

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

“VICTOR BABEȘ” TIMIȘOARA

FACULTATEA DE MEDICINĂ GENERALĂ

DEPARTAMENTUL XIV

GUG G. GEORGIANA ALINA



REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

**LIMFOAME CUTANATE.
CORELAȚII CLINICO-PATOLOGICE ȘI GENETICE**

Conducător Științific

PROF. UNIV. DR. SOLOVAN CAIUS

**Timișoara
2021**

CUPRINS

I. INTRODUCERE.....	1
1 PARTEA GENERALĂ. Stadiul actual al cunoașterii	4
1.1 ELEMENTE CLINICE ȘI HISTOFENOTIPICE. LIMFOAME CUTANATE ȘI LIMFOPROLIFERĂRI BENIGNE.....	4
1.2 EVENIMENTE GENETICE ÎN ONCOGENEZA LIMFOAMELOR CUTANATE. INSTABILITATE GENETICĂ, VARIAȚII ȘI ALTERĂRI ALE NUMĂRULUI DE COPII	5
2 PARTEA SPECIFICĂ.....	6
2.1 MATERIAL ȘI METODĂ	6
2.2 REZULTATE.....	6
2.2.1 CONTRIBUȚII PRIVIND ASPECTELE CLINICE ȘI PARACLINICE. PARTICULARITĂȚI ȘI CORELAȚII.....	7
2.2.2 CONTRIBUȚII PRIVIND ASPECTELE ANATOMO-PATOLOGICE ȘI IMUNOFENOTIPICE	8
2.2.3 CONTRIBUȚII PRIVIND GENETICA LIMFOAMELOR CUTANATE ȘI LIMFOPROLIFERĂRILOR BENIGNE	9
2.3 DISCUȚII	10
3 CONCLUZII	11

I. INTRODUCERE

Proliferările clonale progresive ale Limfocitului B, T sau celulelor NK la nivel cutanat, ce reunesc un grup de afecțiuni cu evoluție și prognostic diferit, sunt cunoscute ca Limfoame Cutanate (LC). Din punct de vedere morfologic, țesutul cutanat poate fi atât punctul inițial sau unic de afectare, cât și secundar unei afectări prealabile. Tema prezentei teze de doctorat este îndreptată spre Limfoamele non-Hodgkin primar cutanat, fără afectare sistemică în momentul diagnosticului. Aceste afecțiuni, ce se încadrează, pe nișa dermato-oncologiei sunt extrem de dificil de abordat datorită numărului mic de cazuri, a complexității lor și a lipsei de specialiști pregătiți în acest domeniu.

În funcție de celularitatea infiltratului care se regăsește la nivel tegumentar, limfoamele cutanate se împart în Limfoame cutanate cu celule B sau T. Majoritatea limfoamelor primar cutanate au la origine limfocitul T (65% din cazuri), numărul limfoamelor cutanate cu celule B fiind mult mai mic.

Limfoproliferările celulelor T și B la nivelul organului cutanat se împart în două mari categorii: limfoproliferări maligne și benigne. Diferențierea celor două patologii este uneori extrem de dificilă datorită multiplelor caractere comune, atât din punct de vedere clinic cât și histologic și imunofenotipic.

Micromediul tumoral, este complex și greu de înțeles, compus din elemente care sunt exprimate de simptomatologie obiectivă, analize de laborator, analiza anatomo-patologică și cea genetică. Luate individual, aceste elemente sunt insuficiente pentru abordarea corectă a cazului și înțelegerea acestuia. Luate ca un întreg și integrate în context, ele sunt de o mare valoare clinică și științifică.

Pentru o abordare clinică corectă și o acțiune terapeutică ținută este imperios necesară recunoașterea diferitelor subtipuri de limfom. Pentru a le încadra sunt urmăriți factori clinici, biologici, histologici, imunofenotipici și genetici.

