

Uniwersytet Jagielloński  
Collegium Medicum  
Wydział Lekarski

Joanna Szpor

**Ocena komórek dendrytycznych w chłoniakach skórnych.**

*Praca doktorska*

Promotor: dr hab. Krzysztof Okoń

Pracę wykonano w Katedrze Patomorfologii UJCM

Kierownik jednostki: dr hab. prof. UJ Dariusz Adamek

Kraków, rok 2013



*Pragnę złożyć najserdeczniejsze podziękowania:*

- *Prof. dr hab. Romanie Tomaszewskiej, dzięki której znajduję się w obecnym miejscu i ta praca doktorska miała szansę powstać, jak również za cenne rady przy redagowaniu pracy;*
- *Dr hab. Krzysztofowi Okoniowi za nieocenioną pomoc i bezcenne wskazówki przy opracowaniu statystycznym danych i interpretacji wyników oraz wyjątkowo cierpliwą i wnikliwą krytyczną ocenę maszynopisu, jak również nieustanną mobilizację do pracy;*
- *Dr Grzegorzowi Dyduchowi, dzięki któremu zrodził się pomysł obecnej pracy oraz za cierpliwą pomoc w trudnej i żmudnej reklasyfikacji chłoniaków, jak również niezliczone dyskusje, które pomogły w stworzeniu tej pracy;*
- *Dr Jackowi Czopkowi o nieprzeciętnej wiedzy informatycznej za cierpliwe objaśnienia zawłości programów komputerowych;*
- *Pozostałym kolegom z zespołu za cierpliwe znoszenie frustracji, powstających w trakcie bolesnego procesu twórczego;*
- *Mgr Grażynie Igielskiej i mgr Małgorzacie Wesołowskiej za wykonanie niezliczonych odczynów immunohistochemicznych i cierpliwe ich powtarzanie;*
- *Pani Ewie Więch za wykonanie nieprzeciętnej urody preparatów histologicznych.*



## SPIS TREŚCI

1. SKRÓTY .....	6
2. WSTĘP .....	8
2.1. Definicje.....	8
2.2. Klasyfikacje .....	8
2.3. Epidemiologia .....	9
2.4. Pierwotne skórne chłoniaki T-komórkowe.....	11
2.4.1. Ziarniniak grzybiasty .....	11
2.4.2. Zespół Sezary'ego.....	16
2.4.3. Białaczka/ chłoniak T-komórkowy dorosłych.....	18
2.4.4. Pierwotne skórne CD30+ choroby limfoproliferacyjne.....	18
2.4.5. Chłoniak z komórek T typu zapalenia tkanki podskórnej .....	22
2.4.6. Pozawęzłowy chłoniak z komórek NK/T, typu nosowego.....	23
2.4.7. Pierwotne skórne obwodowe chłoniaki T-komórkowe, nieokreślone / rzadkie podtypy .....	24
2.5. Pierwotne skórne chłoniaki B-komórkowe.....	28
2.5.1. Pierwotny skórny chłoniak B-komórkowy strefy brzeżnej .....	28
2.5.2. Pierwotny chłoniak grudkowy skóry .....	29
2.5.3. Pierwotnie skórny rozlany chłoniak z dużych komórek B, typu kończyny dolnej .....	31
2.5.5. <i>Lymphomatoid granulomatosis</i> .....	32
2.7. Komórki dendrytyczne.....	34
2.7.1. Definicje i podział.....	34
2.7.2. Powstawanie komórek dendrytycznych.....	42
2.7.3. Funkcjonowanie i rola komórek dendrytycznych.....	44
2.7.4. Markery immunohistochemiczne komórek dendrytycznych.....	53
3. CEL PRACY.....	58
4. MATERIAŁ I METODY .....	60
4.1. Ocena morfologiczna .....	60
4.2. Badania immunohistochemiczne .....	61
4.3. Ocena odczynów immunohistochemicznych.....	64
4.4. Analiza statystyczna .....	65
5. WYNIKI .....	66
5.1. Ogólna charakterystyka grupy .....	66
5.2. Reklasyfikacja chłoniaków .....	67
5.3. Charakterystyka typów chłoniaków.....	69
5.4. Lokalizacja i obraz makroskopowy zmian .....	70
5.4.1. Lokalizacja zmian .....	70
5.4.2. Liczba zmian.....	71
5.4.3. Obraz makroskopowy zmian .....	72
5.5. Obraz histologiczny .....	74
5.5.1. Lokalizacja nacieku .....	74
5.5.2. Morfologia nacieku.....	75
5.5.3. Wielkość komórek .....	77
5.5.4. Epidermotropizm .....	78
5.5.5. Owrzodzenie .....	79
5.6. Liczba komórek dendrytycznych.....	80

