

IMMUNOFENOTYPOWA DIAGNOSTYKA CHŁONIAKÓW NIEZIARNICZYCH U DZIECI

IMMUNOPHENOTYPE IN DIAGNOSIS OF NON-HODGKIN'S LYMPHOMA IN CHILDREN

Anna PITUCH-NOWOROLSKA¹, Bogdan MAZUR²

¹Zakład Immunologii Klinicznej, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii,
Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego; ²Śląski Uniwersytet Medyczny,
Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii

Streszczenie: W pracy przedstawiono zasady diagnostyki chłoniaków nieziarniczych u dzieci z propozycją podstawowego zestawu przeciwciał monoklonalnych do oceny immunofenotypu komórek chłoniakowych. Omówiono najczęstsze postacie chłoniaków nieziarniczych u dzieci z uwzględnieniem immunofenotypu i znaczenia ekspresji niektórych determinant dla klasyfikacji tych rozrostów.

Summary: The basic indications for immunophenotype assay in diagnosis of non-Hodgkin's lymphoma (NHL) in children including monoclonal antibodies sets are shown. Classification and description of given types of NHL in children and clinical significant of determinants expression are discussed.

Cytometria przepływowa jest podstawową metodą badania zawiesiny komórkowej, w tym również komórek szpiku, krwi obwodowej, pobranych wycinków guza czy węzłów chłonnych. Najczęściej do badań kierowany jest pobrany fragment węzła chłonnego czy guza ze wstępnym rozpoznaniem chłoniaka. W ocenie cytometrycznej powinna być uwzględniona możliwość odczynu węzłowego, czyli obecności wszystkich prawidłowych komórek węzła chłonnego o zmienionych proporcjach i cechach aktywacji. W badaniach rozrostów komórek hematopoetycznych cytometria pozwala na określenie linii, z której pochodzi komórka nowotworowa, ocenę jej stopnia zróżnicowania i dojrzałości oraz opis zaburzeń ekspresji determinant powierzchniowych i cytoplazmatycznych. Określenie immunofenotypu powinno obejmować ocenę ekspresji determinant restrykcyjnych dla danej linii pochodzenia komórek hematopoetycznych oraz determinant nierestrykcyjnych związanych z różnymi etapami dojrzewania i różnicowania tych komórek, jak i determinant obecnych w cytoplazmie komórek (zawsze restrykcyjnych). Oznaczanie obecności determinant cytoplazmatycznych jest związane z utrwalaniem komórek i zwiększeniem przepuszczalności

blony komórkowej (permeabilizacja). Można stosować równocześnie obydwa sposoby barwienia (najpierw powierzchniowe na żywych komórkach, a potem cytoplazmatyczne po utrwaleniu komórek), co zwiększa ilość informacji o danej populacji komórkowej. Określenie immunofenotypu komórek chłoniakowych, podobnie jak w ostrych białaczkach, jest ważne dla klasyfikacji danej postaci rozrostu, możliwości określenia stopnia remisji oraz poszukiwania choroby resztkowej metodą cytometrii przepływowej.

Diagnostyka rozrostów komórek hematopoetycznych jest kompleksowa i obejmuje ocenę morfologiczną, określenie immunofenotypu i zmian genetycznych (mutacje, translokacje, delecje itp.). W dotychczasowej diagnostyce nieziarniczych chłoniaków u dzieci podstawą klasyfikacji była ocena histologiczna i badania immunohistochemiczne wspomagające tę klasyfikację. Rozszerzenie diagnostyki o ocenę immunofenotypu metodą cytometrii przepływowej jest klinicznie istotne, gdyż pozwala precyzyjnie scharakteryzować komórkę nowotworową w krótkim czasie, co w przypadku nowotworów o wysokim stopniu złośliwości jest krytyczne. Ponadto umożliwia ocenę stopnia dojrzałości i różnicowania komórek ułatwiając klasyfikację postaci prekursorowych chłoniaków nieziarniczych. Postacie te mają inne rokowanie i inne schematy terapeutyczne.

Chłoniaki nieziarnicze u dzieci należą do grupy nowotworów z małych okrągłych komórek (*small round cell tumours*), do których należą jeszcze m.in. guz Ewinga i rozrosty neurogenne (neuroblastoma, PNET). Grupa chłoniaków nieziarniczych obejmuje rozrosty komórek obecnych w narządach limfatycznych, tj. grasicy, węzłach chłonnych i luźnej tkance limfatycznej. Komórki rozrostowe pochodzą z linii limfocytów T i B, odpowiadają komórkom NK oraz komórkom bezmarkerowym stanowiącym minimalny odsetek w prawidłowych narządach limfatycznych.