Această lucrare își propune să aducă la un loc pacienți cu Limfoame primar cutanate și Limfoproliferări benigne, pentru analiza clinică, histologică, moleculară și genetică. Scopul, este acela de a pune în evidență factori care schimbă evoluția bolii, răspunsul la tratament și tipare distincte și comune ce predispun individul pentru un anumit subtip histologic. Acest studiu doctoral dorește să traseze linia de demarcație între o limfoproliferare benignă și una malignă și să încerce să evidențieze posibile procese premonitorii ce conduc statutul de benign spre cel malign. Analiza clinică, imunohistochimică, histologică și genetică este efectuată cu obiectivul de a evidenția posibilele interconexiuni, specificități, sau abateri față de noțiunile cunoscute în literatură până în prezent pe tema limfoamelor cutanate.

Cuvinte cheie:

limfoame cutanate, corelații clinice, corelații imunofenotipice, oncogene, gene de supresie tumorală, alterări ale numărului de copii

1 PARTEA GENERALĂ. Stadiul actual al cunoașterii

1.1 ELEMENTE CLINICE ȘI HISTOFENOTIPICE. LIMFOAME CUTANATE ȘI LIMFOPROLIFERĂRI BENIGNE

Limfoamele cutanate T, sunt uneori dificil de diagnosticat, mai ales în stadii incipiente, datorită heterogenității formelor de prezentare și aspectul comun al leziunilor cu cele din Parapsoriasis. Acest lucru duce la o amânare a diagnosticului cu aproximativ 6 ani.

Mycosis fungoides este caracterizat de leziuni polimorfe cu evoluție indolentă, care progresează de la stadiul de macule, la plăci și placarde cu un caracter infiltrativ, iar mai apoi, în stadii avansate, chiar la tumori. Caracterizat ca o patologie Th2, deși regiunile cutanate afectate exprimă un profil Th1, este frecvent asociată cu eozinofilie serică.

Sindromul Sezary reprezintă o forma de CTCL agresivă, ce destăinuie prezența celulelor Sezary (limfocite T atipice cu nucleu cerebriform) în țesutul cutanat, ganglionii, măduvă hematogenă și în sângele periferic. Clinic, se manifestă sub forma unei indurații eritematoase generalizate intens pruriginoase, cu scuame și lichenificare, cărora se asociază ectropion, alopecie, hiperkeratoză palmo-plantară și subunghială.

Histologic, piesele bioptice au numeroase caractere comune cu cele din MF cu toate că epidermotropismul celulelor este mai puțin intens ca cel din MF.

Afecțiunile limfoproliferative cutanate primitive CD30+ includ Limfomul primitiv cutanat cu celule mari anaplastice (ALCL), Papuloză limfomatoidă (LyP) și cazurile intermediare (borderline), cuprinzând aproximativ 30% din cazurile de Limfoame cutanate.

Procesele de pe suprafața limfocitelor T sunt tipic CD3+, CD20-, CD45+, iar cele ale limfocitelor B sunt CD3-, CD20+ și CD45+.

Grupul Limfoproliferărilor benigne cuprinde o subcategorie de patologii controversate din punct de vedere al nomenclurii și încadrării. Cele două variante de Parapsoriasis, sunt considerate afecțiuni benigne de unii specialiști, iar de alții ca forme incipiente de Mycosis fungoid sau erupții pre-Mycotice. În ultima categorie intră mai ales Parapsoriasisul în plăci mari care după 6-10 ani în 35% din cazuri poate evolua spre MF.

Din punct de vedere clinic, Parapsoriasisul în plăci mici se caracterizează printr-o erupție monomorfă, asimptomatică, în plăci de aproximativ 2,5-5 cm, rotund-ovalare, eritematoase până la brune, cu scuamă fină, furfuracee cu dispoziție la nivelul trunchiului și membrelor care pot fi mai evidente în sezonul rece. Leziunile prezintă un debut insidios și un caracter persistent.

Parapsoriasisul în plăci mari prezintă o evoluție cronică și caracter permanent. Leziunile specifice sunt reprezentate de plăci și placarde mai mari de 6cm, eritematoase până la brune, cu aspect atrofic, dispoziție la nivelul trunchiului și uneori la nivelul membrelor. Schimbarea aspectului leziunilor, polimorfism și pokilodermie însoțite de prurit, sugerează virarea bolii spre MF.