5.6.1. Liczba komórek dendrytycznych na terenie nacieku nowotworowego .....	80
5.6.2. Liczba komórek dendrytycznych w obrębie naskórka.....	81
5.7. Liczba komórek dendrytycznych w chłoniakach pierwotnych i wtórnych .....	82
5.8. Liczba komórek dendrytycznych w chłoniakach B- i T-komórkowych.....	86
5.9. Liczba komórek dendrytycznych w podtypach histologicznych chłoniaków .....	90
5.10. Liczba komórek dendrytycznych w podgrupach chłoniaków o różnym stopniu agresywności klinicznej .....	91
5.11. Liczba komórek dendrytycznych a cechy morfologiczne .....	92
5.11.1. Epidermotropizm .....	92
5.11.2. Owrzodzenie .....	95
5.12. Ryciny .....	97
6. DYSKUSJA .....	102
6.1. Dane epidemiologiczne.....	102
6.2. Porównanie częstości typów chłoniaków .....	103
6.3. Reklasyfikacja chłoniaków .....	107
6.4. Lokalizacja zmian .....	111
6.5. Porównanie liczby komórek dendrytycznych wykazujących ekspresję poszczególnych antygenów .....	112
6.6. Liczba komórek dendrytycznych w chłoniakach pierwotnych i wtórnych .....	114
6.7. Liczba komórek dendrytycznych w chłoniakach B- i T-komórkowych.....	115
6.8. Liczba komórek dendrytycznych w poszczególnych jednostkach chłoniaków....	118
6.8.1. <i>Mycosis fungoides</i> .....	118
6.8.2. Inne niż <i>mycosis fungoides</i> skórne chłoniaki T-komórkowe .....	123
6.8.3. Chłoniaki B-komórkowe.....	124
6.8.4. Rokownicze znaczenie komórek dendrytycznych w chłoniakach skórnych .	126
6.9. Liczba komórek dendrytycznych a cechy morfologiczne .....	127
6.9.1. Gęstość nacieku nowotworowego a komórki dendrytyczne.....	127
6.9.2. Epidermotropizm a komórki dendrytyczne .....	128
6.9.3. Folikulotropizm.....	128
6.10. Możliwa rola komórek dendrytycznych w patogenezie chłoniaków skórnych..	129
6.10.1. Skórne chłoniaki T-komórkowe .....	129
6.10.2. Skórne chłoniaki B-komórkowe .....	132
7. WNIOSKI .....	134
8. STRESZCZENIE .....	136
9. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM .....	137
10. PIŚMIENNICTWO.....	138

# 1. SKRÓTY

AILT - angioimmunoblastyczny chłoniak z komórek T (*angioimmunoblastic T-cell lymphoma*)

ATLL – białaczka/ chłoniak T-komórkowy dorosłych (*adult T-cell leukemia/lymphoma*)

BL – chłoniak Burkitta (*Burkitt lymphoma*)

B-LBL - białaczka/ chłoniak limfoblastyczny z komórek B (*B lymphoblastic leukaemia/lymphoma*)

C-ALCL - pierwotny skórny anaplastyczny chłoniak z dużych komórek (*primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma*)

C-DLBCL - pierwotnie skórny rozlany chłoniak z dużych komórek B, typu kończyny dolnej (*primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type*)

