfocytów T charakteryzuje się obecnością przetrwałych (> 6 mies.) limfocytów T-LGL, których liczba we krwi obwodowej wynosi 2–20 G/l [2]. Należy jednak podkreślić, że 25–30% u pacjentów z nowo zdiagnozowaną chorobą liczba T-LGL wynosi mniej niż 0,5 G/l, a według Prochorec i wsp. ponad połowa chorych na białaczkę T-LGL i chorobę autoimmunizacyjną nie spełniała ilościowego kryterium rozpoznania dotyczącego liczby T-LGL, co interpretowano jako klonalną reakcję na chorobę podstawową [38, 39]. Obecnie, w dobie badań molekularnych, białaczkę T-LGL rozpoznaje się nawet w przypadku stwierdzenia klonalnej limfocytozy T-LGL między 0,4 a 2 G/l, jeśli towarzyszą jej objawy kliniczne i/lub inne zmiany morfologiczne krwi [38, 40].

### Objawy kliniczne

W przebiegu klinicznym białaczki T-LGL dominuje limfocytoza T-LGL, jak wspomniano, nawet do 20 G/l ze współistniejącą neutropenią, w 50% przypadków ciężką, z liczbą neutrofilii poniżej 0,5 G/l. U około połowy pacjentów występuje niedokrwistość, a u 5–35% z nich może być zależna od przetoczeń koncentratu krwinek czerwonych (kkc). U 20% chorych występuje małopłytkowość. Cytopenii może towarzyszyć splenomegalia i hepatomegalia, rzadziej limfadenopatia. Typowym

**Tabela 1.** Częstość występowania objawów klinicznych u pacjentów z białaczką z dużych ziarnistych limfocytów T (źródło [4])**Table 1.** The incidence of clinical symptoms in patients with leukemia of T-cell large granular lymphocytes (source [4])

Objawy	Częstość występowania (%)
Neutropenia	65–85
Przewlekła niedokrwistość	20–60
Splenomegalia	15–56
Hepatomegalia	50
Objawy ogólne	20–40
Nawracające infekcje bakteryjne	10–20

objawem są nawracające infekcje bakteryjne, dotyczące głównie skóry, śluzówek i układu oddechowego. Część pacjentów zgłasza objawy ogólne pod postacią zmęczenia, wzmożonej potliwości nocnej, stanów podgorączkowych i zmniejszenia masy ciała [1, 3, 4, 41]. Częstość występowania objawów klinicznych przedstawiono w tabeli 1.

U pacjentów z białaczką T-LGL często są obecne dodatnie odczyny serologiczne, co wiąże się ze współistnieniem chorób autoimmunizacyjnych. W tabeli 2 przedstawiono nieprawidłowości serologiczne spotykane u pacjentów z białaczką T-LGL [3, 16, 42].

Do najczęściej występujących chorób autoimmunizacyjnych u pacjentów z klonalnymi chorobami limfocytów T-LGL należą reumatoidalne zapalenie stawów (RA, *rheumatoid arthritis*) (25–30%) i zespół Felty’ego (40%) [43–45]. Opisano przypadki białaczki T-LGL z towarzyszącym zespołem Evansa, zespołem Sjögrena, zapaleniem tarczycy typu Hashimoto, chorobą Gravesa-Basedowa, zespołem Cushinga, nadczynnością przytarczyc, stwardnieniem rozsianym, wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego, łuszczycą oraz nawracającym zapaleniem naczyń [1, 3, 7, 16, 21]. Niedokrwistość, małopłytkowość i neutropenia występujące u pacjentów z białaczką T-LGL mają również komponentę immunologiczną związaną z obecnością przeciwciał [41].

Białaczka T-LGL jest również najczęstszą przyczyną wybiórczej aplazji czystoczerwono-krwinkowej (PRCA, *pure red cells aplasia*) u dorosłych i występuje u 8–19% pacjentów [3, 46, 47]. Dlatego ocena obecności klonalnych limfocytów T-LGL powinna być rutynowo przeprowadzona u pacjentów z PRCA, nawet jeśli istnieją inne przyczyny aplazji, takie jak infekcja parwowirusem

**Tabela 2.** Nieprawidłowości biochemiczne i serologiczne oraz częstość ich występowania u pacjentów z białaczką z dużych ziarnistych limfocytów (źródła [3, 16, 42])**Table 2.** Biochemical and serological abnormalities and their prevalence in patients with large granular lymphocytes leukemia (sources [3, 16, 42])

Nieprawidłowości biochemiczne i serologiczne	Częstość występowania (%)
Podwyższone stężenie $\beta_2$ -mikroglobuliny	70
Czynnik reumatoidalny (RF, <i>rheumatoid factor</i> )	61
Przeciwciała przeciwjądrowe	44
Hipergammaglobulinemia poliklonalna	38
Podwyższona aktywność LDH	33
Przeciwciała przeciwplytkowe	25
Przeciwciała przeciwgranulocytarne	20
Gammapatia monoklonalna	15
Dodatni odczyn Coombsa	14
Krążące kompleksy immunologiczne	BD

LDH (*lactate dehydrogenase*) — dehydrogenaza mleczanowa; BD — brak danych

B19 (PV B19) czy grasiczak. Infekcja PV B19 znacznie szybciej rozwija się u pacjentów z białaczką T-LGL [48, 49]. Wydaje się, że niszczenie prekursorów krwinek czerwonych przez cytotoksyczne limfocyty T odgrywa główną rolę w mechanizmie rozwoju PRCA u tych chorych [3, 7]. Białaczkę T-LGL opisywano również u pacjentów z anemią aplastyczną i zespołem mielodysplastycznym [16, 50, 51]. Przetrwiała stymulacja antygenowa prowadząca do proliferacji klonalnych komórek T-LGL może być również czynnikiem patogenetycznym nowotworów B-komórkowych, takich jak: chłoniaki z małych limfocytów B, białaczka włochatokomórkowa, chłoniak limfoplazmocytowy, szpiczak plazmocytowy, chłoniaki strefy brzeżnej, chłoniak Hodgkina [52–54]. Volkheimer i wsp. [55] wykazali, że u 18% chorych na białaczkę T-LGL rearanżacji genów kodujących receptor T-komórkowy (TCR, *T-cell receptor*) towarzyszą rearanżacje genów kodujących części zmienne łańcuchów lekkich kappa i lambda immunoglobulin, świadczące o monoklonalności limfocytów B.

