UNIVERSITÀ DEGLI STUDI FIRENZE

FLORE
Repository istituzionale dell'Università degli Studi di Firenze

Lesioni cutanee «specifiche» in corso di leucemia linfatica cronica.

Questa è la Versione finale referata (Post print/Accepted manuscript) della seguente pubblicazione:

Original Citation:

Lesioni cutanee «specifiche» in corso di leucemia linfatica cronica / F. PRIGNANO; M. MORI; M. ALAIBAC; M. SANTUCCI; N. PIMPINELLI; A. BOSI. - In: GIORNALE ITALIANO DI DERMATOLOGIA E VENEREOLOGIA. - ISSN 0392-0488. - STAMPA. - 125:(1990), pp. 217-224.

Availability:

This version is available at: 2158/25460 since:

Terms of use:

Open Access

La pubblicazione è resa disponibile sotto le norme e i termini della licenza di deposito, secondo quanto stabilito dalla Policy per l'accesso aperto dell'Università degli Studi di Firenze (https://www.sba.unifi.it/upload/policy-oa-2016-1.pdf)

Publisher copyright claim:

(Article begins on next page)

27 April 2024

G ITAL DERMATOL VENEREOL 1990; 125:217-24

Lesioni cutanee «specifiche» in corso di leucemia linfatica cronica

F. PRIGNANO, M. MORI, M. ALAIBAC, M. SANTUCCI*, A. BOSI** e N. PIMPINELLI

Università di Firenze
Clinica Dermatologica II (Prof. B. Giannotti)
**Istituto di Anatomia e Istologia Patologica (Prof. G. Zampi)*
USL 10/D - Ospedale di Careggi, Firenze
***Divisione di Ematologia (Prof. P. L. Rossi Ferrini)*

"Specific" skin lesions in B-cell chronic lymphocytic leukemia.

Infiltrated skin lesions, histologically characterized by a perivascular and periadnexal lympho-histiocytic infiltrate in the upper amd deep dermis, are quite frequently observed in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia (C-CLL). The correct identification of the actual nature of these lesions, defined as *specific* on clinical and histologic grounds, is essential for a proper staging of the disease and, consequently, for the prognostic evaluation.

In 6 patients with B-CLL, we performed an immunohistochemical study of *specific* skin lesions, with the aim of exactly defining the actual nature of infiltrating cells. Only in 2 of 6 cases immunophenotyping evidenced the neoplastic B-cell nature of skin infiltrating lymphoid cells; this finding was clearly correlated with the clinical evolution of the disease, rapidly fatal in both cases.

The results of the present study indicate that the immunohistochemical analysis of skin lesions allows the proper staging of the disease, thus giving an important prognostic indication.

KEY WORDS: Chronic lymphocytic leukemia - *Specific* skin lesions - Immunohistochemistry.

I dati oggetto del presente lavoro sono stati in parte presentati dalla Dott.ssa F. Prignano in occasione del X Convegno di Immunopatologia Cutanea e Ricerca Sperimentale (Firenze, 29 Settembre 1989).

Questo lavoro è stato in parte finalizzato dai Ministri della Pubblica Istruzione e della Ricerca Scientifica e Tecnologia (fondi 60%).

Indirizzo per la richiesta di estratti: N. Pimpinelli, Clinica Dermatologica II dell'Università, Via della Pergola 58, 50121 Firenze.

In corso di leucemia linfatica cronica (LCC) si osservano lesioni cutanee cosiddette *specifiche* e *non specifiche* [1-3]. Vengono definite come *specifiche* le lesioni cutanee infiltrative (papule, placche, noduli) in cui l'esame istologico rivela un'infiltrazione cutanea da parte delle cellule leucemiche [3 4]. Le lesioni cosiddette *aspecifiche* sono in genere rappresentate da petecchie, ecchimosi e vari tipi di lesioni infettive della cute (piodermiti, herpes zoster, ecc.); tali lesioni sono interpretabili come il risultato di un alterato equilibrio omeostatico e/o di una depressa risposta immunitaria.