W diagnostyce tych rozrostów zestawy przeciwciał obejmują te determinanty, które są obecne na wszystkich etapach ontogenezy limfocytów T i B. Zestawy proponowane dla diagnostyki chłoniaków nieziarniczych stanowią pewien wybór oznaczania obecności determinant typowych dla poszczególnych etapów ontogenezy tych komórek. Oznaczanie obecności determinant z linii mieloidalnej nie ma większego uzasadnienia. Podstawą analizy cytometrycznej jest zestaw przeciwciał monoklonalnych znakowanych co najmniej 3 różnymi fluorochromami dla determinant, pozwalających na rozpoznanie najczęstszych postaci chłoniaków nieziarniczych, jak i postaci chłoniaków rzadko spotykanych u dzieci (chłoniak typu MALT, postacie skórne – zespół Sezary'ego, *Mycosis fungoides*).

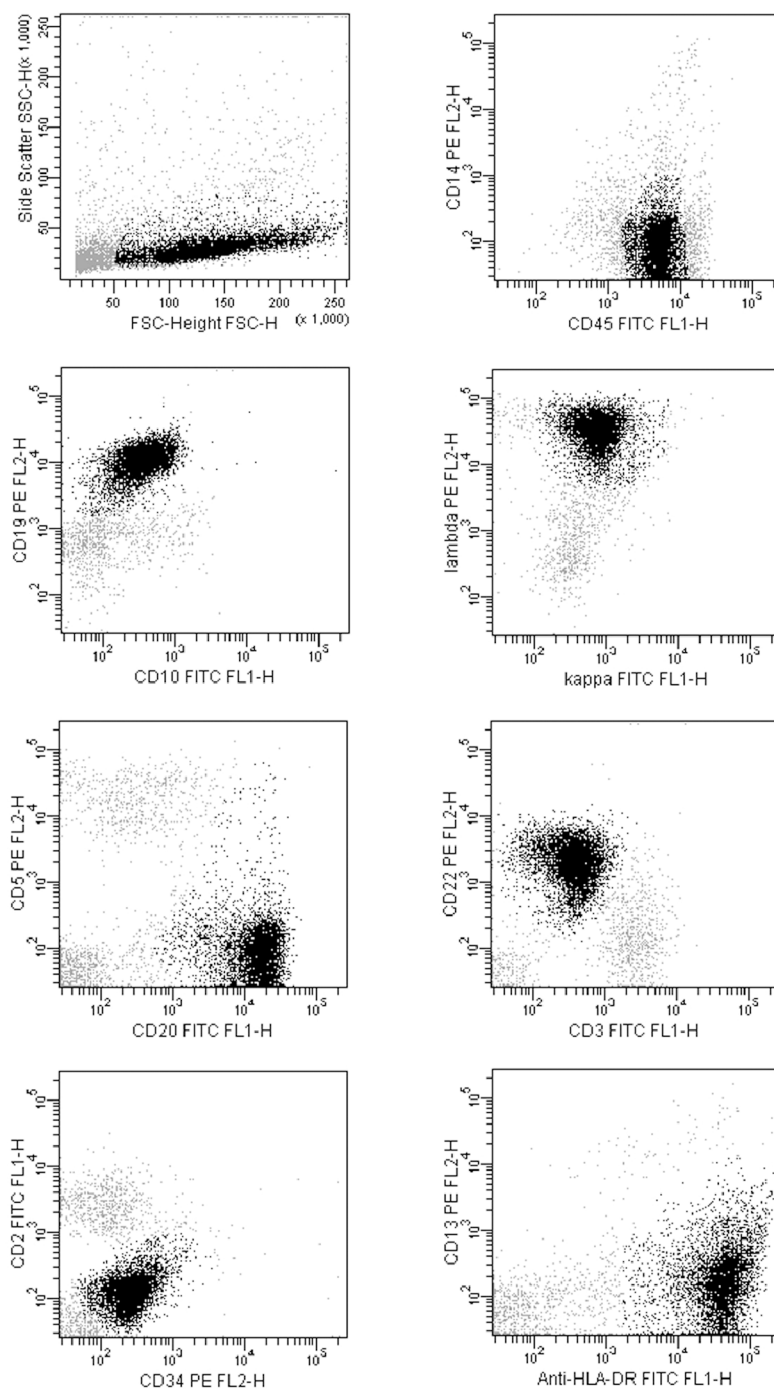
U dzieci chłoniaki nieziarnicze są w większości nowotworami o bardzo wysokiej dynamice proliferacyjnej, czyli wysokiej złośliwości. Należą one do trzech głównych typów: limfoblastycznych z linii limfocytów T i B, z dojrzałych limfocytów B (chłoniak typu Burkitta i Burkitto-podobny – *Burkitt-like*) oraz chłoniaki typu olbrzymio-komórkowego i anaplastycznego. Te ostatnie wymagają bardzo szczegółowej diagnostyki i stwarzają wiele problemów. Rokowanie w tych postaciach jest gorsze aniżeli w chłoniakach limfoblastycznych i typu Burkitta.