### Badania diagnostyczne

Podstawą współczesnej diagnostyki klonalnych chorób T-LGL są badania immunofenoty-

**Tabela 3.** Charakterystyka immunofenotypowa prawidłowych i nowotworowych dużych ziarnistych limfocytów T i komórek naturalnej cytotoxyczności**Table 3.** Immunophenotyping characteristics of normal and leukemic T-cell large granular lymphocytes and natural killers

Typ białaczki	Immunofenotyp
Prawidłowe limfocyty T-LGL	CD2+ CD3+ CD4- CD5+ CD7+ CD8+ CD16- CD56- TCR $\alpha\beta$ + TCR $\gamma\delta$ -
Białaczka T-LGL:	
• postać indolentna	CD3+ TCR $\alpha\beta$ + CD8+ CD57+ CD16+
• postać agresywna	CD3+ TCR $\alpha\beta$ + CD8+ CD56+ CD16+
Agresywna białaczka NK-LGL	CD3- CD56+ CD16+
Przewlekła limfocytoza z komórek NK	CD3- CD56+ CD16+

TCR (T-cell receptor) — receptor T-komórkowy; T-LGL (leukemia of T-cell large granular lymphocytes) — białaczka z dużych ziarnistych limfocytów T; NK-LGL (leukemia of natural killers large granular lymphocytes) — białaczka z dużych ziarnistych limfocytów naturalnej cytotoxyczności

powe metodą cytometrii przepływowej i badania molekularne potwierdzające klonalną rearanżację TCR. Różnicowanie na podstawie badania morfologicznego reaktywnych, łagodnych komórek LGL od białaczkowych jest niemożliwe. W ocenie morfologicznej rozmazu krwi obwodowej i szpiku widoczne są duże (średnica 15–18  $\mu\text{m}$ ), jednojądrzaste komórki z okrągłym, wypełnionym skondensowaną, dojrzałą chromatyną, jądrem oraz zwiększoną ilością błonniebieskiej cytoplazmy, w której są widoczne przypadkowo rozłożone, azurofilne ziarnistości. Jednak nie wszystkie komórki T-LGL mają typową morfologię i mogą nie zawierać ziarnistości [39, 56]. Trepanobiopsja szpiku kostnego ujawnia dyskretnie, słabo barwiące się hematoksyliną i eozyną śródmiąższowe i linijne wewnątrzatkowe nacieki z limfocytów T lub ich małe skupiska [17]. Loughran i wsp. [1, 19] uważają nawet, że biopsja szpiku kostnego nie jest konieczna w diagnozowaniu białaczki T-LGL. Jednak wprowadzenie badań immunohistochemicznych w diagnostyce proliferacji komórek T-LGL zdecydowanie poprawiło ich identyfikację i pozwoliło na wykrycie nacieków w szpiku kostnym u ponad 85% pacjentów [1, 17]. Stwierdzenie ekspresji CD3 i CD8 na tych limfocytach oraz obecność w ich cytoplazmie ziarnistości, w których wykrywa się takie markery, jak granzy B, TIA-1 (TIA-1, *T-cell intracellular antigen 1*) i perforynę, wydaje się specyficzne dla białaczki T-LGL [57, 58]. Niemniej jednak nie stwierdzono korelacji między wielkością nacieku komórek T-LGL w szpiku a stopniem cytopenii czy ciężkością objawów klinicznych [1].

Badanie immunofenotypowe metodą cytometrii przepływowej jest rekomendowaną metodą identyfikacji białaczkowych komórek T-LGL [1, 3]. Prawidłowe komórki T-LGL charakteryzują się fenotypem CD2+CD3+CD4-CD5+CD7+CD8+CD16-CD56- TCR $\alpha\beta$ + i TCR $\gamma\delta$ -. Komórki nowotworowe T-LGL mają również fenotyp doj-

rzałych komórek T lub NK, ale w 80% wykazują nieprawidłową ekspresję antygenów pan-T-komórkowych, na przykład CD5 czy CD7, oraz obecność antygenów komórek NK, takich jak CD16+ (w 80%) i CD57+ (100%) [19, 59, 60]. Antygen CD57 jest charakterystycznym markerem białaczki T-LGL, co sugeruje, że białaczkowe limfocyty T-LGL pochodzą z CD57(-) komórek T pamięci, które nabywają antygen CD57 jako komórki efektorowe [61]. Większość białaczkowych komórek wykazuje TCR $\alpha\beta$ +, a przypadki TCR $\gamma\delta$ + roją gorzej. Najpowszechniejsze immunofenotypy białaczek T-LGL i NK-LGL przedstawiono w tabeli 3 [1].

Zaburzenia cytogenetyczne w białaczce T-LGL występują jedynie w około 10% przypadków; mogą się pojawić aberracje chromosomalne, takie jak: inwersja 12p, 14q, delecja 5q, trisomie chromosomów 3, 8, 14 [1, 62].

Wykazanie monoklonalności limfocytów T-LGL stanowi jedno z podstawowych kryteriów rozpoznania proliferacji komórek T-LGL i polega na badaniu klonalności TCR. Receptor ten, obecny na powierzchni limfocyta T, jest glikoproteiną składającą się z dwóch łańcuchów polipeptydowych  $\alpha$  i  $\beta$ , a w mniej niż 10% przypadków są to łańcuchy  $\gamma$  i  $\delta$ . Jest on zdolny do swoistego rozpoznania antygeny, a w połączeniu z glikoproteiną CD3 nabywa zdolności przekazywania sygnału i aktywacji limfocyta T [63]. W okresie rozwoju i dojrzewania limfocytów T dochodzi do rearanżacji genów kodujących TCR, w wyniku czego powstają populacje limfocytów T z unikatową molekularną sekwencją nukleotydów. Ocenia się, że w wyniku rearanżacji może powstać nawet  $10^{18}$  unikatowych TCR [1, 64]. Nadmierna proliferacja jednej tylko populacji limfocytów T z jednakową rearanżacją TCR prowadzi do rozrostu monoklonalnego.

Klonalność komórek T-LGL jest rutynowo badana metodą reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*). Chociaż jej czu-

łość jest mniejsza niż metody *Southern blot* i wynosi 70–80%, to jest mniej czasochłonna i nie wymaga dużej ilości dobrego jakościowo DNA [63]. Klonalną rearanżację TCR można również potwierdzić, wykorzystując metodę cytometrii przepływową z użyciem przeciwciał monoklonalnych rozpoznających fragmenty łańcuchów  $\beta$  regionów zmiennych ( $V_{\beta}$ ) TCR. Czułość tej metody wynosi około 80% i jest porównywalna z czułością metody PCR [3]. Jej zaletą jest krótki czas, w jakim uzyskuje się potwierdzenie klonalności, i możliwość oceny podtypów łańcuchów  $V_{\beta}$ . Choć nie opisano specyficznych podtypów  $V_{\beta}$  związanych z białaczką T-LGL, to opisano częstsze występowanie podtypu  $V_{\beta} 6$  [65].

Komórki białaczkowe T-LGL wykazują również nieprawidłową ekspresję receptorów immunoglobulinopodobnych (KIR, *killer cell immunoglobulin-like receptors*), aktywujących komórki NK. Dzięki nim komórki NK rozpoznają antygeny zgodności tkankowej (MHC, *major histocompatibility complex*) I klasy i biorą udział w reakcji własnej tolerancji na antygeny. Z użyciem przeciwciał CD158 można wykazać ekspresję monoklonalnych receptorów KIR u ponad połowy pacjentów z białaczką T-LGL [66–68].

W różnicowaniu białaczki T-LGL należy uwzględnić białaczkę włochatokomórkową, ubogokomórkową postać ostrej białaczki limfoblastycznej, anemię aplastyczną, hipoplastyczny zespół mielodysplastyczny, nocną napadową hemoglobinurię i immunologiczną agranulocytozę.