In corso di LCC si manifestano lesioni cutanee clinicamente ed istologicamente definibili come specifiche in una percentuale di casi stimata intorno al 5-20% [5 6]. Non in tutti i casi la tipizzazione immunologica dell'infiltrato cutaneo confermano la reale specificità delle lesioni osservate [7 8]. Una corretta interpretazione delle manifestazioni cutanee assume peraltro un significato decisivo ai fini della stadiazione e quindi della valutazione prognostica della malattia.

Nel presente studio abbiamo valutato il fenotipo immunologico e la distribuzione architetturale delle

Fig. 1. — Lesioni papulo nodulari e piccole placche in corrispondenza degli arti superiori e del tronco (caso 3).

Fig. 3. — Aspetto istologico delle lesioni: infiltrazione linfoistioide perivascolare e periannessiale nel derma superficiale e profondo (ematossilina-eosina, × 25).

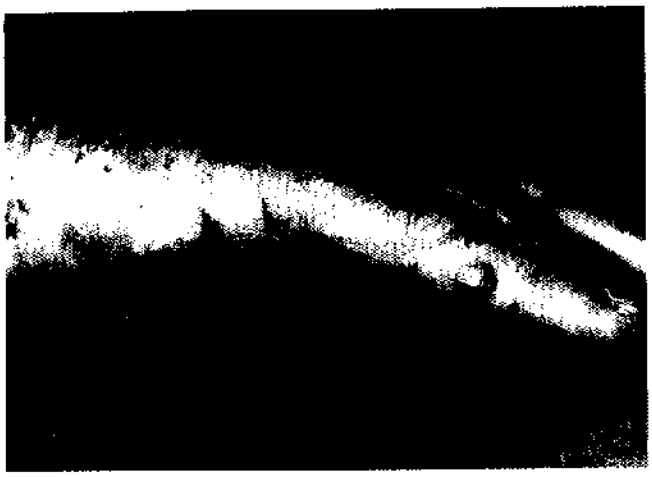

Fig. 2. — Lesioni nodulari delle dita della mano destra (caso 4).

TABELLA I. — *Dati clinici.*

Caso n.	Età (anni)	Sesso	Lesioni cutanee	Status (follow-up in mesi)*
1	54	F	Noduli multipli volto	Deceduto (6)
2	63	M	Lesioni papulo-nodulari multiple tronco, arti, cuoio capelluto	VCM (27)
3	68	M	Lesioni papulo-nodulari arti superiori, tronco	Deceduto (4)
4	73	M	Lesioni papulo-nodulari arti superiori, testa-collo	VCM (42)
5	64	M	Lesioni papulo-nodulari arti	VCM (26)
6	63	F	Lesioni papulo-nodulari arti	VCM (23)

*) dalla data della biopsia cutanea; VCM = vivente con malattia.

cellule infiltranti in lesioni cutanee clinicamente ed istologicamente definibili come specifiche comparse in 6 pazienti affetti da LCC a B-cellule (LLC-B) osservati nel periodo 1985-88, allo scopo di verificare la reale specificità delle lesioni stesse e di correlare tale dato con l'evoluzione clinica della malattia.

Materiali e metodi

Il presente studio è stato effettuato su 6 pazienti affetti da LLC-B con lesioni cutanee infiltrative clinicamente definibili come specifiche (fig. 1, 2), osservati nel periodo 1985-1988. I dati clinici relativi ai pazienti studiati sono schematizzati in tabella I. Il quadro istologico era caratterizzato in tutti i casi da un infiltrato linfoistioide a distribuzione parivascolare nel derma superficiale e profondo (fig. 3), costituito da piccole cellule linfoidi associate a grandi cellule istioidi e rare plasmacellule (fig. 4); tale reperto risultava compatibile con l'ipotesi clinica di una localizzazione cutanea del processo linfoproliferativo.