Zestawy przeciwciał powinny obejmować determinanty charakterystyczne dla wszystkich postaci chłoniaków nieziarniczych występujących u dzieci z uwzględnieniem postaci rzadkich oraz nietypowych immunofenotypów. Podstawowy zestaw przeciwciał powinien zawierać przeciwciała dla determinant restrykcyjnych i nierestrykcyjnych typowych dla linii limfocytu T (CD1a, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8), linii limfocytu B (CD19, CD10, CD20, CD22, HLA-DR, łańcuchy ciężkie i lekkie immunoglobulin) oraz determinanty dla form prekursorowych: CD34, CD38, (ekspresja powierzchniowa), CD79a, CD38, TdT (końcowa deoksytransferaza) (ekspresja cytoplazmatyczna). Dla diagnostyki form olbrzymio-komórkowych i anaplastycznych oraz innych, rzadko występujących u dzieci przydatne są przeciwciała dla: ALK-1, CD30, bcl-2, bcl-6, CD25, EMA, TCR, TCR, CD16, CD56 i CD57 (postać rozrostu komórek NK). Ocenę stopnia proliferacji (odsetek komórek w fazie pozaspoczynkowej) często wykonuje się na podstawie obecności przeciwciała dla determinanty Ki-67.

Determinanta CD45 nie jest markerem klasyfikacyjnym w chłoniakach nieziarniczych, ale jest ważna w przypadku podejrzenia zajęcia węzła chłonnego przez nowotwór spoza układu hematopoetycznego. Wykazanie braku ekspresji CD45 może potwierdzić takie podejrzenie.

W diagnostyce immunofenotypowej chłoniaków nieziarniczych nie ma ustalonych, „standardowych” kombinacji przeciwciał, aczkolwiek opisywane są takie zestawy, np. CD23/CD10/CD20/CD19, CD4/CD7/CD3/CD8. Propozycje dotyczą raczej uproszczenia wstępnej diagnostyki i ustawienia dwuetapowo oceny cytometrycznej – pierwszy etap to zestaw przeciwciał pozwalający na scharakteryzowanie linii, z której pochodzą komórki rozrostowe (CD79a, CD3, TdT – cytoplazmatyczne, CD19, CD7, CD4, CD56 – powierzchniowe), a w drugim etapie uzupełnienie o przeciwciała dla determinant tylko z linii rozrostu, np. dla chłoniaka z linii limfocytu B – CD10, CD20, CD22, HLA-DR, łańcuchy ciężkie i lekkie immunoglobulin, dla chłoniaka z linii limfocytu T – CD2, CD5, CD6, CD1a, CD8 i determinanty dodatkowe – charakterystyczne dla chłoniaków nieziarniczych o wysokim stopniu złośliwości – ALK-1, CD30, bcl-2, bcl-6 itp. Inną propozycją jest, podobnie jak w diagnostyce ostrych białaczek, jednorazowe barwienie z wykorzystaniem pełnej listy przeciwciał. Jest to mniej czasochłonne, ale też i droższe, bo nie ma selekcji przeciwciał. Zazwyczaj ilość komórek uzyskanych z wycinka guza lub podzielonego węzła chłonnego jest na tyle duża, że można sobie pozwolić na dwuetapowe badanie, na uzupełnianie barwień w obrębie 24 godzin. W sytuacji, w której nie ma możliwości oceny morfologicznej na podstawie skrawka mroźkowego badanie pobranego węzła chłonnego powinno być wykonane jednoetapowo z uwzględnieniem możliwości istnienia odczynowego węzła chłonnego lub węzła zajętego przez nowotwór spoza układu hematopoetycznego.

Najczęściej stosowaną obecnie klasyfikacją chłoniaków nieziarniczych o wysokim stopniu złośliwości jest klasyfikacja wg REAL i WHO. Obydwie uwzględniają diagnostykę kompleksową, tj. histologię guza/węzła chłonnego, immunofenotyp (bez względu na metodę oznaczenia – immunohistochemiczną lub cytometryczną) oraz zaburzenia genetyczne (badane technikami molekularnymi).