## Leczenie

Nie ma standardów leczenia białaczki T-LGL. Ze względu na rzadkie występowanie tych chorób prowadzenie badań prospektywnych jest trudne. Większość danych pochodzi z badań retrospektywnych i licznych opisów przypadków. Największe opublikowane retrospektywne badanie Bateau i wsp. [20] obejmowało grupę 229 pacjentów leczonych w latach 1999–2007 w 35 ośrodkach we Francji. Przedstawiono w nim kliniczną i biologiczną charakterystykę pacjentów z białaczkami T/NK-LGL oraz wyniki odpowiedzi na zastosowane leczenie (opisane poniżej przy omawianiu poszczególnych rodzajów terapii).

Ze względu na patogenezę choroby terapią podstawową pozostaje leczenie immunosupresyjne. Leki immunosupresyjne stosuje się w monoterapii lub w skojarzeniu. Zarówno białaczka T-LGL, jak i białaczka z komórek NK zwykle ma przewlekły przebieg kliniczny. Schemat postępowania przedstawiono na rycinie 2.

U pacjentów bez objawów najlepszym postępowaniem jest obserwacja (*watch and wait*). Wskazaniami do leczenia są:

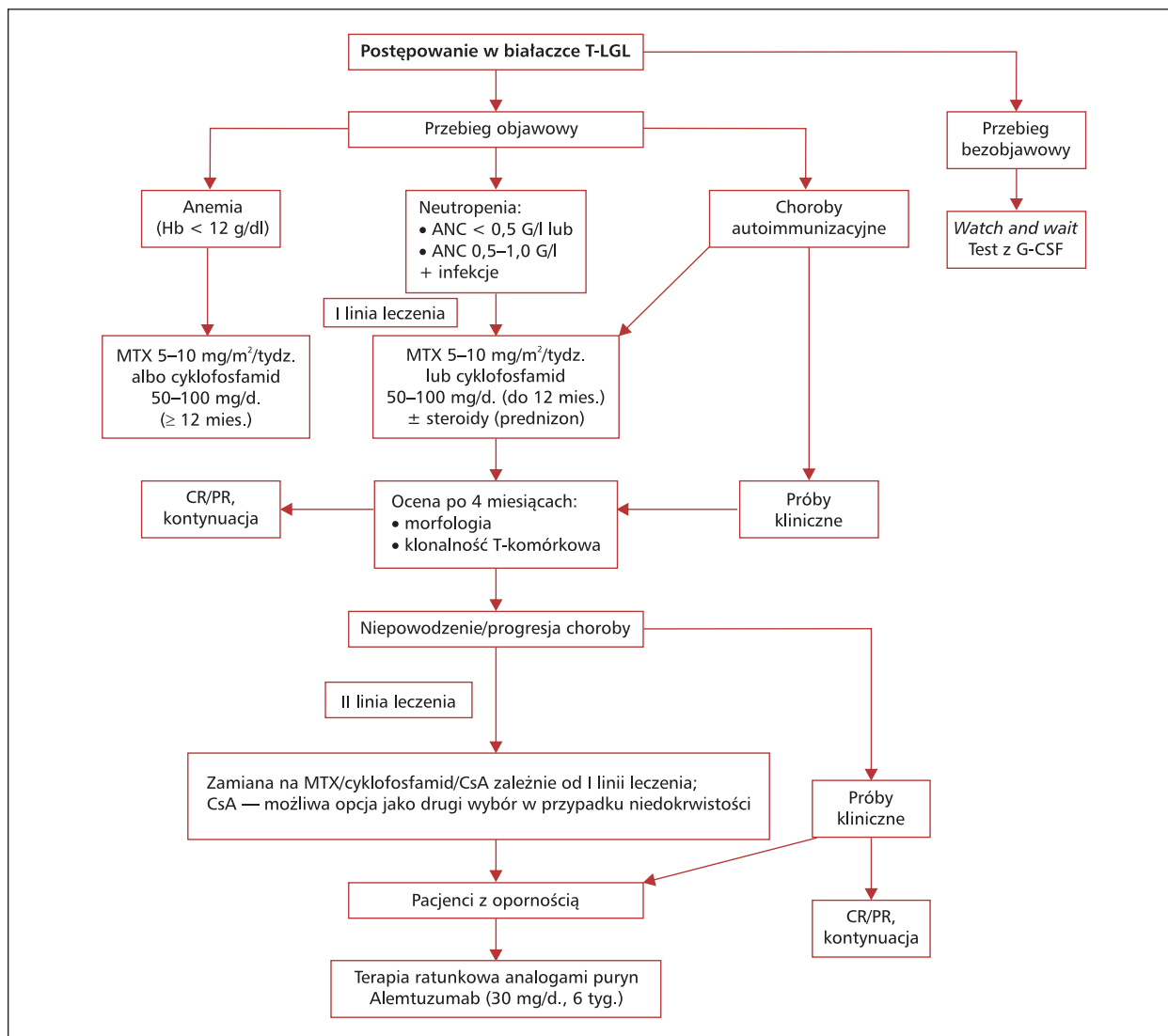
- ciężka neutropenia (bezwzględna liczba neutrofilów [ANC, *absolute neutrophil count*] < 0,5 G/l);
- umiarkowana neutropenia (ANC 0,5–1,0 G/l) z nawracającymi infekcjami;
- objawowa lub wymagająca przetoczeń kkcw niedokrwistość;
- współistniejące choroby autoimmunizacyjne wymagające leczenia, najczęściej RA.

## Leczenie immunosupresyjne

Metotreksat (MTX, *methotrexate*) jest lekiem I linii w białaczce T-LGL; zalecana dawka to 5–10 mg/m<sup>2</sup> powierzchni ciała raz w tygodniu [41, 69]. W badaniu Bateau i wsp. [20] odsetek wszystkich odpowiedzi u chorych na T/NK-LGL leczonych MTX wynosił 55%, a czas do uzyskania odpowiedzi — 2–12 tygodni. Niestety, u znaczącego odsetka chorych obserwowano nawrót choroby w trakcie terapii, a neutropenia pojawiała się ponownie nawet u pacjentów, którzy uzyskali całkowitą remisję molekularną [20]. Czas leczenia MTX nie został zdefiniowany. Wiadomo, że u pacjentów, którzy nie uzyskują przynajmniej częściowej odpowiedzi po 4 miesiącach, leczenia nie należy kontynuować. Natomiast u chorych z częściową lub całkowitą odpowiedzią, którzy dobrze tolerują MTX, leczenie należy prowadzić przez czas nieokreślony, do wystąpienia nawrotu/progresji choroby lub toksyczności MTX. W trakcie leczenia MTX należy przede wszystkim monitorować czynność wątroby i płuc [70].

Cyklofosfamid (Cy) jest stosowany w monoterapii u pacjentów z białaczkami T i NK, w dawce 50–100 mg/dobę doustnie — szczególnie w przypadkach ze współistniejącą PRCA [40, 41, 71]. W badaniu Bateau i wsp. [20] łączny odsetek odpowiedzi był nawet większy niż w przypadku MTX i wynosił 65%. Warto odnotować, że 11 z 15 pacjentów, którzy nie zareagowali na leczenie MTX, uzyskało odpowiedź po podaniu Cy [20]. Lamy i wsp. [41] uważają, że leczenie I linii za pomocą Cy można prowadzić do 6 lub 12 miesięcy u chorych, u których uzyskuje się odpowiedź.