Indagini su sangue circolante

Le cellule mononucleate dei pazienti sono state separate mediante centrifugazione di sangue periferico eparinizzato su gra-

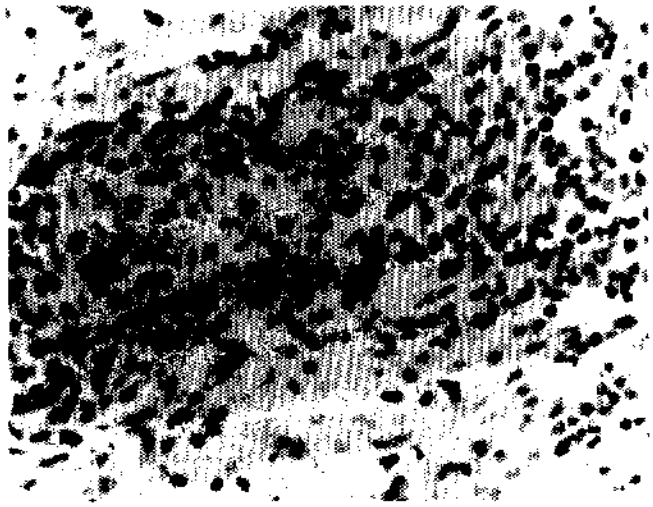

Fig. 4. — Aspetto istologico a maggiore ingrandimento: l'infiltrato è per la maggior parte composto da cellule linfoidi di piccola taglia, senza particolari caratteri di atipia, e cellule istiocitarie (ematossilina-eosina, ×250).

TABELLA II. — *Anticorpi monoclonali utilizzati.*

Anticorpo	Cluster di differenziazione	Fonte commerciale	Specificità
T11	CD2	CC, UK	Rec. rosette E
OKT3	CD3	ODS, USA	Cellule T mature
T4	CD4	CC, UK	Cellule T helper/inducer
OKT8	CD8	ODS, USA	Cell. T suppr./cytotox
OKT6	CD1a	ODS, USA	Cellule di Langerhans e correlate
anti-cALLA	CD10	BD, USA	Antigene comune LLA
B1	CD20	CC, UK	Cellule B
Leu 14	CD22	BD, USA	Cellule B
anti-kappa	—	BD, USA	Catene leggere kappa
anti lambda	—	BD, USA	Catene leggere lambda
OKM1	CD11b	ODS, USA	Monociti/macrofagi
Leu M5	CD11c	BD, USA	Monociti/macrofagi
Leu M3	CD14	BD, USA	Monociti/macrofagi
anti-HLA Dr	—	BD, USA	Molecole classe II
anti-IL2 rec.	CD25	BD, USA	Cellule attivate
Ki 1	CD30	DP, Denmark	Cellule attivate

ODS = Ortho Diagnostic Systems, Raritan, NJ; CC = Coulter Clone; BD = Becton & Dickinson, Sun Valley, CA; DP = Dakopatts.

diente di Ficoll Hypaque [10]. La frazione così ottenuta è stata depleta di monociti mediante aderenza al vetro [10]. La morfologia delle cellule è stata valutata in microscopia ottica su preparati citocentrifugati e colorati con Giemsa. Le indagini immunologiche sono state effettuate su sospensioni cellulari in soluzione salina di Hanks supplementate di siero fetale bovino al 5%. Sono state valutate la capacità delle cellule di formare rosette con emazie di montone (rosette E, RE) [11] ed il fenotipo immunologico di membrana mediante un'ampia serie di anticorpi monoclonali rivolti contro determinanti antigenici associati a cellule B e T linfocitarie e macrofagiche (queste ultime per escludere inquinamenti della sospensione); tali anticorpi monoclonali, con relativo cluster differenziativo, specificità [12] e fonte commerciale, sono elencati in tabella II.

La percentuale di cellule positive per i singoli anticorpi monoclonali è stata valutata con una metodica di immunofluorescenza indiretta [10]. La seconda incubazione è stata efettuata con anti-siero da capra anti-Ig di topo coniugato con ITCF (Meloy).

Indagini su cute

Le indagini immunoistochimiche per la ricerca di antigeni di membrana sono state eseguite su frammenti bioptici prelevati da cute lesionale conservata in OCT a −70°, dalla quale sono state ottenute al criostato sezioni dello spessore di 6 micron.