C-MALT - pierwotny skórny chłoniak B-komórkowy strefy brzeżnej (*primary cutaneous marginal-zone B-cell lymphoma*)

C-FL - pierwotny chłoniak grudkowy skóry (*primary cutaneous follicle center lymphoma*)

DLBCL - rozlany chłoniak z dużych komórek B (*diffuse large B-cell lymphoma*)

EBV - wirus Epstein-Barr

EORTC - *European Organization for Research and Treatment of Cancer*

HL - chłoniak Hodgkina (*Hodgkin lymphoma*)

HTLV-1 - ludzki wirus białaczki T-komórkowej

ISCL - Międzynarodowe Towarzystwo Chłoniaków Skórnych (*International Society for Cutaneous Lymphoma*)

LPD - pierwotne skórne CD30+ choroby limfoproliferacyjne (*primary cutaneous CD30+ lymphoproliferative disorders*)

LPP – przyłuszczyca wielkoogniskowa (*large patch parapsoriasis*)

LyP – *lymphomatoid papulosis*

MALT – pozawęzłowy chłoniak B-komórkowy strefy brzeżnej (*extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue*)

MCL - chłoniak z komórek strefy płaszczka (*mantle cell lymphoma*)

MF – ziarniak grzybiasty (*mycosis fungoides*)

NALP - *NACHT, leucine-rich repeat, and pyrin-domain-containing proteins 1-14*

NOD - *nucleotide oligomerization domain-like*

PAMPs - związane z patogenem wzorce molekularne (*pathogen-associated molecular patterns*)

PTCL, NOS - obwodowy chłoniak T-komórkowy, niescharakteryzowany w inny sposób (*peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified*)

PTCL-U - pierwotne skórne obwodowe chłoniaki T-komórkowe, nieokreślone (*primary cutaneous peripheral T-cell lymphoma, unspecified*)

REAL - *Revised European-American Classification of lymphoid neoplasms*

SPTL - chłoniak z komórek T typu zapalenia tkanki podskórnej (*subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma*)

SPP – przyłuszczyca drobnoogniskowa (*small patch parapsoriasis*)

SS - zespół Sezarye'go (*Sezary syndrome*)

T-LBL - białaczka/ chłoniak limfoblastyczny z komórek T (*T lymphoblastic leukaemia/ lymphoma*)

TLR - *toll-like* receptory

TSLP - grasicza stromalna limfopoetyna

WHO - *World Health Organization*



## 2. WSTĘP

### 2.1. Definicje

Chłoniaki zajmujące skórę obejmują heterogenną grupę nowotworów B- i T-komórkowych zajmujących ją pierwotnie lub wtórnie w przebiegu chłoniaków systemowych. Termin pierwotny chłoniak skórny odnosi się do chłoniaków T-komórkowych lub B-komórkowych manifestujących się pierwotnie zajęciem skóry bez dowodów na zajęcie innych narządów w momencie rozpoznania [1, 2, 3] i przez co najmniej 6 miesięcy od momentu ustalenia rozpoznania [4].

### 2.2. Klasyfikacje

Klasyfikacje chłoniaków systemowych od lat stanowiły przedmiot dyskusji i budziły kontrowersje. Najstarsze klasyfikacje oparte były o kryteria morfologiczne (wielkość komórki, architektonika nacieku). Klasyfikacja kilońska wprowadziła podział chłoniaków ze względu na przynależność liniową i ich stadium rozwoju [2, 5]. Klasyfikacja REAL (*Revised European-American Classification of lymphoid neoplasms*) jako pierwsza oparta została na dążeniu do wyróżnienia odrębnych, rzeczywistych jednostek kliniczno-morfologicznych, które cechują się odrębnym obrazem klinicznym, a ich rozpoznanie jest możliwe na podstawie cech morfologicznych, immunofenotypowych i genetycznych [2, 6]. Klasyfikacja ta oparta była o stosowane równoległe różne klasyfikacje (m.in. *Working Formulation* i klasyfikację kilońską). Jako pierwsza powstała na podstawie międzynarodowego konsensusu i ujednoliciła terminologię chłoniaków [2, 6]. W klasyfikacji tej po raz pierwszy wyodrębniono chłoniaki pozawęzłowe inne niż ziarniniak grzybiasty (*mycosis fungoides*, MF) [2, 6].