Cyklosporyna A (CsA) może być lekiem alternatywnym dla MTX i Cy w leczeniu I linii, zwłaszcza u pacjentów z niedokrwistością lub PRCA oraz u pacjentów z ekspresją antygeny HLA DR4, który obserwuje się u 32% osób z białaczką T-LGL i 90% chorych ze współistniejącym RA. Jednak większość autorów proponuje CsA jako II linię leczenia, ponieważ nie powoduje ona eradykacji komórek białaczkowych. Odsetek odpowiedzi jest bardzo różny w poszczególnych badaniach i nierzadko w trakcie terapii dochodzi do utraty odpowiedzi [20, 40, 41, 69, 71–73].



**Rycina 2.** Schemat postępowania u pacjentów z białaczką z dużych ziarnistych limfocytów T (T-LGL); Hb — hemoglobina; ANC — bezwzględna liczba neutrofilii; MTX — metotreksat; G-CSF — czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów; CR — całkowita remisja; PR — częściowa remisja; CsA — cyklosporyna A

**Figure 2.** Diagram of the treatment patients with T-cell large granular lymphocytes (T-LGL) leukemia; Hb — hemoglobin; ANC — absolute neutrophil count; MTX — methotrexate; G-CSF — granulocyte-colony stimulating factor; CR — complete remission; PR — partial remission; CsA — cyclosporine A

### Steroidoterapia

Zastosowanie steroidów w leczeniu chorych na białaczkę T-LGL nie przyniosło spodziewanych rezultatów. Nie wykazano długotrwałego efektu ani w korygowaniu neutropenii, ani zmniejszaniu liczby komórek białczkowych [20], choć prednizon może ograniczyć objawy, zwłaszcza te związane z RA, lub przejściowo poprawić liczbę neutrofilii. Steroidoterapię należy stosować głównie w celu uzyskania szybkiej poprawy wskaźników morfologicznych lub zmniejszenia nasilenia objawów ogólnych w ocze-

kiwaniu na efekt włączonych jednocześnie innych leków immunosupresyjnych.

### Czynniki wzrostu

Czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów (G-CSF, *granulocyte-colony stimulating factor*) może indukować przejściowy wzrost neutrofilii u pacjentów z białaczką T-LGL, ale znaczna część pacjentów pozostaje oporna lub słabo reaguje na podanie G-CSF. Może być on stosowany w okresie oczekiwania na efekt działania leków im-



munosupresyjnych lub u gorączkujących pacjentów z neutropenią w okresie antybiotykoterapii. Jednak trzeba pamiętać, że u pacjentów z białaczką T-LGL podanie G-CSF może powodować zwiększenie splenomegalii i nasilenie dolegliwości stawowych [71]. Niektórzy autorzy [27, 41] polecają wykonanie u pacjentów z bezobjawową neutropenią testu z jednorazowym podaniem G-CSF w celu oceny potencjalnej mobilizacji mieloidalnych komórek prekursorowych. U pacjentów z pozytywnym wynikiem testu z zastosowaniem G-CSF, w przypadku wystąpienia gorączki neutropenicznej, podawanie czynnika wzrostu może być skuteczne [27].

Erytropoetynę (EPO) można stosować łącznie z leczeniem immunosupresyjnym. U pacjentów leczonych CsA, którzy uzyskali częściową remisję (PR, *partial remission*), dodanie EPO może spowodować konwersję do całkowitej remisji (CR). Brakuje jednak danych, jakie wyjściowe stężenie EPO obserwowano u tych pacjentów [72]. W badaniu Bareau i wsp. [20] jedynie u 2 z 7 chorych uzyskano przejściową odpowiedź na leczenie EPO. Erytropoetyna nie jest również rekomendowana w przypadku PRCA u pacjentów z białaczką T-LGL.

### Analogi puryn

Opublikowano pojedyncze prace dotyczące zastosowania fludarabiny jako leczenia I linii lub u chorych opornych na leki immunosupresyjne. Odsetek odpowiedzi hematologicznych i molekularnych sięgał 80%, a toksyczność była akceptowalna. Uzyskane remisje są długotrwałe, nawet kilkuletnie. Należy jednak pamiętać, że opublikowane prace dotyczą kilku chorych, dlatego są konieczne prospektywne badania kliniczne, w których zostanie ocenione zastosowanie analogów puryn u większej liczby chorych [41, 74–77].

### Inne metody leczenia

Alemtuzumab, humanizowane monoklonalne przeciwciało anti-CD52, stosowano u pacjentów z opornymi na leczenie białaczkami. Chociaż odsetek odpowiedzi wynosił 60%, to zastosowanie alemtuzumabu ogranicza nie tylko znaczna toksyczność leku, ale również słabsza ekspresja CD52 na białaczkowych komórkach T-LGL w porównaniu z prawidłowymi limfocytami CD8+ [78–80].

Chemioterapia zgodnie ze schematami CHOP-*like* (cyklofosamid, doksorubicyna, winkrystyna, prednizon) powinna być stosowana jedynie w przypadkach białaczki odpornej na leczenie immunosupresyjne lub w postaciach agresywnych. Ogólnie stosowanie małych dawek chemioterapeu-

tyków wydaje się bardziej efektywne niż sekwencyjne podawanie dużych dawek [41].

U kilku chorych przeprowadzono allo-HSCT, ale procedura ta nie odgrywa istotnej roli w leczeniu. Splenektomia może być opcją terapeutyczną zwłaszcza dla pacjentów z neutropenią, niedokrwistością hemolityczną i splenomegalią, ale w ostatnio opublikowanych badaniach efekty tego leczenia nie okazały się dobre [81].

### Nowe leki

Próba leczenia 8 chorych na białaczkę T-LGL tipifarnibem, inhibitorem tranferazy farnesylowej, w badaniu II fazy RI15077 nie przyniosła efektu w postaci osiągnięcia odpowiedzi hematologicznej [27]. Ostatnio opublikowano opisy 2 pacjentów z długotrwałą remisją białaczki T-LGL i ze współistniejącym RA po leczeniu rytuksymabem. U obu przypadkach wskazaniem do zastosowania rytuksymabu było RA [82].

Ocena odpowiedzi na leczenie powinna się odbyć po 4 miesiącach od momentu rozpoczęcia terapii. Całkowita remisja hematologiczna jest zdefiniowana jako normalizacja wskaźników morfologicznych krwi obwodowej, tj. stężenie Hb powyżej 12 g/dl, liczba płytek krwi powyżej 150 G/l, liczba neutrofilii przekraczająca 1,5 G/l, liczba limfocytów poniżej 4 G/l oraz prawidłowa liczba komórek T-LGL potwierdzona w badaniu metodą cytometrii przepływowej. Całkowitą remisję molekularną rozpoznaje się wtedy, gdy brakuje klonalnych limfocytów T w badaniu metodą PCR.