Per la ricerca degli antigeni è stata utilizzata un'ampia serie di anticorpi monoclonali, secondo una tecnica di immunoperossidasi indiretta amplificata con complesso streptavidina-biotina-perossidasi [13]; la specificità [12] e la fonte degli anticorpi monoclonali utilizzati sono illustrate nella tabella II. Appropriati controlli negativi e positivi sono stati allestiti in parallelo per ogni seduta sperimentale.

È stata effettuata una valutazione semiquantitativa dei risultati. In cinque campi microscopici consecutivi sono state valutate a ×250 le cellule positive su un totale di cento cellule, ed è stato scelto il valore percentuale medio risultante dalla valutazione dei cinque campi. Sono state considerate solo le cellule il cui nucleo era presente nel piano di sezione.

Risultati

Indagini su sangue circolante

L'esame morfologico dei preparati citocentrifugati e colorati ha evidenziato la presenza di una percentuale superiore al 70% di cellule linfoidi di piccola taglia senza evidenti caratteri di atipia.

I risultati della tipizzazione immunologica delle cellule mononucleate circolanti sono schematizzati in tabella III. In tutti i casi esaminati è stato riscontrato un aumento significativo delle cellule esprimenti antigeni di membrana associati ai B-linfociti (CD10+, CD20+, CD22+). Nei casi 3 e 4 è stata osservata una positività monoclonale per le catene leggere κ, nel caso 5 per le catene leggere λ. Nei casi 1, 2 e 6 le cellule mononucleate circolanti sono state marcate in percentuale trascurabile dagli anticorpi monoclonale anti-catene leggere. Parallelamente è stata osservata una riduzione significativa delle cellule esprimenti antigeni associati ai T linfociti maturi (CD3+, con una

TABELLA III. — *Indagini su sangue circolante.*

Anticorpo monoclonale	Paziente					
	1	2	3	4	5	6
OKT3 (CD3)	18%	21%	12%	16%	18%	13%
T4 (CD4)	5%	3%	5%	6%	8%	5%
OKT8 (CD8)	15%	14%	3%	10%	8%	6%
T11 (CD2)	58%	67%	74%	62%	55%	61%
J5 (CD10)	71%	72%	78%	82%	68%	75%
B1 (CD20)	82%	78%	86%	85%	80%	77%
Leu14 (CD22)	84%	77%	88%	85%	80%	75%
anti-kappa	2%	3%	82%	80%	3%	5%
anti-lambda	1%	1%	2%	1%	77%	1%
anti-HLA Dr	83%	82%	82%	88%	82%	86%
LeuM3 (CD14)	2%	1%	1%	1%	3%	1%

TABELLA IV. — *Indagine immunoistochimica su tessuto.*

Anticorpo monoclonale	Paziente					
	1	2	3	4	5	6
T11 (CD2)	+ + +	+ + +	+ + +	+ − +	+ + +	+ + +
OKT3 (CD3)	+	+ + +	+	+ − +	+ + +	+ + −
T4 (CD4)	+	+	+	+ +	+	+
OKT8 (CD8)	+	+ +	+	− +	+ −	+ −
OKT6 (CD1a)	—	+	—	+	−	+
anti-cALLA (CD10)	+ +	—	+ +	—	−	
B1 (CD20)	+ + +		+ + +	—	—	—
Leu 14 (CD22)	+ + +	—	+ + +	—	—	—
anti-kappa	—	—	+ +	—	−	
anti-lambda	−			—	—	—
anti-HLA Dr	− + +	+ + +	+ + +	+ + +	− + +	− + +
OKM1 (CD11b)	+	+	+	+	+	+
Leu M5 (CD11c)	+	+	+ −	+	+	+
Leu M3 (CD14)	+	+	+	+	+	+

— = <5%; + = 6-25%; + + = 26-50%; + + + = >50%.

certa prevalenza della sottopopolazione CD8+ rispetto a quella CD4+). È da sottolineare che la percentuale di cellule circolanti esprimenti il recettore per le emazie di montone (RE+, CD2+) è risultata significativamente superiore a quella delle cellule positive per i markers T linfocitari sopra indicati. Trascurabile è risultata la presenza di cellule ad immunofenotipo monocitario-macrofagico.

Indagini su cute

I risultati dell'indagine immunoistochimica con anticorpi monoclonali sono schematizzati nella tabella IV.