Din punct de vedere imunohistochimic (IHC), leziunile de Parapsoriasis păstrează proprietățile limfocitelor T care prezintă antigenele pan-T: CD2, CD3, CD5, CD7. Acești receptori funcționali sunt prezenți pe suprafața limfocitelor T mature.

1.2 EVENIMENTE GENETICE ÎN ONCOGENEZA LIMFOAMELOR CUTANATE. INSTABILITATE GENETICĂ, VARIAȚII ȘI ALTERĂRI ALE NUMĂRULUI DE COPII

Numărul tot mai mare de studii genetice și progresele tehnologiilor de analiză a genomului, promit o îmbunătățire a înțelegerii evenimentelor moleculare responsabile de transformarea clonală a limfoamelor cutanate. De asemenea, evidențierea modificărilor genomice are potențialul de a sprijini clasificarea, prognosticul și răspunsul la tratament al acestor patologii.

SNP-urile de rezoluție înaltă au concretizat identificarea variațiilor în numărul de copii (CNV) și alterărilor numărului de copii (CNA). Analiza acestor variații și alterări în numărul de copii și identificarea regiunilor genomice care modifică susceptibilitatea individuală pentru cancer, este subestimată.

În procesul neoplazic, avantajul oferit celulei tumorale prin potențialul de creștere este consecința modificărilor genetice. La baza reperelor de dezvoltare tumorală, se află instabilitatea genetică care accelerează succesiunea de evenimente ce conduc la transformarea malignă a celulelor. Suprimarea genelor de apoptoză și a mecanismelor de control a creșterii celulare, creșterea semnalelor de stimulare a replicării și duplicarea protooncogenelor, modificări în metabolismul celular, rata mitotică accelerată cu imortalitate replicativă, inducerea angiogenezei, inflamația iar mai apoi invazia și diseminarea, sunt trăsături caracteristice microambientului tumoral. Identificarea modificărilor moleculare specifice neoplaziilor poate conduce la terapii țintite uneori chiar personalizate. Acest aspect ține de medicina viitorului în era căreia am intrat deja.

Printre primele organe care au beneficiat de tehnologiile investigative microarray, a fost întocmai organul cutanat, datorită accesibilității sale înalte și patologiilor neoplazice complexe întâlnite la acest nivel. Crescând gradul de interes în această direcție și totodată, direct proporțional, cercetarea la acest nivel, tot mai frecvent întâlnim termenul de skinomics. Acest termen definește studiile transcripționale asupra expresiei genice la nivelul pielii. În domeniul limfoamelor cutanate, studiul transcriptomului implică studiul expresiei genelor și profilul genetic.

În patogeneza CTCL, au fost identificate mutații genice care sunt implicate în activarea și apoptoza celulară, sau gene cu rol în răspunsul ADN la injurii precum: semnalizarea NFkB, TP53, DNMT3A, FAS, ARID1A, ZEB1, CDKN2A, CDKN2B, MTAP, MYC.

În CBCL, au fost identificate roluri importante ale BCL-2, MALT1, CDK4, GLI1 și MDM2.

Tumorigeneza este un proces complex care cuprinde alterări ale materialului genetic în cascadă, acumulând astfel, în timp, din ce în ce mai multe defecte genetice care vor rezulta în comportamentul tot mai agresiv din evoluția acestei patologii.

2 PARTEA SPECIFICĂ

2.1 MATERIAL ȘI METODĂ

Pacienții au fost selectați din Clinica Universitară de Dermatologie și Venerologie Timișoara. Am selectat cazurile corelate clinic cu LC atât Limfoame cutanate T celulare cât și cu celule B și limfoproliferările de tip Parapsoriasis în plăci mari LPP și Parapsoriasis în plăci mici SPP.

Datorită incidenței scăzute a grupului de patologii studiate, această cercetare este axată pe colectarea prospectivă a probelor, începând din octombrie 2015, și e asociată cu cercetarea retrospectivă aferentă biobăncii disciplinei. Probele colectate conțin fragmente proaspete de țesut cutanat crioprezervat la -80 ° C. Biopsiile cutanate au fost recoltate folosind tehnici standardizate.