RYCINA 1. Typowy immunofenotyp chłoniaka z dojrzałych limfocytów B (Burkitta) u dziecka. Większość komórek badanego węzła chłonnego stanowią dojrzałe limfocyty B CD19+/CD20+/CD22+. Limfocyty B mają na swojej powierzchni łańcuchy lekkie Ig λ , co potwierdza klonalny proces rozrostowy

Rozrosty z linii limfocyту B u dzieci obejmują:**1) postaci limfoblastyczne (prekursorowe) limfocyту B:**

Są to rozrosty guzowe, ale o fenotypie komórek odpowiadającym prekursorom limfocyту B na poszczególnych etapach ontogenetycznych.

Najwcześniejsze prekursory o immunofenotypie: CD34, CD38, HLA-DR, CD79a, TdT (cytoplazma), CD22, CD19 odpowiadają postaci progenitora B (proB), bardziej dojrzałe wykazują dodatkowo ekspresję CD10 i odpowiadają *common ALL*. W kolejnym etapie ontogenetycznym limfocyту B w cytoplazmie stwierdza się łańcuchy ciężkie immunoglobulin (μ i δ). Komórki chłoniaka odpowiadającego etapowi pre B wykazują ekspresję CD79a, CD19, częściowo CD38, CD20, CD22, HLA-DR. Obecność CD34, CD10 sugeruje nietypowy immunofenotyp (asynchroniczny).

W tej postaci chłoniaków istotne jest to, że jeśli w okresie pierwotnym jest to postać guzowa bez zajęcia szpiku, nawrót może być w formie ostrej białaczki o takim samym immunofenotypie.

2) dojrzałe limfocyты B o monoklonalnym rozroście to chłoniak typu Burkitta i Burkitto-podobny

Immunofenotyp wskazuje na dojrzały limfocyt – CD79a, CD19, CD20, CD22, (CD23), HLA-DR, na powierzchni i w cytoplazmie łańcuch ciężki (GAM) i jeden łańcuch lekki (kappa lub lambda) immunoglobulin. Chłoniak Burkitto-podobny charakteryzuje się brakiem łańcuchów ciężkich immunoglobulin na powierzchni komórek oraz obecnością *bcl-2* w około 30% przypadków. Obecność *bcl-2* nie jest typowa dla tej postaci chłoniaka.

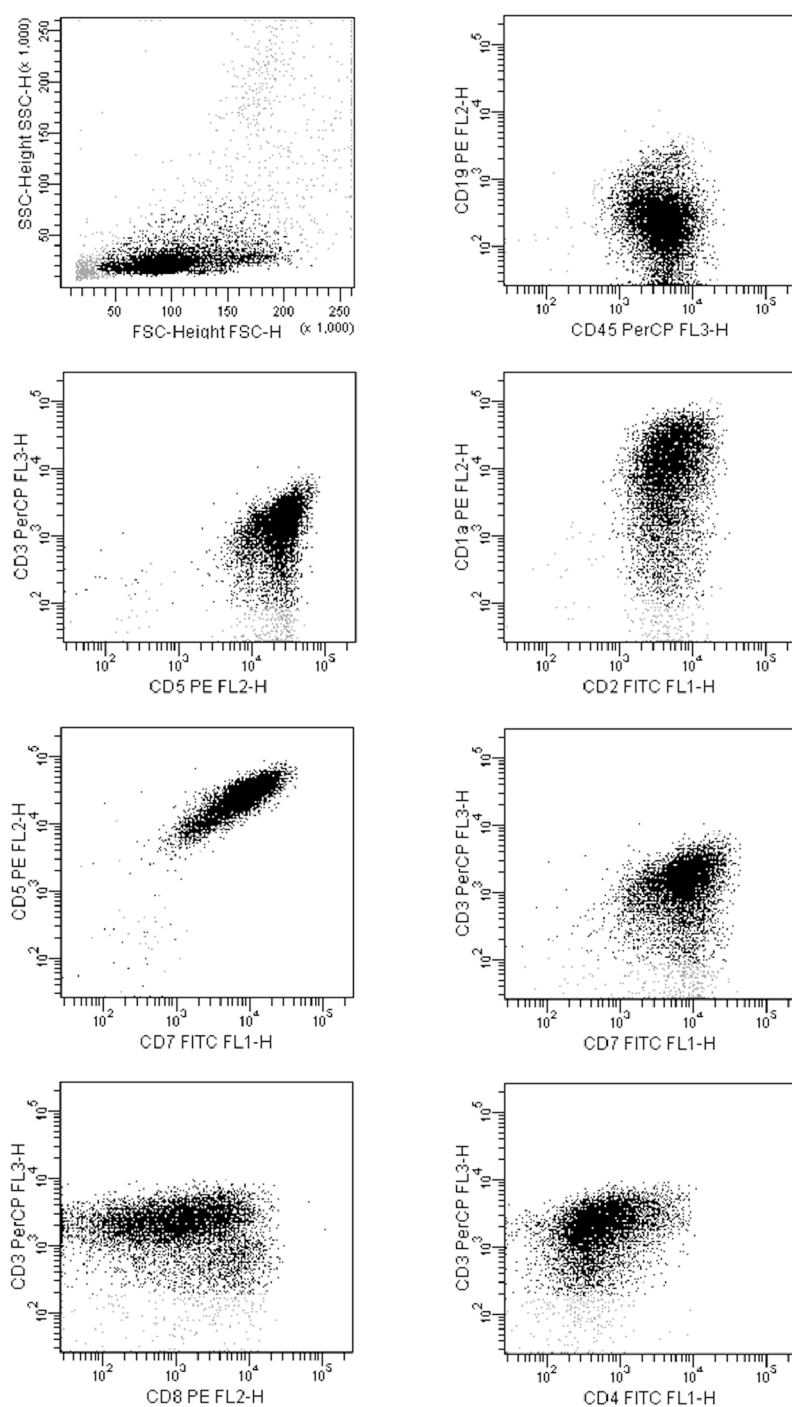
3) szczególne postaci chłoniaków nieziarniczych z dojrzałych limfocytów B