Fig. 5. Cellule B CD22+ sono evidenziabili in sede perlannessiale (immunoperossidasi, ×100; caso 3).

Nei casi 1 e 3 una percentuale di cellule infiltranti superiore al 50% è risultata positiva per i markers pan-B linfocitari CD20 e CD22 (fig. 5), ai quali risultavano invece negative le cellule nei casi 2, 4, 5 e 6; nel solo caso 3 è stata osservata una positività monoclonale per le catene leggere κ (40% circa delle cellule infiltranti); cellule positive per l'antigene comune della leucemia linfatica acuta (CD10, cALLa) sono state osservate nei casi 1 (30%) e 3 (40%), ma non nei casi 2, 4, 5 e 6.

In tutti i casi esaminati sono state osservate cellule T positive per l'anticorpo monoclonale anti CD3; tali cellule costituivano la grande maggioranza delle cellule dell'infiltrato nei casi 2, 4, 5 e 6 (fig. 6), mentre erano presenti in percentuale del 25 e 20% rispettivamente nei casi 1 e 3; il rapporto CD4/CD8 si è dimostrato alterato, risultando variabile da 1:1 a 1:3.

Fig. 6. — L'infiltrato dermico risulta per la maggior parte costituito da cellule T CD3+ (immunoperossidasi, × 100; caso 4)

Fig. 7. — In una sezione seriata rispetto alla figura precedente si osservano nell'infiltrato dermico numerose cellule dendritiche CD1a+ (immunoperossidasi, × 100; caso 4).

Cellule dentritiche OKT6 (CD1a)+, interpretabili come cellule avccessorie dei linfociti T, sono state osservate in tutti i casi; la loro percentuale, trascurabile (<5%) nei casi 1 e 3, è risultata variabile tra il 10% ed il 20% negli altri casi (fig. 7), mostrando quindi una chiara correlazione con la percentuale di linfociti T CD3+ osservata nei diversi casi. Cellule esprimenti il recettore per le emazie di montone (riconosciute dall'anticorpo monoclonale anti-CD2) sono risultate presenti in tutti i casi in percentuale variabile dal 70 all'85%; nei casi 1 e 3 non è stata osservata correlazione con il numero di cellule CD3+ (fig. 8, 9). In tutti i casi sono state osservate cellule a fenotipo monocitario-macrofagico (CD11b+, CD11c+, CD14+) in percentuale variabile dal 5 al 15% ed un'alta percentuale (>80%) di cellule HLA-Dr+.

Discussione

La corretta interpretazione delle lesioni cutanee cosiddette *specifiche* in corso di LLC-B ha un fondamentale valore clinico; L'infiltrazione della cute da parte delle cellule leucemiche costituisce infatti un dato prognostico sfavorevole, rappresentando una progressione nello stadio clinico della malattia. I classici criteri dell'esame istologico convenzionale — architetturale e citologico - non sono in grado di chiarire il dubbio interpretativo in molti casi, dal momento che l'infiltrato ha spesso caratteri del tutto simili a quelli osservati nelle dermatosi infiammatorie, i.e. piccole cellule linfoidi a distribuzione perivascolare nel derma superficiale e profondo [8]. La valutazione dell'espressione delle sIg (immunoglobuline