Toți pacienții au trecut printr-o anamneză, un examen obiectiv și de laborator detaliate. A fost pus accent pe APP semnificative, expunerea la factori nocivi de mediu, tratamente anterioare/concomitente, prezența/absența pruritului, descrierea erupției și a leziunilor elementare principale, notarea procentuală a suprafeței corporale afectate, prezența adenopatiilor, vechimea afecțiunii (luni) și analize de laborator: nr. hematii (milionare/dl), HB, HT, nr. leucocite (mii/dl), Ne (%), Eo (%), Ly (%), Mo (%), VSH, PCR, Fibrinogen, ALAT, ASAT, uree, acid uric, creatinina.

Specimenele recoltate au fost apoi diagnosticate prin trăsături histologice, imunohistochemice și morfologice de către doi specialiști independenți în anatomopatologia pielii. Cazurile au fost considerate eligibile atunci când au îndeplinit criteriile clinice, histopatologice și imunohistochemice (IHC) pentru grupul din care au făcut parte (LC, SPP, LPP).

Din aceste probe, am extras ADN folosind metoda de polimorfism nucleotidic unic (SNP). În regiunile în care s-a observat o acoperire slabă a SNP s-a recurs la secvențierea întregului exom (WES), SNP rămânând însă standardul de aur.

Datele legate de alterări ale numărului de copii (CNA) au fost apoi importate în sistemul oncogenomic de arhivare online: arraymap. Modificările cantitative și calitative au fost analizate și mapate la intervale genomice de 1Mb. Distribuția modificărilor numărului de copii (câștig / pierdere) a fost apoi trasată într-o hartă grafică a întregului genom, în scopul evidențierii modificărilor.

2.2 REZULTATE

În urma evaluării criteriilor de includere și excludere, au fost selectați pentru acest studiu 60 de pacienți (24 de femei și 36 de bărbați), de la care s-au recoltat 73 de fragmente cutanate, unii dintre pacienți necesitând în timp repetarea biopsiei, datorită schimbării aspectului clinic al erupției. Pentru 11 dintre acești pacienți au fost repetate analizele histologice, imunohistochemice și genetice (pentru 9 dintre ei au fost recoltate 2 probe pe parcursul studiului și pentru 2 dintre pacienți au fost recoltate 3 probe).

Lotul de studiu cuprinde 16 probe de Parapsoriasis în plăci mici (SPP), 21 de Parapsoriasis în plăci mari (LPP), o probă de Sindrom Sezary (SS), 2 de Limfom primitiv cutanat cu celule mari anaplastice (ALCL), 2 probe de Papuloză limfomatoidă (LyP), 5 Limfoame cutanate primare cu celule T periferice nespecificate altfel (CTCL NOS) și 4 Limfoame cutanate B (CBCL). Se poate observa incidența mai crescută a Limfoamelor cutanate cu celule T față de cele cu celule B, fapt explicat ușor din punct de vedere statistic, CTCL, fiind variante de limfom cutanat mai frecvent întâlnite în acest spectru de patologii.

2.2.1 CONTRIBUȚII PRIVIND ASPECTELE CLINICE ȘI PARACLINICE. PARTICULARITĂȚI ȘI CORELAȚII

Anamneza. Antecedente personale patologice.

Au fost analizate antecedentele personale patologice ale fiecărui pacient din lotul de studiu, urmărindu-se incidența patologiilor cronice asociate. Se observă că Diabetul zaharat de tip doi și Bolile cardiovasculare sunt predominante în grupul studiat. Acest lucru se poate explica prin incidența crescută a acestor patologii în populația generală și a faptului că lotul nostru cuprinde majoritar pacienți care au peste 50 de ani (62%). Grupul cel mai afectat de patologii cronice este cel al LPP și MF, fapt ce poate fi explicat prin numărul mai mare al pacienților în această categorie de diagnostic.