### Agresywna białaczka T-LGL

Agresywna białaczka T-LGL występuje bardzo rzadko i różni się znacząco od białaczki T-LGL przebiegiem klinicznym, leczeniem i prognozą. Dotyczy młodszych pacjentów — ze średnią wieku 41 lat. Ze względu na małą liczbę opisanych przypadków nie wyszczególniono jej dotychczas w klasyfikacji WHO jako odrębnej jednostki klinicznej. Patogeneza tej postaci nie jest znana; nie wiadomo również, czy choroba rozwija się *de novo*, czy też jest klonalną ewolucją indolentnej postaci białaczki T-LGL [83–85]. Matutes i wsp. [85] opisali przypadek transformacji Richtera indolentnej postaci białaczki T-LGL po 11 latach od momentu postawienia diagnozy.

Kliniczny przebieg agresywnej białaczki T-LGL charakteryzują występowanie nasilonych objawów ogólnych, hepatosplenomegalii, limfadenopatii, we krwi obwodowej obserwuje się znacznie wyższą liczbę klonalnych limfocytów T-LGL, często powyżej 10 G/l, niedokrwistość w różnym stopniu

nasilenia, małopłytkowość i oporność na leczenie. Podstawą rozpoznania jest obecność charakterystycznego immunofenotypu komórek T-LGL, tj. CD3+CD8+CD16+CD56+TCR $\alpha\beta$ + lub rzadziej TCR $\gamma\delta$ +. Od postaci indolentnej agresywną białaczkę T-LGL odróżnia ekspresja antygenu CD56 na komórkach białaczkowych [83–85]. Rokowanie u pacjentów z tą postacią białaczki T-LGL jest złe, jeśli chorobę leczy się konwencjonalną chemioterapią. Mimo niewielkiej liczby opublikowanych przypadków wydaje się, że lepsze wyniki przynosi stosowanie intensywnej chemioterapii, takiej jak w ostrej białaczce limfoblastycznej (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) z profilaktyką zajęcia ośrodkowego układu nerwowego (OUN) i następową konsolidacją allo-HSCT [4, 26].

### Przewlekłe choroby limfoproliferacyjne z komórek NK

Komórki NK stanowią około 10% wszystkich limfocytów krwi obwodowej. Komórki NK pochodzą ze szpiku i mają wspólną komórkę progenitorową z limfocytami T. W przeciwieństwie do limfocytów T i B rearanzacja genów nie jest niezbędna do ich różnicowania oraz funkcjonowania. Komórki NK spełniają ważną rolę w rozpoczęciu odpowiedzi odpornościowej, przede wszystkim przez szybkie wydzielanie interferonu gamma (IFN $\gamma$ ) oraz innych cytokin niezbędnych w odpowiedzi na zakażenie bakteryjne, wirusowe czy parazytologiczne [1, 3, 4, 7, 26, 68].

Przewlekłe choroby limfoproliferacyjne komórek NK mają charakter indolentny o dobrym rokowaniu. Charakteryzują się zwiększoną liczbą krążących komórek NK. Ich średnia liczba wynosi 2,3 G/l. Przebieg choroby może być bezobjawowy i wtedy często określa się ją jako reaktywną lub łagodną przetrwałą limfocytozę NK towarzyszącą infekcjom wirusowym i chorobom tkanki łącznej [4, 17, 19, 86]. Jednak reaktywna limfocytoza NK nie powinna trwać dłużej niż 4–6 miesięcy. Jeśli populacja komórek NK we krwi obwodowej utrzymuje się dłużej niż 6 miesięcy, to mówi się o przewlekłej białaczce NK [17]. Przewlekła białaczka NK może się manifestować objawami ogólnymi, powiększeniem wątroby i śledziony lub zajęciem szpiku. Neutropenia i niedokrwistość występują jednak znacznie rzadziej niż w białaczce T-LGL i nie są tak głębokie [87]. Diagnostyka przewlekłej białaczki NK jest trudna z powodu braku

markera klonalnych komórek NK [1]. Komórki przewlekłej białaczki/przetrwałej limfocytozy reaktywnej NK-LGL wykazują ekspresję antygenów CD2+CD16+CD56+, brakuje ekspresji CD3, a antygen CD57 występuje ze zmienną częstością [17, 87]. U pacjentów z przewlekłą białaczką NK-LGL opisano ponadto zmienioną ekspresję trzech rodzin receptorów związanych z komórkami NK, receptorów KIR, typu C i receptorów NK [60, 88, 89]. Panel przeciwciał przeciw tym receptorom mógłby być bardzo użyteczny w diagnostyce różnicowej przewlekłej białaczki NK i reaktywnej limfocytozy NK.

Leczenie chorych na przewlekłą białaczkę NK-LGL jest takie samo jak w przypadku białaczki T-LGL; w I linii stosuje się leki immunosupresyjne [4, 26].

Agresywna białaczka NK-LGL jest gwałtownie przebiegającą chorobą o złym rokowaniu. Występuje u młodszych pacjentów, najczęściej pochodzenia azjatyckiego; średni wiek to 39 lat [17, 19, 90]. Jest wyróżniona jako osobna jednostka chorobowa w klasyfikacji WHO i stanowi około 10% wszystkich nowotworów LGL [2, 17]. W patogenezie białaczki NK-LGL, zwłaszcza jej postaci agresywnej, najprawdopodobniej bierze udział wirus Epstein-Barr (EBV, *Epstein-Barr virus*), co może sugerować, że jest to białaczkowy wariant bardziej powszechnego chłoniaka T/NK typu nosowego [91, 92]. W obrazie klinicznym dominują objawy ogólne, hepatosplenomegalia i cytopenie we krwi obwodowej. Mogą wystąpić zaburzenia krzepnięcia pod postacią zespołu rozlanego krzepnięcia wewnątrznaczyniowego (DIC, *disseminated intravascular coagulation*) i niewydolność wielonarządowa [26, 92], a niekiedy zespół hemofagocytowy [7, 93]. W badaniu immunofenotypowym metodą cytometrii przepływowej większość komórek wykazuje ekspresję antygenów NK, tj. CD2+CD56+, nie wykazuje natomiast ekspresji antygenów limfocytów T, takich jak CD3 i CD57 ani rearanzacji genów TCR [1]. Najczęstsze chromosomalne aberracje w białaczce NK-LGL to delecja 6q21-q25 i 17p13, ale opisano również chorych ze złożonym kariotypem [94–96].

Standardowe leczenie według schematu CHOP jest mało skuteczne. Intensywne leczenie, takie jak w ALL, z profilaktyką zajęcia OUN, powinno być stosowane w indukcji, a w konsolidacji należy rozważyć allo-HSCT [93, 97].

### Podsumowanie

Białaczki T/NK-LGL, choć występują rzadko, to stanowią duże wyzwanie dla klinicysty. W obrazie

klinicznym dominują głębokie cytopenie, zwłaszcza neutropenia z powikłaniami infekcyjnymi, współistniejące choroby autoimmunizacyjne, a stosowanie mało specyficznych leków immunosupresyjnych powoduje, że leczenie bywa często nieskuteczne. Mała liczba chorych utrudnia przeprowadzenie badań klinicznych, co jest przyczyną problemów z opracowaniem rekomendacji dotyczących postępowania w tych schorzeniach. Postęp w badaniach nad T/NK-LGL, a zwłaszcza poznanie zaburzeń w wewnątrzkomórkowych szlakach sygnałowych, daje szansę na rozwój terapii celowanych, które wydają się jedyną nadzieją na skuteczne leczenie pacjentów z tymi białaczkami.