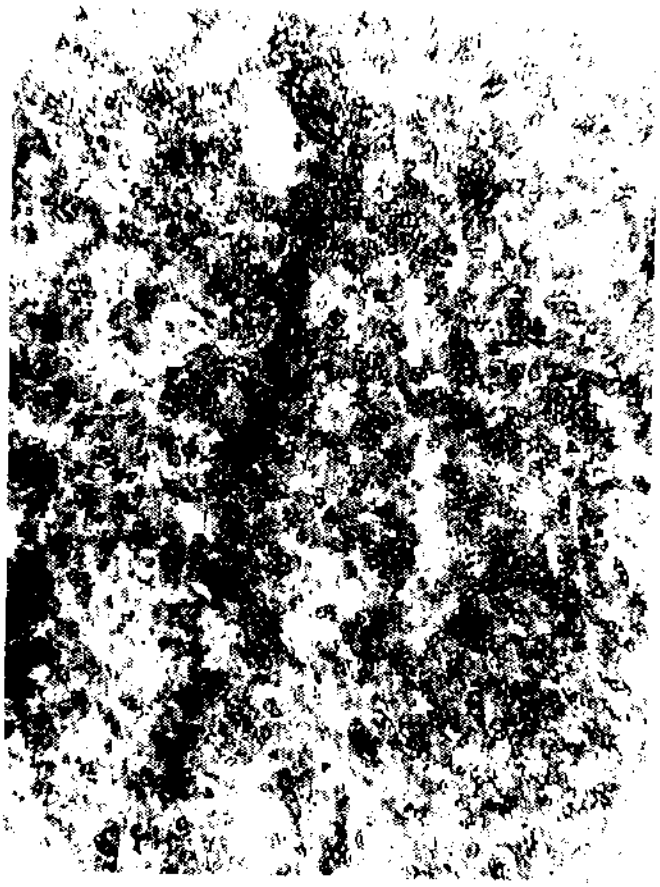

Fig. 8. — Numerose cellule CD2+ nell'infiltrato dermico (immunoperossidasi, ×250; caso 3).

Fig. 9. — Da notare la scarsità di cellule CD3+ in un campo microscopico comparabile a quello della figura precedente (immunoperossidasi, ×250; caso 3).

di superficie) e del recettore per i complessi EAC (emazie di montone, immunoglobuline e complemento) da parte delle cellule infiltranti risulta anch'essa spesso insufficiente, dal momento che l'espressione delle sIg da parte delle cellule neoplastiche della LLC-B è talora scarsa o addirittura assente [14, 15], e che le cellule leucemiche infiltranti la cute sembrano non legare i complessi EAC, a differenza di quelle isolate dal sangue periferico [8, 16]. L'avvento degli anticorpi monoclonali e la disponibilità di un numero sempre maggiore di markers hanno permesso di valutare in modo preciso e completo la natura delle cellule infiltranti la cute in corso di LLC-B [12]. Un recente studio [8] ha dimostrato che in uno solo dei sei casi di LLC-B esaminati le lesioni cutanee infiltrative — clinicamente e istologicamente definibili come specifiche — erano realmente dovute all'infiltrazione della cute da parte delle cellule leucemiche.

Nel nostro studio, solo in due dei 6 casi esaminati (n. 1 e 3) la valutazione immunoostochimica dell'infiltrato cutaneo ha consentito di interpretare come realmente specifiche lesioni cutanee clinicamente e istologicamente definibili come tali: la presenza di una percentuale di cellule infiltranti a fenotipo B (CD20+, CD22+, sIg+ monoclonale in un caso e sIg− nell'altro) superiore al 50% non lascia infatti adito a dubbi circa la natura dell'infiltrato stesso. Negli altri 4 casi (paziente 2, 4, 5, e 6) la maggior parte delle cellule infiltranti ha mostrato un fenotipo immunologico T maturo (CD3+), con un rapporto CD4/CD8 variabile da 1:1 a 1:3; sono state inoltre costantemente osservate cellule dendritiche CD1a+ associate ai linfociti

T, mentre sono risultate virtualmente assenti cellule di natura B linfocitaria. La percentuale di cellule infiltranti CD2+ è risultata superiore al 50% in tutti i 6 casi esaminati; nei casi 1 e 3, caratterizzati dall'infiltrazione cutanea da parte di cellule B neoplastiche, tale alta percentuale di cellule CD2+ faceva riscontro ad una modesta percentuale (8-18%) di cellule CD3+ (CD4+ o CD8+), interpretabili come cellule T reattive. Dal momento che nei casi 1 e 3 la percentuale di celule esprimenti antigeni B-associati (CD20+/CD22+) è risultata superiore al 50% al pari di quella delle cellule CD2+/RE+, è presumibile che almeno parte delle cellule B neoplastiche infiltranti la cute esprima il recettore per le emazie di montone, marker caratteristico dei linfociti T maturi riconosciuto dall'anticorpo monoclonale anti-CD2. Tale interpretazione — pur in assenza della conferma data dalla doppia marcatura — è suffragata dai dati della letteratura [12 17 18-26], secondo i quali l'espressione del RE da parte delle cellule B attivate e neoplastiche è piuttosto frequente. I dati sopraesposti confermano la necessità di testare un'ampia batteria di anticorpi monoclonali e di interpretare con prudenza le positività per i singoli anticorpi monoclonali, al fine di precisare inequivocabilmente la natura dell'infiltrato.