Ponieważ pierwotne chłoniaki skórne cechuje często odmienny przebieg kliniczny i prognoza w porównaniu do histologicznie podobnych chłoniaków systemowych, które mogą zajmować skórę wtórnie, w związku z tym wymagają one innego rodzaju leczenia, jak również odrębnych klasyfikacji [1]. Pierwszą klasyfikacją dedykowaną pierwotnym chłoniakom skórnym była klasyfikacja *European Organization for Research and Treatment of Cancer* (EORTC) [7], oparta o zasady klasyfikacji REAL. Ponadto na podstawie danych Holenderskiej Grupy Roboczej Chłoniaków Skórnych (*Dutch Cutaneous Lymphoma Working Group*) obejmujących 626 pacjentów z pewnym rozpoznaniem pierwotnych chłoniaków skórnych podzielono jednostki na indolentne,

pośrednie i o agresywnym przebiegu klinicznym (tabela 1). Pierwotne chłoniaki skórne o charakterystycznym obrazie histologicznym (jak morfologia, immunofenotyp), lecz o niedokładnie zdefiniowanych objawach klinicznych lub prognozie ujęto, jako jednostki tymczasowe [7].

Klasyfikacja *World Health Organization* (WHO) nowotworów tkanek hematopoetycznej i limfatycznej, która ukazała się w 2001 roku [8] różniła się od klasyfikacji EORTC, zwłaszcza w zakresie skórnych chłoniaków T-komórkowych innych niż MF i SS oraz skórnych chłoniaków B-komórkowych. Wywołało to szereg dyskusji, których efektem były spotkania panelu ekspertów biorących udział w opracowaniu obu klasyfikacji i wypracowanie konsensusu w postaci klasyfikacji *World Health Organization/ European Organization for Research and Treatment of Cancer* (WHO-EORTC) [1] (tabela 1), która już w większości została zaadaptowana przez ostatnią klasyfikację WHO nowotworów tkanek hematopoetycznej i limfatycznej [9].

### **2.3. Epidemiologia**

Skóra jest drugą pod względem częstości po przewodzie pokarmowym lokalizacją pozawęzłowych chłoniaków nieziarnicznych [1, 2, 4, 7, 10]. Częstość występowania wynosi 7,7/1 000 000/rok dla chłoniaków T-komórkowych i 3,1/1 000 000/rok dla chłoniaków B-komórkowych w Stanach Zjednoczonych [11]. W ciągu ostatnich 25 lat nastąpił znaczący wzrost częstości występowania chłoniaków skórnych w populacji amerykańskiej. Częstość występowania wzrosła z 5,0/ 1 000 000/rok w latach 1980-1982 do 14,3 w latach 2001-2003 [11], wynikająca głównie z wzrostu częstości występowania MF [12, 13]. W latach 2004-2005, częstość występowania wyniosła 12,7, co może świadczyć o zatrzymaniu się trendu wzrostowego lub niekompletnej rejestracji nowych przypadków [11].

Tabela 1. Porównanie klasyfikacji EORTC, WHO-EORTC i WHO 2008 pierwotnych chłoniaków skórnych [1, 7, 9].