Należą do nich m.in. wywodzący się z luźnej tkanki limfatycznej związanej z błonami śluzowymi MALT oraz chłoniak B bogaty w limfocyты T (TCRBCL). Chłoniak typu MALT jest często kojarzony z zakażeniem *Helicobacter pylori*, a obecność tych bakterii jest uważana za czynnik indukujący rozrost. Chłoniak typu MALT występuje u nastolatków i jest jedynym chłoniakiem o niskim stopniu złośliwości, aczkolwiek jego przebieg u dzieci jest bardziej agresywny aniżeli u dorosłych. Najczęściej MALT dotyczy ściany żołądka, nie opisano u dzieci postaci jelitowych. Immunofenotyp komórek jest typowy dla dojrzałych limfocytów B – CD79a, CD19, CD20, CD22, HLA-DR, powierzchniowe łańcuchy ciężkie i jeden lekki immunoglobulin, dodatkowo można stwierdzić obecność CD5 w części przypadków. Obecność zmutowanego genu *bcl-2*, *bcl-6* stwierdza się u części przypadków, zwłaszcza o wyższym stopniu złośliwości (*high-grade MALT*).

TCRBCL jest postacią trudną do diagnostyki, ponieważ zawiesina komórek węzła chłonnego zawiera prawidłowe, często aktywowane limfocyты T i niewielką populację rozrostowych limfocytów B. Immunofenotyp limfocytów B chłoniakowych wykazuje cechy monoklonalności (jeden łańcuch lekki immunoglobulin).

Rozrosty z linii limfocyту T u dzieci obejmują:**1) postaci limfoblastyczne (grasicze):**

Immunofenotypy odpowiadają grasiczym etapom ontogenezy limfocyту T – najwcześniejszy (*early thymocyte*), w którym CD3 stwierdza się jedynie w cyto-



RYCINA 2. Typowy immunofenotyp chłoniaka z linii limfocyty T. Większość komórek badanego węzła chłonnego stanowią komórki z linii limfocyty T CD3+/CD5+/CD7+/CD2+/CD1a+ z jednoczesną ekspresją CD4+/CD8+

plazmie podobnie jak TdT, a na powierzchni występuje jedynie CD7, CD5, CD2, CD1a, CD38. Te komórki nie wykazują ekspresji ani CD4, ani CD8 (podwójnie ujemne). W kolejnym etapie grasiczego rozwoju prekursorzy limfocyty T (*thymocytes*) wykazują ekspresję CD3 i TdT w cytoplazmie, CD7, CD5, CD1a, CD2 i CD4 równolegle z CD8 (podwójnie dodatnie). Ta postać rozrostu prekursorowego z linii limfocytów T jest najczęstsza. W kolejnym etapie rozwoju grasiczego limfocyt T (*late thymocyte*) wykazuje ekspresję CD3 na powierzchni, CD7, CD5, CD2 i CD4 lub CD8 pojedyncze w części komórek równolegle na jednej komórce (CD4/CD8). Typowym objawem klinicznym jest guz śródpiersia, a większość pacjentów stanowią chłopcy powyżej 5 roku życia. W niewielkim odsetku przypadków chłoniaków o immunofenotypie najwcześniejszego prekursora grasiczego (*early thymocyte*) można stwierdzić niską ekspresję CD10 i CD20. Obecnie nie uważa się tej ekspresji za ko-ekspresję determinant z linii limfocyty B, ponieważ opisano ekspresję CD10 i CD20 na krótkich etapach grasiczej ontogenezy prawidłowych limfocytów T.