L'indagine immunoistochimica e la conseguente definizione della specificità delle lesioni cutanee in corso di LLC-B ha un'importante valore prognostico; i pazienti 1 e 3 — con manifestazioni cutanee specifiche — hanno infatti mostrato un'evoluzione clinica grave e rapidamente infausta, a differenza dei pazienti 2, 4, 5 e 6 nei quali la tipizzazione immunologica aveva regionevolmente escluso la presenza nella cute di cellule leucemiche infiltranti.

Non è possibile al momento attuale dare una spiegazione alle lesioni infiltrative cutanee di cui l'esame immunoistochimico nega la specificità. Queste lesioni, non riferibili a disturbi dell'emostasi o della risposta immune contro agenti infettivi, sono costituite da un infiltrato di cellule T CD2+, CD3+, a prevalente fenotipo CD8+. Dal momento che anche nel sangue circolante il rapporto CD4/CD8 appare alterato e tendenzialmente invertito, in via del tutto speculativa si può ipotizzare che le lesioni cutanee osservate in questi pazienti rappresentino l'espressione clinica di una attivazione del circuito T suppressor, il cui significato resta tuttavia non chiarito.

Ringraziamenti. — Gli Autori ringraziano sentitamente la Dott.ssa S. Ciolli, Assistente della Divisione di Ematologia dell'Ospedale di Careggi, USL 10/D di Firenze, per l'indagine immunologica su sangue circolante.

Riassunto

In corso di leucemia linfatica cronica a B cellule (LLC-B) si osservano spesso lesioni cutanee infiltrative, definite *specifiche*, in cui l'esame istologico rivela la presenza di un infiltrato linfoistiode dermico perivascolare e periannessiale principalmente composto da piccole cellule linfoidi senza caratteri di atipia.

In 6 pazienti affetti da LLC-B abbiamo effettuato uno studio immunoistochimico di lesioni cutanee *specifiche*, allo scopo di valutare la reale natura delle cellule infiltranti la cute.

In 2 dei 6 casi la tipizzazione immunologica ha rivelato una infiltrazione cutanea da parte di cellule B neoplastiche: questo dato appare in stretta correlazione con l'evoluzione della malattia, rapidamente infausta in questi 2 casi.

I risultati del presente studio indicano che l'esame immunoistochimico delle lesioni cutanee in corso di LLC-B permette la corretta stadiazione della malattia, dando così una importante indicazione prognostica.

PAROLE CHIAVE: Leucemia linfatica cronica - Lesioni cutanee *specifiche* - Immunoistochimica.