Klasyfikacja EORTC	Klasyfikacja WHO-EORTC	Klasyfikacja WHO 2008
<b>Pierwotne skórne chłoniaki T-komórkowe</b>		
<p><b>Indolentne</b>  Mycosis fungoides  MF + follicular mucinosis  Pagetoid reticulosis</p> <p>Granulomatous slack skin (tymczasowe)  Large cell cutaneous T-cell lymphoma, CD30+  Anaplastic Immunoblastic  Pleomorphic  Lymphomatoid papulosis</p> <p><b>Agresywne</b>  Sezary syndrome</p> <p>Large cell cutaneous T-cell lymphoma, CD30-  Immunoblastic  Pleomorphic</p> <p>Jednostki tymczasowe cutaneous T-cell lymphoma, pleomorphic small/medium size  Subcutaneous panniculitis like T-cell lymphoma</p>	<p><b>Indolentne</b>  Mycosis fungoides  Warianty MF  Folliculotropic  Pagetoid reticulosis  Granulomatous slack skin</p> <p>Primary cutaneous CD30+ lymphoproliferative disorders  Primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma</p> <p>Lymphomatoid papulosis  Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma  Primary cutaneous CD4+ small/medium pleomorphic T-cell lymphoma (tymczasowe)</p> <p><b>Agresywne</b>  Sezary syndrome  Primary cutaneous NK/T-cell lymphoma, nasal-type</p> <p>Primary cutaneous aggressive CD8+ T-cell lymphoma (tymczasowe)</p> <p>Primary cutaneous <math>\gamma/\delta</math> T-cell lymphoma (tymczasowe)  Primary cutaneous peripheral T-cell lymphoma, unspecified</p>	<p><b>Indolentne</b>  Mycosis fungoides  Warianty MF  Folliculotropic  Pagetoid reticulosis  Granulomatous slack skin</p> <p>Primary cutaneous CD30+ lymphoproliferative disorders  Primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma</p> <p>Lymphomatoid papulosis  Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma  Primary cutaneous CD4+ small/medium pleomorphic T-cell lymphoma (tymczasowe)</p> <p><b>Agresywne</b>  Sezary syndrome  Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type  Primary cutaneous peripheral T-cell lymphoma, rare subtypes:  Primary cutaneous CD8-positive aggressive epidermotropic cytotoxic T-cell lymphoma (tymczasowe)  Primary cutaneous <math>\gamma/\delta</math> T-cell lymphoma</p>
<b>Pierwotne skórne chłoniaki B-komórkowe</b>		
<p><b>Indolentne</b>  Follicle centre lymphoma</p> <p>Immunocytoma (marginal zone B-cell lymphoma)</p> <p><b>Pośrednie</b>  Large B-cell lymphoma of the leg</p> <p>Tymczasowe  Intravascular large B-cell lymphoma</p>	<p><b>Indolentne</b>  Primary cutaneous follicle center lymphoma  Primary cutaneous marginal zone B-cell lymphoma</p> <p><b>Pośrednie</b>  Primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type  Primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, other  Primary cutaneous intravascular large B-cell lymphoma</p>	<p><b>Indolentne</b>  Primary cutaneous follicle centre lymphoma  Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphomatoid tissue (MALT lymphoma)</p> <p><b>Pośrednie</b>  Primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type</p> <p>Intravascular large B-cell lymphoma</p>

## 2.4. Pierwotne skórne chłoniaki T-komórkowe

W przeciwieństwie do chłoniaków systemowych 65-80% pierwotnych chłoniaków skórnych stanowią skórne chłoniaki T- komórkowe [2, 4, 11]. Najczęstszym skórnym chłoniakiem T-komórkowym jest MF, stanowiący blisko 40-50% pierwotnych chłoniaków skórnych [1, 2, 4, 9, 14]. Drugą pod względem częstości grupą pierwotnych skórnych chłoniaków T-komórkowych są pierwotne skórne CD30+ choroby limfoproliferacyjne (LPD, *primary cutaneous CD30+ lymphoproliferative disorders*), stanowiąc wśród tych chorób około 30% [1, 2, 9, 4].