2) rozrosty z dojrzałych limfocytów T

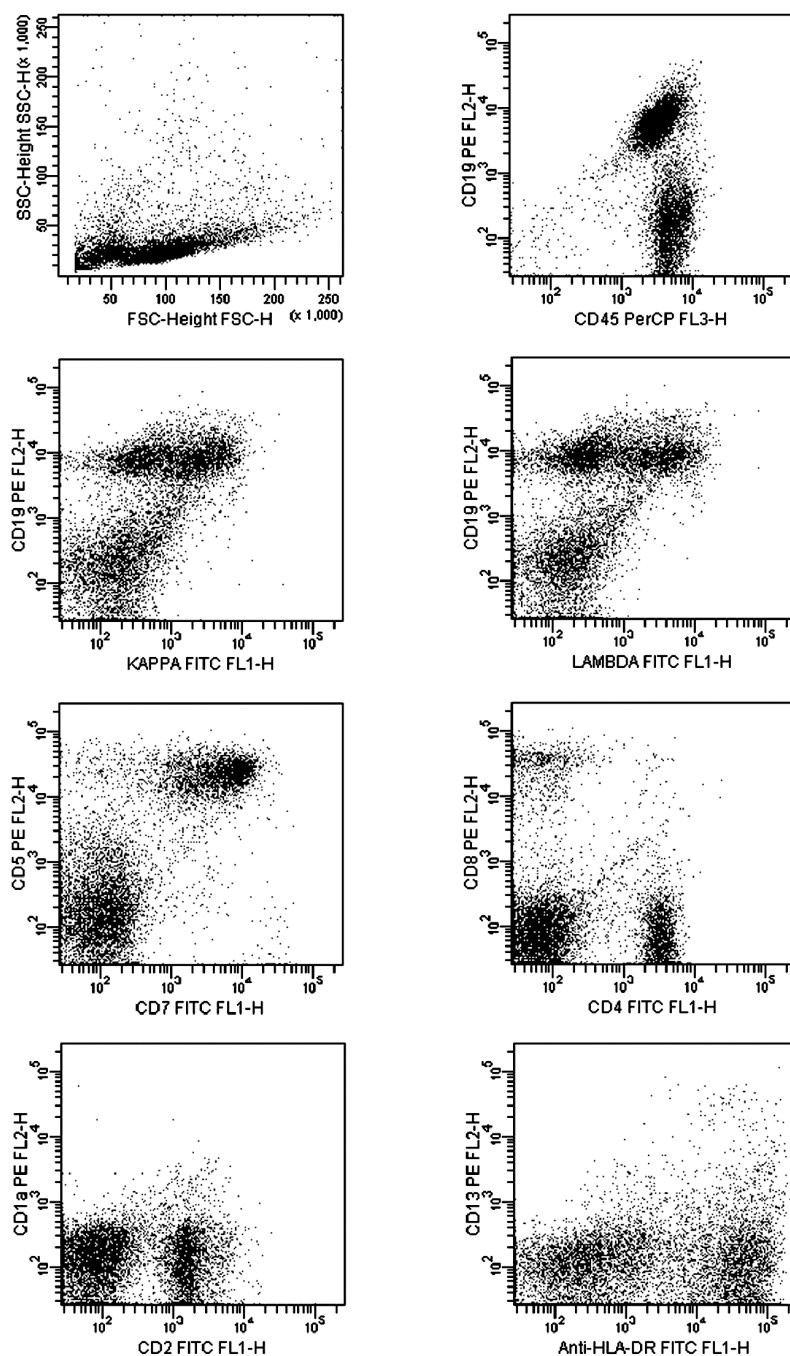
Występują u dzieci bardzo rzadko, ale u nastolatków można stwierdzić rozrost typu Sezary syndrome i *mycosis fungoides*. Obydwa typy należą do pozawęzłowych postaci rozrostów z linii limfocyty T. W ocenie immunofenotypu komórek chłoniakowych stwierdza się ekspresję CD3, CD5, CD2, CD7 (nie wszystkie przypadki), CD1a, CD4 w większości, CD8 część przypadków.