### Piśmiennictwo

- Sokol L., Loughran T.P. Large granular lymphocyte leukemia. *Oncologist* 2006; 11: 263–273.
- Chan W.C., Foucar K., Morice W.G., Catovsky D. T-cell large granular lymphocyte leukemia. W: Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. i wsp. (red.). World Health Organization classification of tumors. Pathology and genetics of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press, Lyon 2008: 272–273.
- O'Malley D.P. T-cell large granular leukemia and related proliferations. *Am. J. Clin. Pathol.* 2007; 127: 850–859.
- Todd J.A., Sokol L. Diseases of large granular lymphocytes. *Cancer Control* 2007; 14: 141–150.
- Holm A.M., Tjonnnjford G., Yndestad A. i wsp. Polyclonal expansion of large granular lymphocytes in common variable immunodeficiency — association with neutropenia. *Clin. Exp. Immunol.* 2006; 144: 418–424.
- Roden A.C., Morice W.G., Hanson C.A. Immunophenotypic attributes of benign peripheral blood gammadelta T cells and conditions associated with their increase. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2008; 132: 1774–1780.
- Rose M.G., Berliner N. T-cell large granular lymphocyte leukemia and related disorders. *Oncologist* 2004; 9: 247–258.
- Wong K.F., Chan J.C., Liu H.S., Man C., Kwong Y.L. Chromosomal abnormalities in T-cell large granular lymphocyte leukaemia: report of two cases and review of the literature. *Br. J. Haematol.* 2002; 116: 598–600.
- Gorochoy G., Debre P., Leblond V. i wsp. Oligoclonal expansion of CD8+CD57+ T cells with restricted T-cell receptor beta chain variability after bone marrow transplantation. *Blood* 1994; 83: 587–595.
- Halwani F., Guttman R.D., Ste-Croix H., Prud'homme G.J. Identification of natural suppressor cells in long-term renal allograft recipients. *Transplantation* 1992; 54: 973–977.
- Schwab R., Szabo P., Manavalan J.S. i wsp. Expanded CD4+ and CD8+ T cell clones in elderly humans. *J. Immunol.* 1997; 158: 4493–4499.
- Smith P.R., Cavenagh J.D., Milne T. i wsp. Benign monoclonal expansion of CD8+ lymphocytes in HIV infection. *J. Clin. Pathol.* 2000; 53: 177–181.
- Posnett D.N., 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: 609–618.
- Lundell R., Hartung L., Hill S., Perkins S.L., Bahler D.W. T-cell large granular lymphocyte leukemias have multiple phenotypic abnormalities involving pan-T-cell antigens and receptors for MHC molecules. *Am. J. Clin. Pathol.* 2005; 124: 937–946.
- Beck R.C., Stahl S., O'Keefe C.L. i wsp. Detection of mature T-cell leukemias by flow cytometry using antiT-cell receptor  $V\beta$  antibodies. *Am. J. Clin. Pathol.* 2003; 120: 785–794.
- Dhodapkar M.V., Li C.Y., Lust J.A., Tefferi A., Philylyk R.L. Clinical spectrum of clonal proliferations of T-large granular lymphocytes: a T-cell clonopathy of undetermined significance? *Blood* 1994; 84: 1620–1627.
- Loughran T.P. Jr, Kadin M.E., Starkebaum G. i wsp. Leukemia of large granular lymphocytes: association with clonal chromosomal abnormalities and autoimmune neutropenia, thrombocytopenia, and hemolytic anemia. *Ann. Intern. Med.* 1985; 102: 169–175.
- Lamy T., Loughran T.P. Jr Clinical features of large granular lymphocyte leukemia. *Semin. Hematol.* 2003; 40: 185–195.
- Loughran T.P. Jr Clonal diseases of large granular lymphocytes. *Blood* 1993; 82: 1–14.
- Bareau B., Rey J., Hamidou M. i wsp. Analysis of a French cohort of patients with large granular lymphocyte leukemia: a report on 229 cases. *Haematologica* 2010; 95: 1534–1541.
- Herling M., Khoury J.D., Washington L.T. i wsp. A systematic approach to diagnosis of mature T-cell leukemias reveals heterogeneity among WHO categories. *Blood* 2004; 104: 328–335.
- Epling-Burnette P.K., Loughran T.P. Jr Survival signals in leukemic large granular lymphocytes. *Semin. Hematol.* 2003; 40: 213–220.
- Loughran T.P. Jr, Hadlock K.G., Perzova R. i wsp. Epitope mapping of HTLV envelope seroreactivity in LGL leukaemia. *Br. J. Haematol.* 1998; 101: 318–324.
- Sokol L., Agrawal D., Loughran T.P. Jr Characterization of HTLV envelope seroreactivity in large granular lymphocyte leukemia. *Leuk. Res.* 2005; 29: 381–387.
- Loughran T.P. Jr, Hadlock K.G., Yang Q. i wsp. Seroreactivity to an envelope protein of human T-cell leukemia/lymphoma virus in patients with CD3– (natural killer) lymphoproliferative disease of granular lymphocytes. *Blood* 1997; 90: 1977–1981.
- Alekshun T.J., Sokol L. Diseases of large granular lymphocytes. *Cancer Control* 2007; 14: 141–150.
- Zhang D., Loughran T.P. Jr Large granular lymphocytic leukemia: molecular pathogenesis, clinical manifestations, and treatment. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2012; 2012: 652–659.
- Takeda K., Kaisho T., Yoshida N. i wsp. Stat3 activation is responsible for IL-6-dependent T-cell proliferation through preventing apoptosis: generation and characterization of T-cell specific Stat3-deficient mice. *J. Immunol.* 1998; 161: 4652–4660.
- Koskela H.L.M., Eldfors S., Ellonen P. i wsp. Somatic STAT3 mutations in large granular lymphocytic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2012; 366: 1905–1913.
- Andersson E.I., Rajala H.L.M., Eldfors S. i wsp. Novel somatic mutations in large granular lymphocytic leukemia affecting the STAT-pathway and T-cell activation. *Blood Cancer J.* 2013; 3: e168. doi:10.1038/bcj.2013.65.
- Hayakawa E., Sugimoto K., Kurahashi S., Sumida T., Naoe T. A novel STAT3 inhibitor OPB-31121 induces tumor-specific growth inhibition in a wide range of hematopoietic malignancies without growth suppression of normal hematopoietic cells. *Blood* 2011; 118: abstrakt 577.
- Yang J., Epling-Burnette P.K., Painter J.S. i wsp. Antigen activation and impaired Fas-induced death-inducing signaling complex formation in T-large-granular lymphocyte leukemia. *Blood* 2008; 111: 1610–1616.
- Liu J.H., Wei S., Lamy T. i wsp. Blockade of Fas-dependent apoptosis by soluble Fas in LGL leukemia. *Blood* 2002; 100: 1449–1453.