Pacienții cu Psoriazis vulgar se consideră a fi un grup de pacienți care prezintă un risc mai mare de a dezvolta CTCL, teorie pe care am dorit să o analizăm. În studiul nostru, am regăsit un caz de Psoriazis vulgar moderat-sever, căruia i-a urmat diagnosticul de LPP, o posibilă relație de cauzalitate între aceste două patologii nefiind de neglijat.

Continuând în același spectru, am analizat asocierea altor tipuri de neoplazii, atât benigne cât și maligne, în rândul pacienților noștri, pornind de la teoria conform căreia pacienții cu limfom cutanat au risc mai mare de a dezvolta alte tipuri de cancere. Patologiile oncologice asociate au fost în număr de 8, 6 dintre ele fiind în grupul de LPP (3 benigne, 3 maligne) și 2 (1 benignă, 1 malignă) în cel de MF.

Evaluarea paraclinică a factorilor inflamatori.

În continuare, am analizat existența și comportamentul factorilor inflamatori serici în grupurile studiate. Conform teoriei etiopatogenice a factorilor fizico-chimici, inflamația cronică este asociată cu progresia și dezvoltarea neoplaziilor, vizarea inflamației în prevenția și tratamentul cancerului fiind una intens studiată. Trei buni indicatori de fază acută sunt Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH), Fibrinogenul și Proteina C Reactivă (PCR).

Din totalul cazurilor noastre, 12 au avut VSH accelerat în momentul evaluării, LPP fiind cel mai afectat grup. În grupul nostru de pacienți, Fibrinogenul a fost crescut în 12 cazuri, lotul de MF fiind cel care a prezentat cele mai multe creșteri ale acestui indicator. În procesele inflamatorii cronice, nivelul fibrinogenului rămâne crescut în mod constant, demonstrând-se relația dintre creșterea și metastazarea tumorală, fiind corelat și cu prognosticul prost și stadiul avansat al cancerului. În grupul de MF, PCR și VSH au fost crescute în egală măsură dar mai puțin decât Fibrinogenul. PCR a fost predominant în limite normale chiar și în CBCL, cunoscut ca un limfom cu grad înalt de malignitate. S-a observat că niveluri normale de PCR serice, la pacienții cu malignități incipiente, au condus la o supraviețuire mai bună și chiar un prognostic mai favorabil în boli avansate sau metastazate dar cu valori mici de PCR.

Evaluarea individuală și corelarea pruritului și nivelului de eozinofile.

Pruritul, deși un semn subiectiv, variabil și nedeterminabil, este extrem de important în evaluarea bolii. Pruritul poate apărea încă dinainte de apariția leziunilor sau înainte de virarea sau agravarea bolii, fiind un semn discret dar valoros pentru clinician și un simptom extrem de debilitant pentru pacient. Eozinofilia în limfoamele cutanate este asociată cu stadiile avansate sau de virare și intervine în momentul unui profil citokinic predominant Th2.

În loturile noastre, pruritul este prezent în grupul de LPP și MF, alături de SS. Eozinofilia este prezentă în jumătate din cazurile de MF și în aproape ¼ din cazurile de LPP. Pe viitor, ar fi oportun de cercetat și urmărit în timp evoluția pacienților diagnosticați cu LPP care prezintă prurit și/sau eozinofilie și posibila transformare în CTCL.

Corelând prezența pruritului cu eozinofilia, am observat că 5 din 6 pacienți cu eozinofilie în grupul de LPP prezintă prurit asociat, generalmente discret-moderat, iar în grupul de MF, jumătate din cei care prezintă paraclinic eozinofilia asociază și prurit, descris ca intens în majoritatea cazurilor.

2.2.2 CONTRIBUȚII PRIVIND ASPECTELE ANATOMO-PATOLOGICE ȘI IMUNOFENOTIPICE

Modificările histopatologice în toate grupurile de limfoame cutanate sunt dificil de evaluat și necesită experiență și integrare clinică. Dificultatea este cu atât mai mare în MF, în special în stadiul de placă și în situațiile în care trebuie diferențiat de un parapsoriasis, mai ales LPP.