W ocenie immunofenotypów komórek rozrostowych z linii limfocyty T należy zwracać uwagę na heterogenność ekspresji determinant. Zjawisko to występuje częściej w ostrych białaczkach T komórkowych, rzadziej w chłoniakach nieziarniczych, ale np. w *Mycosis fungoides* czy zespole Sezary'ego stwierdza się „gubienie” determinant, np. CD7. Rzadką formą chłoniaka jest skórna postać u niemowląt. Najczęściej jest to chłoniak T komórkowy (limfoblastyczny), ale opisano również rozrosty z linii limfocyty B (również limfoblastyczne). Trudność takiej diagnostyki to nie tylko problem uzyskania zawiesiny komórkowej do badań cytometrycznych, ale i diagnostyka różnicowa z innymi nowotworami (np. neuroblastoma) oraz schorzeniami skóry (np. rumienie).

Chłoniaki olbrzymiokomórkowe i anaplastyczne:

1. Z linii limfocyty B – rozsiany chłoniak z komórek olbrzymich – DLBCL (*diffuse large B cell lymphoma*) jest typowym przykładem rozrostu z tej grupy. Immunofenotyp tych komórek odpowiada dojrzałemu limfocytowi B – CD79a, CD38, CD19, CD20, CD22, HLA-DR, powierzchniowe łańcuchy ciężkie i lekkie immunoglobulin. Charakterystyczna dla tego chłoniaka jest obecność bcl-2, bcl-6 i cykliny 1 w cytoplazmie jego komórek. Obecność bcl-2 i bcl-6 jest ważna zarówno dla rozpoznania tej postaci chłoniaka, jak i dla rokowania. Ekspresja bcl-2 i bcl-6 wydaje się być czynnikiem pogarszającym rokowanie w sposób znaczący.

2. Chłoniaki anaplastyczne (ALCL) wywodzą się z linii limfocyty T (większość przypadków) i B. Część postaci nie ma jednoznacznego immunofenotypu i te zaliczane są do grupy pośredniej (*intermediate*), bezmarkerowej (*null type*). Komórki ALCL z linii limfocyty T wykazują ekspresję determinant typowych dla tej linii komórkowej (CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8) oraz ekspresję determinant



RYCINA 3. Obraz analizy cytometrycznej reaktywnego węzła chłonnego. W węźle są obecne dojrzałe limfocyty B CD19+/CD20+/CD22+. Stosunek markerów powierzchniowych Igκ do Igλ na powierzchni limfocytów B pozostaje w zakresie normy, co świadczy o ich poliklonalnym charakterze. Są obecne limfocyty T CD3+/CD2+/CD5+, stwierdza się znaczną przewagę limfocytów CD4+ nad CD8+, ale w granicach normy

typowych dla tego rozrostu, tj. ALK-1, CD30, CD25, EMA (część przypadków). Uważa się, że ekspresja ALK-1 i CD30 potwierdza wstępne histologiczne rozpoznanie tej postaci chłoniaka.

Niewielki odsetek chłoniaków anaplastycznych stanowią rozrosty komórek NK oraz komórek o nieustalonym pochodzeniu niewykazujące ekspresji determinant hematopoetycznych (*null type*). Dla komórek NK typowa jest ekspresja CD16, CD56, CD57. Część ALCL z linii limfocytu T występuje w formie skórnej. Spotyka się je częściej u starszych dzieci i nastolatków. Forma ta ma gorsze rokowanie aniżeli inne chłoniaki pochodzące z tej samej linii limfocytów. Zmienność postaci klinicznych, zróżnicowanie objawów ogólnych oraz oporność na stosowane leczenie charakteryzują tę trudną diagnostycznie grupę rozrostów.

UWAGI OGÓLNE

Trudności diagnostyczne chłoniaków nieziarniczych są związane z występowaniem postaci rzadkich i nietypowych. Techniczne problemy polegają głównie na uzyskaniu niereprezentatywnej próbki i braku komórek chłoniaka w pobranym materiale. Innym problemem są chłoniaki występujące u niemowląt. Jest to bardzo rzadkie, opisywane są pojedyncze przypadki, ale należy się liczyć z taką możliwością.

Współpraca z patologiem jest podstawą dobrej diagnostyki chłoniaków nieziarniczych, jak i ziarnicy złośliwej. Metodą cytometrii nie można uwidocznić komórek Reed-Sternberga (są kruche i rozpadają się w czasie procedury barwienia), natomiast obraz pozostałych komórek węzła chłonnego pokazuje odczyn i aktywację limfocytów T. Jest to dodatkowa obserwacja uzupełniająca morfologiczną diagnozę choroby Hodgkina.