34. Hodge D.L., Yang J., Buschman M.D. i wsp. Interleukin-15 enhances proteasomal degradation of bid in normal lymphocytes: implications for large granular lymphocyte leukemias. *Cancer Res.* 2009; 69: 3986–3994.
35. Chen J., Petrus M., Bamford R. i wsp. Increased serum soluble IL-15R $\alpha$  levels in T-cell large granular lymphocyte leukemia. *Blood* 2012; 119: 137–143.
36. Yang J., Liu X., Nyland S.B. i wsp. Platelet-derived growth factor mediates survival of leukemic large granular lymphocytes via an autocrine regulatory pathway. *Blood* 2010; 115: 51–60.
37. Kothapalli R., Kusmartseva I., Loughran T.P. Characterization of a human sphingosine-1-phosphate receptor gene (S1P5) and its differential expression in LGL leukemia. *Biochim. Biophys. Acta* 2002; 1579: 117–123.
38. Semenzato G., Zambello R., Starkebaum G., Oshimi K., Loughran J.P. Jr The lymphoproliferative disease of granular lymphocytes: updated criteria for diagnosis. *Blood* 1997; 89: 256–260.
39. Prochorec-Sobieszek M. Charakterystyka proliferacji z dużych ziarnistych limfocytów T. *J. Trans. Med.* 2009; 3: 81–136.
40. Mohan S.R., Maciejewski J.P. Diagnosis and therapy of neutropenia in large granular lymphocyte leukemia. *Curr. Opin. Hematol.* 2009; 16: 27–34.
41. Lamy T., Loughran T.P. Jr How I treat LGL leukemia? *Blood* 2011; 117: 2764–2774.
42. Zambello R., Semenzato G. Large granular lymphocytosis. *Haematologica* 1998; 83: 936–942.
43. Liu X., Loughran T.P. Jr The spectrum of large granular lymphocyte leukemia and Felty's syndrome. *Curr. Opin. Hematol.* 2011; 18: 254–259.
44. Prochorec-Sobieszek M., Wagner T., Maryniak R.K. Zespół Felty'ego i białaczka z dużych ziarnistych limfocytów T — podobieństwa i różnice. *Reumatologia* 2007; 45: 85–91.
45. Iglesias A.L., Sifuentes Giraldo W.A., Bachiller Corral J. i wsp. Large granular lymphocyte leukemia as a complication of rheumatoid arthritis. *Reumatol. Clin.* 2012; 8: 365–367.
46. Kwong Y.L., Wong K.F. Association of pure red cell aplasia with T large granular lymphocyte leukaemia. *J. Clin. Pathol.* 1998; 51: 672–675.
47. Go R.S., Li C.Y., Tefferi A., Philylyk R.L. Acquired pure red cell aplasia associated with lymphoproliferative disease of granular T lymphocytes. *Blood* 2001; 98: 483–485.
48. Masuda M., Arai Y., Okamura T., Wada M., Mizoguchi H. Pure red cell aplasia (PRCA) with thymoma: a possible distinct clinical entity distinct from large granular lymphocyte (LGL) leukemia. *Am. J. Hematol.* 2000; 63: 102–107.
49. Kondo H., Mori A., Watanabe J. i wsp. Pure red cell aplasia associated with parvovirus B19 infection in T-large granular lymphocyte leukemia. *Leuk. Lymphoma* 2001; 42: 1439–1443.
50. Go R.S., Tefferi A., Li C.Y., Lust J.A., Philylyk R.L. Lymphoproliferative disease of granular T lymphocytes presenting as aplastic anemia. *Blood* 2000; 96: 3644–3646.
51. Saunthararajah Y., Mollidrem J.L., Rivera M. i wsp. Coincident myelodysplastic syndrome and T-cell large granular lymphocytic disease: clinical and pathophysiological features. *Br. J. Haematol.* 2001; 112: 195–200.
52. Papadaki T., Stamatopoulos K., Kosmas C. i wsp. Clonal T-large granular lymphocyte proliferations associated with clonal B cell lymphoproliferative disorders: report of eight cases. *Leukemia* 2002; 16: 2167–2169.
53. Lima M., Goncalves C., Marques L. i wsp. Association of CD4+/CD56+/CD57+/CD8+(dim) large granular lymphocytic leukemia, splenic B-cell lymphoma with circulating villous lymphocytes, and idiopathic erythrocytosis. *Ann. Hematol.* 2001; 80: 685–690.
54. Kingreen D., Dalal B.I., Heyman M. i wsp. Lymphocytosis of large granular lymphocytes in patients with Hodgkin's disease. *Am. J. Hematol.* 1995; 50: 234–236.
55. Volkheimer A.D., Weinberg J.B., Beasley B.E. i wsp. Progressive immunoglobulin gene mutations in chronic lymphocytic leukemia: evidence for antigen-driven intraclonal diversification. *Blood* 2007; 109: 1559–1567.
56. Evans H.L., Burks E., Viswanatha D., Larson R.S. Utility of immunohistochemistry in bone marrow evaluation of T-lineage large granular lymphocyte leukemia. *Hum. Pathol.* 2000; 31: 1266–1273.
57. Morice W.G., Kurtin P.J., Tefferi A., Hanson C.A. Distinct bone marrow findings in T-cell granular lymphocytic leukemia revealed by paraffin section immunoperoxidase stains for CD8, TIA-1, and granzyme B. *Blood* 2002; 99: 268–274.
58. Osuji N., Beiske K., Randen U. i wsp. Characteristic appearances of the bone marrow in T-cell large granular lymphocyte leukemia. *Histopathology* 2007; 50: 547–554.
59. Morice W.G., Kurtin P.J., Leibson P.J., Tefferi A., Hanson C.A. Demonstration of aberrant T-cell and natural killer-cell antigen expression in all cases of granular lymphocytic leukaemia. *Br. J. Haematol.* 2003; 120: 1026–1036.
60. Gorczyca W., Weisberger J., Liu Z. i wsp. An approach to diagnosis of T-cell lymphoproliferative disorders by flow cytometry. *Cytometry* 2002; 50: 177–190.
61. Melenhorst J.J., Brummendorf T.H., Kirby M., Lansdorp P.M., Barrett A.J. CD8+ T cells in large granular lymphocyte leukemia are not defective in activation- and replication-related apoptosis. *Leuk. Res.* 2001; 25: 699–708.
62. Wong K.F., Chan J.C., Liu H.S., Man C., Kwong Y.L. Chromosomal abnormalities in T-cell large granular lymphocyte leukaemia: report of two cases and review of the literature. *Br. J. Haematol.* 2002; 116: 598–600.
63. Hodges E., Krishna M.T., Pickard C., Smith J.L. Diagnostic role of tests for T-cell receptor (TCR) genes. *J. Clin. Pathol.* 2003; 56: 1–11.
64. Nadel B., Feeney A.J. Nucleotide deletion and P addition in V(D) J recombination: a determinant role of the coding-end sequence. *Mol. Cell. Biol.* 1997; 17: 3768–3778.
65. Davey M.P., Starkebaum G., Loughran T.P. Jr CD3+ leukemic large granular lymphocytes utilize diverse T-cell receptor V beta genes. *Blood* 1995; 85: 146–150.
66. Fischer L., Hummel M., Burmeister T., Schwartz S., Thiel E. Skewed expression of natural-killer (NK)-associated antigens on lymphoproliferations of large granular lymphocytes (LGL). *Hematol. Oncol.* 2006; 24: 78–85.
67. Nowakowski G.S., Morice W.G., Philylyk R.L., Li C.Y., Tefferi A. Human leucocyte antigen class I and killer immunoglobulin-like receptor expression patterns in T-cell large granular lymphocyte leukaemia. *Br. J. Haematol.* 2005; 128: 490–492.
68. Biedroń M., Mazur G., Wróbel T., Kuliczkowski K. Receptory komórek NK. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2003; 12: 529–535.
69. Fortune A.F., Kelly K., Sargent J. i wsp. Large granular lymphocyte leukemia: natural history and response to treatment. *Leuk. Lymphoma* 2010; 51: 839–845.
70. Hamidou M., Lamy T. Large granular lymphocyte proliferations: clinical and pathogenic aspects. *Rev. Med. Interne* 2001; 22: 452–459.