Bibliografia

1. Beek CH. Skin manifestations associated with lymphatic leukemia. Dermatologica 1948; 9:50-5.
2. Kerl H, Kresbach O, Hodl ST. Klinische und histologische Kriterien zur Diagnose und Klassification der Leukaemien der Haut. Hautartz 1978; 29(Suppl 3):97-9.
3. Buechner SA, Chin-Yang Li Daniel Su WP. Leukaemia cutis. A histopathological study of 42 cases. Am J Dermatopathol 1985; 7(2):109-19.
4. Bluefarb S. Leukemia cutis. Springfield: Charles C Thomas Publ, 1960; 55-73.
5. Stawisky MA. Skin manifestations of leukemia and lymphomas. Cutis 1975; 21:814-9.
6. Heilmeyer L, Moessner G, Hess K. Die lymphatische Leukaemie: Symptomatologie und Terapieergebnisse von 160 Faellen. Klin Wochenschr 1959; 37:790-3.
7. Daniel Su WP, Buechner SA, Chin-Yang Li. Clinicopathologic correlations in leukemia cutis. J Am Acad Dermatol 1984; 11:121-8.
8. Greenwood R, Barker DJ, Tring FC *et al.* Clinical and immunohistological characterization of cutaneous lesions in chronic lymphocytic leukemia. Br J Dermatol 1985; 113:447-53.
9. Smolle J, Kaudewitz P, Aberer E, Tomé R, Burg G, Kerl H. Immunoistochemische Classifizierung von kutanen Lymphomen und Pseudolymphomen. Hautarzt 1987; 38:461-6.
10. Aiuti F, Cerottini JK, Coombs RA *et al.* Identification, enumeration and isolation of B and T lymphocytes from human peripheral blood. Scand J Clin Immunol 1974; 3:521-5.
11. Pimpinelli N, Moretti S, Palermo A, Fattorossi A. Interessamento cutaneo in corso di leucemia miclo-monocitica. G Ital Dermatol Venereol 1985; 120:347-50.
12. Chan JKC, Ng CS, Hui PK. A simple guide to the terminology and application of leucocyte monoclonal antibodies. Histopathology 1988; 12:461-80.
13. Graf FM, Stauli R. Use of the avidine-biotine peroxidase complex (ABC) method for the localization of rabbit cathepsin B in cells and tissues. J Histochem Cytochem 1983; 31(6):803-8.
14. Anderson KC, Bates MP, Slaughenhoupt BL, Pinkus GS, Schlos-

smann SF, Nadler LM. Expression of human B-Cell associated antigens on leukemias and lymphomas: a model of human B Cell differentiation. Blood 1984; 58:1424-33.
15. Theml M. Die chronische lymphatische Leukemia. In: Bergemann H, ed. Leukemien. Handbuck der inneren Medizine. Berlin: Springer-Verlag, 1978; 2(4):519-22.
16. Burg G, Braun-Falco O. Leukaemic lymphoma/leukaemias. In: Burg G, Braun Falco O, eds. Cutaneous lymphomas, pseudolymphomas and related disorders. Berlin: Springer-Verlag, 1983; 342-52.
17. Foon KA, Todd RF. Immunological classification of leukemia and lymphoma. Blood 1986; 68:1-20.
18. Martin P, Hansen JA, Nowinski RC, Braun MA. A new human T cell differentiation antigen: unexpected expression on chronic lymphocytic leukemia cells. Immunogenetics 1980; 11:429-32.
19. Royston I, Magda J, Baird S, Meserve B, Griffiths J. Human T cell antigens defined by monoclonal antibodies: the 65000 Dalton antigen of T cells (T65) is also found on chronic lymphocytic leukemic cells bearing surface immunoglobulin. J Immunol 1980; 125:725-9.
20. Wang CY, Good RA, Ammirati P, Dymbart G, Evans RL. Identification of a p69,71 complex expressed on human T cells sharing determinants with B type chronic lymphocytic leukemia cells. J Exp Med 1980; 151:1539-43.
21. Kamoun M, Kadin MF, Martin PJ, Nettletton J, Hansen JA. A novel human T cells antigen preferentially expressed on mature T cells and also on (B type) chronic lymphatic leukemic cells. J Immunol 1981; 127:987-93.
22. Martin PJ, Hansen JA, Sladak AV, Nowiski RC. Monoclonal antibodies recognizing normal human T lymphocytes and malignant B lymphocytes: a comparative study. J Immunol 1981; 127:1920 6.
23. Wormley SB, Collins ML, Royston I. Comparative density of the human T cell antigenT65 on normal peripheral blood T cells and chronic lymphocytic leukemia. Blood 1981; 57:657-63.
24. Koziner B, Gebhart D, Denny T, Evans RL. Characterization of B cell type chronic lymphocytic leukemia cells by surface markers and a monoclonal antibody. Am J Med 1982; 73:802-6.
25. Caligaris-Cappio F, Gobbi M, Bofill M, Janossy G. Infrequent normal B lymphocytes express features of B chronic lymphocytic leukemia. J Exp Med 1982; 155:823-9.
26. Worman CP, Cowley JC. B-CLL cells express true endogenous E receptor after culture with T-cells and mitogens. Br J Haematol 1982; 52:205-8.