În prezenta cercetare au fost efectuate teste imunohistochimice (IHC) pentru mai mulți antigeni: markeri de celule T (CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8), markeri de celule B (CD20, CD79a), index proliferativ Ki67, markeri pentru celulele Langerhans (CD1a), marker al celulelor foliculare dendritice (CD21), marker al histiocitelor (CD68), proteina S100, MUM-1, bcl-2, bcl-6, pax-5, granzima B, perforina și marker pentru EBV.

Evaluarea dispoziției și prezenței limfocitelor atipice.

Analizând dispoziția și prezența limfocitelor atipice, am sesizat că în grupul de LPP și MF numărul acestora a fost considerabil mai mare. În SPP, limfocitele atipice au fost observate într-un număr mic de cazuri doar la nivelul epidermului. În MF, limfocitele atipice au fost prezente în majoritatea cazurilor la nivelul dermului și epidermului iar în LPP acestea au fost predominant la nivel epidermic.

Evaluarea dispoziției și prezenței microabceselor lui Pautrier.

Am remarcat, de asemenea, absența microabceselor lui Pautrier în SPP și prezența lor în LPP, dar într-o măsură mai mică decât MF. Același lucru, a fost evidențiat și în cazul epidermotropismului.

Evaluarea prezenței parakeratozei, a infiltratului perianexial și eozinofilic.

În continuare, am comparat în aceleași 3 loturi prezența parakeratozei, a infiltratului perianexial și eozinofilic. Parakeratoza a fost prezentă predominant în cazul LPP (50%), infiltratul perianexial predomină într-un procent mare în cazul MF, iar eozinofilele au fost prezente în infiltratul dermic într-un procent apropiat în toate cele 3 loturi.

Evaluarea markerilor limfocitelor T.

Raportul CD4/CD8 crește de la 1/1 în LPP spre 3-4/1 în lotul de MF și devine 1 în cazul MF cu transformare CD30. Trebuie menționat faptul că raportul CD4/CD8 poate fi, de asemenea, 1 sau chiar în favoarea CD8, sugerând o tranziție de la inflamator la neoplazic (LPP → MF).

2.2.3 CONTRIBUȚII PRIVIND GENETICA LIMFOAMELOR CUTANATE ȘI LIMFOPROLIFERĂRILOR BENIGNE

CNA în CTCL

Incluzând într-un singur grup toate CTCL (32 de probe), am generat o hartă care evidențiază pierderile și duplicațiile numărului de copii genetice CNA de-a lungul genomului. Revizuiind această hartă, am constatat că cele mai frecvente CNA, adică regiunile genomice cu dezechilibre frecvente, au constatat în câștiguri ale numărului de copii pe cromozomul 1p, 16q, 17, 19, în timp ce delețiile au fost punctiforme. Așa cum ne-am așteptat, s-a constatat că fiecare dintre aceste regiuni găzduiesc oncogene sau gene de supresie tumorală, cu roluri critice în evoluția și dezvoltarea acestor entități oncologice.

Delețiile de tip spike observate la nivelul 9p21.3 sunt corespunzătoare cu genele CDKN2A, CDKN2B și MTAP, care codifică proteine supresoare tumorale precum p14 (rol în protecția p53) și p16.

CNA în CBCL

În histograma CBCL, câștigurile adăpostesc locusuri precum 2p, 3q, duplicații pe cromozomul 7, 11q, 18q și pierderi la nivelul 1p, 8p, 10q, 15q, 16q și la nivelul cromozomului 17 și 19. TP53 este localizată pe 17p13.1 și ștergerea sa este ușor de observat pe histoplotul de CBCL. CBCL, se caracterizează printr-un spectru larg de dezechilibre, inclusiv câștiguri la nivelul cromozomului 18 care conține proto-oncogenul BCL-2.

CNA în MF versus LPP

În prezenta teză de doctorat, grupul LPP și cel al MF sunt grupuri omogene care conțin număr aproape egal de probe LPP=21, MF=22, cuprinzând de asemenea, cea mai mare parte a probelor studiului nostru.