71. Osuji N., Matutes E., Tjonnfjord G. i wsp. T-cell large granular lymphocyte leukemia: a report on the treatment of 29 patients and a review of the literature. *Cancer* 2006; 107: 570–578.
72. Pawarode A., Wallace P.K., Ford L.A., Barcos M., Baer M.R. Long-term safety and efficacy of cyclosporin A therapy for T-cell large granular lymphocyte leukemia. *Leuk. Lymphoma* 2010; 51: 338–341.
73. Aribi A., Huh Y., Keating M. i wsp. T-cell large granular lymphocytic (T-LGL) leukemia: experience in a single institution over 8 years. *Leuk. Res.* 2007; 31: 939–945.
74. Costa R.O., Bellesso M., Fischer Chamone D.A. i wsp. T-cell large granular lymphocytic leukemia: treatment experience with fludarabine. *Clinics* 2012; 67: 745–748.
75. Sternberg A., Eagleton H., Pillai N. i wsp. Neutropenia and anaemia associated with T-cell large granular lymphocyte leukaemia responds to fludarabine with minimal toxicity. *Br. J. Haematol.* 2003; 120: 699–701.
76. Tse E., Chan J.C., Pang A. i wsp. Fludarabine, mitoxantrone and dexamethasone as first-line treatment for T-cell large granular lymphocyte leukemia. *Leukemia* 2007; 21: 2225–2226.
77. Ma S.Y., Au W.Y., Chim C.S. i wsp. Fludarabine, mitoxantrone and dexamethasone in the treatment of indolent B- and T-cell lymphoid malignancies in Chinese patients. *Br. J. Haematol.* 2004; 124: 754–761.
78. Rosenblum M.D., LaBelle J.L., Chang C.C. i wsp. Efficacy of alemtuzumab treatment for refractory T-cell large granular lymphocytic leukemia. *Blood* 2004; 103: 1969–1971.
79. Schuetzinger C., Gaiger A., Thalhammer R. i wsp. Remission of pure red cell aplasia in T-cell receptor gammadelta-large granular lymphocyte leukemia after therapy with low-dose alemtuzumab. *Leukemia* 2005; 19: 2005–2008.
80. Monjanel H., Hourieux C., Arblion F. i wsp. Rapid and durable molecular response of refractory Tcell large granular lymphocyte leukemia after alemtuzumab treatment. *Leuk. Res.* 2010; 34: e197–e199.
81. Subbiah V., Viny A.D., Rosenblatt S. i wsp. Outcomes of splenectomy in T-cell large granular lymphocyte leukemia with splenomegaly and cytopenia. *Exp. Hematol.* 2008; 36: 1078–1083.
82. Cornec D., Devauchelle-Pensec V., Jousse-Joulin S. i wsp. Long-term remission of T-cell large granular lymphocyte leukemia associated with rheumatoid arthritis after rituximab therapy. *Blood* 2013; 122: 1583–1586.
83. Passetto Falcao R., Pinto Simoes B., Garcia A.B., Fonseca B.A., Terra Filho J. Aggressive variant of morphologically typical T large granular lymphocyte leukemia/lymphoma lacking NK cell markers. *Acta Haematol.* 2000; 104: 110–114.
84. Tordjman R., Macintyre E., Emile J.F. i wsp. Aggressive acute CD3+, CD56– T-cell large granular lymphocyte leukemia with two stages of maturation arrest. *Leukemia* 1996; 10: 1514–1519.
85. Matutes E., Wotherspoon A.C., Parker N.E. i wsp. Transformation of T-cell large granular lymphocyte leukaemia into a high-grade large T-cell lymphoma. *Br. J. Haematol.* 2001; 115: 801–806.
86. Zambello R., Loughran T.P. Jr, Trentin L. i wsp. Serologic and molecular evidence for a possible pathogenetic role of viral infection in CD3-negative natural killer-type lymphoproliferative disease of granular lymphocytes. *Leukemia* 1995; 9: 1207–1211.
87. Tefferi A., Li C.Y., Witzig T.E. i wsp. Chronic natural killer cell lymphocytosis: a descriptive clinical study. *Blood* 1994; 84: 2721–2725.
88. Epling-Burnette P.K., Painter J.S., Chaurasia P. i wsp. Dysregulated NK receptor expression in patients with lymphoproliferative disease of granular lymphocytes. *Blood* 2004; 103: 3431–3439.
89. Zambello R., Semenzato G. Natural killer receptors in patients with lymphoproliferative diseases of granular lymphocytes. *Semin. Hematol.* 2003; 40: 201–212.
90. Cheung M.M., Chan J.K., Wong K.F. Natural killer cell neoplasms: a distinctive group of highly aggressive lymphomas/leukemias. *Semin. Hematol.* 2003; 40: 221–232.
91. Hart D.N., Baker B.W., Inglis M.J. i wsp. Epstein-Barr viral DNA in acute large granular lymphocyte (natural killer) leukemic cells. *Blood* 1992; 79: 2116–2123.
92. Chan J.K., Sin V.C., Wong K.F. i wsp. Nonnasal lymphoma expressing the natural killer cell marker CD56: a clinicopathologic study of 49 cases of an uncommon aggressive neoplasm. *Blood* 1997; 89: 4501–4513.
93. Ruskova A., Thula R., Chan G. Aggressive natural killer-cell leukemia: report of five cases and review of the literature. *Leuk. Lymphoma* 2004; 45: 2427–2438.
94. Siu L.L., Chan J.K., Kwong Y.L. Natural killer cell malignancies: clinicopathologic and molecular features. *Histol. Histopathol.* 2002; 17: 539–554.
95. Wong K.F., Zhang Y.M., Chan J.K. Cytogenetic abnormalities in natural killer cell lymphoma/leukaemia — is there a consistent pattern? *Leuk. Lymphoma* 1999; 34: 241–250.
96. Hamaguchi H., Yamaguchi M., Nagata K. i wsp. Aggressive NK cell lymphoma/leukemia with clonal der(3)t(1;3)(q12;p25), del(6)(q13) and del(13)(q12q14). *Cancer Genet. Cytogenet.* 2001; 130: 150–154.
97. Okamura T., Kishimoto T., Inoue M. i wsp. Unrelated bone marrow transplantation for Epstein-Barr virus-associated T/NK-cell lymphoproliferative disease. *Bone Marrow Transplant.* 2003; 31: 105–111.