Kompleksowa diagnostyka chłoniaków nieziarniczych u dzieci jest wykonywana metodą kroków (*step by step*) – pobrany wycinek (nieutrwalony) jest dzielony na 3 fragmenty: dla oceny histologicznej i barwień immunohistochemicznych, cytometrii i badań molekularnych. Najszybszą metodą jest cytometria, która pozwala na wstępną ocenę już po 2–3 godzinach od pobrania materiału od chorego. Wstępne rozpoznanie jest potwierdzane przez patologa oceniającego preparat histologiczny i barwienia immunohistochemiczne. Wspólny wynik pozwala na zaklasyfikowanie danego chłoniaka, ustalenie rokowania na podstawie typu i objaw klinicznych oraz stopnia zaawansowania i wdrożenie leczenia. Czas od pobrania materiału do ostatecznego określenia rodzaju chłoniaka powinien zamykać się w 3–5 dniach. Postacie rzadkie, trudne wymagają dłuższego okresu, często ponownych barwień histochemicznych, dodatkowych analiz.

LITERATURA

- [1] CAIRO MS, RAETZ E, LIM MS et al. Childhood and adolescent non-Hodgkin's lymphoma. *Pediatric Blood Cancer* 2005; **45**: 753–769.
- [2] CRUMP M, GOSPODAROWICZ M, SHEPHERD FA. Lymphoma of the gastrointestinal tract. *Seminars in Oncology* 1999; **26**: 324–337.
- [3] GROGAN TM, MILLER TP, FISHER RI. A Southwest Oncology Group perspective in the revised European-American lymphoma classification. *Hematol/Oncol Clinics of North America* 1997; **11**: 819–846.
- [4] GASCOYNE RD. Pathologic prognostic factors in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Hematol/Oncol Clinics of North America* 1997; **11**: 847–862.
- [5] HARRIS NL, JAFFE ES, STEIN H et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 1994; **84**: 1361–1392.
- [6] ICHINOHASAMA R, DECOTEAU JF, MYERS ME et al. Three-color flow cytometry in the diagnosis of malignant lymphoma based on the comparative cell morphology of lymphoma cells and the reactive lymphocytes. *Leukemia* 1997; **11**: 1891–1903.
- [7] LAANE E, TANI E, BJORKLUND E et al. Flow cytometric immunophenotyping including bcl-2 detection on fine needle aspirates in the diagnosis of reactive lymphadenopathy and non-Hodgkin's lymphoma. *Cytometry* (part B) 2005; **64**: 34–42.
- [8] MANN G, ATTARBASCHI A, STEINER M et al. Early and reliable diagnosis of non-Hodgkin's lymphoma in childhood and adolescence. *Pediatr Hematol Oncol* 2006; **23**: 167–176.
- [9] OHNO H. Pathogenic and clinical implications of non-immunoglobulin; bcl-6 translocations in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Exp Hematopathol* 2006; **46**: 43–53.
- [10] PASQUALUCCI L, BERESCHENKO O, NIU H et al. Molecular pathogenesis of non-Hodgkin's lymphoma – the role of bcl-6. *Leuk Lymphoma* 2003; **44**: S5–S12.
- [11] Tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. W: WHO classification of tumours. [red.] Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. 2001.
- [12] TBAKHI A, EDINGER M, MYLES J et al. Flow cytometry immunophenotyping of non-Hodgkin's lymphomas and related disorders. *Cytometry* 1996; **25**: 113–124.
- [13] TRUPIANO JK, BRINGELSEN K, HSI ED. Primary cutaneous lymphoblastic lymphoma presenting in an 8-weeks old infant. *J Cutaneous Pathol* 2002; **29**: 107–112.
- [14] WEISENBURGER DD, ANDERSON JR, DIEBOLD J et al. Systemic anaplastic large cell lymphoma: results from the non-Hodgkin's lymphoma classification project. *Amer J Hematology* 2001; **67**: 172–178.

Anna Pituch-Noworolska,
Zakład Immunologii Klinicznej, Polsko-Amerykański Instytut Pediatrii
Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, ul. Wielicka 265, 30-663 Kraków
e-mail: mipituch@cyf-kr.edu.pl

Bogdan Mazur
Śląski Uniwersytet Medyczny, Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii
ul. 3-ego Maja 13/15, 41-800 Zabrze
e-mail: bmazur@slam.katowice.pl