După examinarea fiecărui grup, am observat că histogramele generate de-a lungul cromozomului 1-22 sunt remarcabil de asemănătoare, având o mulțime de CNA în comun. Așa cum s-a descris anterior, duplicațiile sunt mai frecvente decât ștergerile, atât pentru MF, cât și în cazul LPP. Duplicațiile sunt observate pe cromozomii 1p, locusuri pe cromozomii 3, 4p, un spike pe 6p, 9qter, unele pe cromozomul 10, 12qter, 18p și 18qter, 21, dar de departe, cei mai afectați sunt cromozomii 16, 17, 19, 20 și 22.

Delețiile sunt văzute mai rar ca porțiuni limitate din ADN.

Rearanjări ale receptorilor T (TCR)

Testarea clonalității TCR a fost efectuată pentru a facilita diagnosticul acestor două patologii. Rearanjările TCR au afectat 13 (10 afectând TCRB și 3 TCRA) eșantioane din grupul MF și 5 (exclusiv TCRB) în grupul LPP. Putem observa o diferență importantă între aceste patologii foarte similare. Clonalitatea TCR tinde să fie mai prezentă în probele MF, mai degrabă decât în LPP.

CNA în SPP

Observăm duplicații ale numărului de copii pe brațul scurt al cromozomului 1, locusul citogenetic p31-p33 fiind afectat în proporții mai mari decât în grupul LPP.

La nivelul cromozomului 4, observăm pierderi CNA pe toată lungimea cromozomului, cu un spike la nivelul locației 4p16.1, ce afectează peste 50% din cazuri. Această deleție, este comună cu cea din LPP, afectând MF în sens opus, prin duplicații ale acestui locus ADN. Este o contribuție care poate diferenția limfoproliferațiile benigne de cele maligne din spectrul CTCL, din cunoștințele noastre, studii în acest sens nefiind regăsite în literatură.

În histograma pentru cazurile de SPP, putem observa și CNA-uri ce afectează prin deleții cromozomul 6, 12p și duplicații de material genetic la nivelul cromozomului 4q13.3, 6p, 9qter, 16qter, 17, 19, 20, 21q, 22.

CNA în CTCL NOS

În contrast cu alte tipuri de limfom cutanat cu celule T cum ar fi ALCL, CTCL NOS, are un prognostic mai sever și o evoluție agresivă. Lotul de pacienți din prezenta teză de doctorat, cuprinde 5 probe de CTCL NOS. Cu toate că numărul de probe este limitat, am observat modificări semnificative în materie de CNA. CNA-urile sunt predominant câștiguri de material genetic, ce afectează cromozomul 1p, 16q,4p, 5q, 10q, cromozomii 17, 19 și 20 fiind afectați în totalitate. Delețiile în grupul nostru sunt puține și limitate afectând cromozomul 1, 5, 7qter și 9p.

CNA în LyP

În cele 2 cazuri de Papuloză Limfomatoidă cuprinse în prezenta teză de doctorat, am observat CNA-uri puține și punctiforme, predominante de deleții și câteva duplicații. Înafara numărului mic de cazuri din această categorie de limfoame cutanate, puținele CNA-uri observate în analiza noastră, se poate explica și prin faptul că LyP este o patologie cronică cu o prezentare clinică variată însă o evoluție nonagresivă.

2.3 DISCUȚII

Mecanismele oncologice maligne, nu sunt doar rezultatul unei proliferați necontrolate ci sunt determinate și de factori din micro mediul cutanat și din cel la care se expune fiecare individ.

Complexitatea lucrurilor, este dată de faptul că o singură variație sau alterare focală a unui locus sau a unei gene, de cele mai multe ori nu este necesară sau suficientă în declanșarea sau evoluția unei patologii. O multitudine de pierderi sau duplicații în locusuri multiple, cu influențe directe sau indirecte, conduc la acea variație genetică interindividuală și totodată spre alterări în numărul de copii (CNA), care au rol în declanșarea cancerului.

Provocarea, este aceea de a determina care dintre genele implicate sunt sensibile la aceste variații sau alterări în numărul de copii, încât să inițieze și să susțină neoplazia și în același timp, să inhibe mecanismele de apărare. Modificările aparent aleatorii, care se sumează procesului de inițiere și creștere tumorală trebuie studiate pe probe suficiente care să permită tragerea unei concluzii pertinente.

3 CONCLUZII

Progresele făcute în domeniul profilării expresiei genice și a secvențierii de nouă generație, au condus la noi mecanisme de cunoaștere a patogenezei și căii moleculare din limfoamele cutanate.

Modificările în numărul de copii apar frecvent în limfoamele cutanate, cum de altfel, sunt prezente în cancere în general, afectând nu doar prin deleții, genele de supresie tumorală sau prin duplicații, oncogenele, ci indirect, mecanisme mai complexe, căi de semnalizare și de feedback, prin intermediul genelor intermediare.

Complexitatea lucrurilor, este dată de faptul că o singură variație sau alterare focală a unui locus sau a unei gene, de cele mai multe ori nu este necesară sau suficientă în declanșarea sau evoluția unei patologii. O multitudine de pierderi sau duplicații în locusuri multiple, cu influențe directe sau indirecte, conduc la acea variație genetică interindividuală și totodată spre alterări în numărul de copii (CNA), care au rol în declanșarea cancerului. Provocarea, este aceea de a determina care dintre genele implicate sunt sensibile la aceste variații sau alterări în numărul de copii, încât să inițieze și să susțină neoplazia și în același timp, să inhibe mecanismele de apărare. Modificările aparent aleatorii, care se sumează procesului de inițiere și creștere tumorală trebuie studiate pe probe suficiente care să permită tragerea unei concluzii pertinente și mai apoi să conducă la crearea unei baze de date cuprinzătoare a tuturor acestor alterări a numărului de copii în diferitele tipuri de cancer.

Rezultatele acestui studiu doctoral, au fost în concordanță cu raportări anterioare, subliniind încă o dată că duplicațiile sunt CNA-uri care afectează predominant Limfoamele cutanate cu celule T iar delețiile, sunt apanajul predominant al Limfoamelor cu celule B. S-au evidențiat, așa cum era de așteptat, că locusuri importante cu afectări ale CNA, găzduiesc gene de supresie tumorală sau oncogene importante în patologia cancerelor. În loturile studiate, au fost implicate modificări CNA la nivelul unor locusuri ce găzduiesc gene precum: CDKN2A, CDKN2B, MTAP, TP53, BCL-2, MALT1, GLI1, MDM2, mTOR, PIK3CD, ZAP70, MLF1, SP100, TNF, NOTCH1, FAS, CDKN1B, NUMB, XRCC3, STAT, SOCS3, RARA, BIRC5, NDC80, CD70, JAK3, GDF15.

Limfoamele cutanate sunt caracterizate de profile CNA complexe, în conformitate cu patogeneza lor complexă. În plus, este important nu numai numărul de CNA, ci și locul aberațiilor cromozomiale. Identificarea dezechilibrelor genomice specifice, ar putea oferi cunoștințe critice ale acestor evenimente moleculare subiacente. Mai mult, modificările genomice pot contribui la clasificări mai exacte a acestui spectru de patologii, care încă reprezintă un subiect de dezbatere. Toate acestea, rezultă în dezvoltarea unor tratamente mai specifice care prin acțiunea țintită, spre molecule clare, pot schimba cursul vieții pacienților și speranța acestora de viață, evitând totodată, efectele adverse ale tratamentelor convenționale.

Lumea științifică trebuie să facă eforturi continue pentru a dezvălui ordinea din haosul ce caracterizează procesul neoplazic. Biologia moleculară necesită identificare și semnalizare directă a fenomenelor ce duc la rezistență și adaptare a celulei neoplazice. Răspunzând acestor necesități se pot dezvălui soluții terapeutice și profilactice inovative, pentru ceea ce se cunoaște ca fiind cea mai proeminentă, constantă și plină de provocări patologie: cancerul.