### 2.4.1. Ziarniniak grzybiasty

Ziarniniak grzybiasty (*mycosis fungoides*) jest skórnym chłoniakiem T-komórkowym często wykazującym epidermotropizm, cechującym się proliferacją małych do średniej wielkości limfocytów T o mózgowkształtnych (*cerebriform*) jądrach. Zarówno w klasyfikacji WHO-EORTC, jak i WHO 2008 termin ten zarezerwowany jest dla postaci klasycznych „Alibert-Bazin” cechujących się ewolucją zmian od stadium rumieniowego (*patch*) poprzez stadium naciekowe (*plaque*) do stadium guzowatego lub wariantów o podobnym klinicznym przebiegu [1, 2, 9].

MF dotyka najczęściej osoby starsze (mediana wieku w momencie rozpoznania wynosi 55-60 lat), jednak może występować także u dzieci (1,8-7%), u dorosłych częściej występuje u mężczyzn niż u kobiet(1,6-2,5:1) [1, 4, 9, 12, 13, 14]. Zmiany w stadium rumieniowym (*patch*) definiowane są według *International Society for Cutaneous Lymphoma/ European Organization for Research and Treatment of Cancer* (ISCL/EORTC), jako zmiany dowolnej wielkości bez znaczącego uniesienia lub stwardnienia. Zmiany w stadium naciekowym (*plaque*) definiuje się, jako zmiany uniesione lub stwardniałe. Zmiany guzowate oznaczają zmiany o średnicy przynajmniej 1cm, lite lub guzkowe z cechami głębokiego i/lub wertykalnego wzrostu [15]. Zmiany wykazują predylekcję do skóry osłoniętej przed działaniem promieni słonecznych, zwłaszcza pośladków i tułowia. W zaawansowanej fazie choroby mogą być zajęte węzły chłonne lub narządy wewnętrzne (wątroba, śledziona, płuca). [1, 4, 9, 14].

Obraz histologiczny w MF zależy od stadium choroby [4]. Zmiany wczesne w stadium rumieniowym (*patch*) cechują się obecnością pasmowatego lub lichenoidnego nacieku, złożonego głównie z limfocytów i histiocytów. Komórki atypowe małe lub

średniej wielkości, o nieregularnie powiększonych (mózgokształtnych), a czasem hiperchromatycznych jądrach, są nieliczne, w większości ograniczone do naskórka (epidermotropizm) [1, 9, 14, 16]. Komórki te charakterystycznie kolonizują warstwę podstawną naskórka pojedynczo, często w postaci komórek z jasnym „halo”, lub układają się linijnie [1, 4, 9, 14, 16]. Wewnątrzskórkowe skupienia limfocytów i komórek Langerhansa tzw. mikroropnie Pautriera [3, 4, 17], uważane przez dekady za cechę diagnostyczną MF obserwowane są w mniejszości przypadków we wczesnym stadium rumieniowym (*patch*) MF i mogą również nie występować w bardziej zaawansowanych stadiach [3, 4].

W typowej zmianie w stadium naciekowym (*plaque*) epidermotropizm jest wyraźniejszy w porównaniu do stadium rumieniowego (*patch*). Obecność mikroropni Pautriera stanowiących śródskórkowe skupienia atypowych komórek, chociaż jest cechą charakterystyczną występuje jednak w mniejszości przypadków [1, 9]. W porównaniu do stadium rumieniowego (*patch*) nacieki zlokalizowane w powierzchniowych warstwach skóry właściwej jest gęstszy, często pasmowaty [4, 16, 18, 19].

Wraz z progresją do stadium guzowatego nacieki w obrębie skóry właściwej stają się bardziej rozlany, natomiast może zanikać epidermotropizm [1,9]. Nacieki mogą sięgać do tkanki tłuszczowej podskórnej, pojawia się głęboko zlokalizowany guzkowy, czasem angiocentryczny komponent [4, 16]. Zwiększa się liczba i wielkość komórek tak, że obserwuje się w różnych proporcjach małe i średniej wielkości komórki, komórki duże o mózgokształtnych jądrach, komórki blastyczne z wyraźnymi jąderkami oraz formy pośrednie [1, 9, 16].

Transformacja wielkokomórkowa definiowana jest na podstawie obecności dużych komórek (przynajmniej czterokrotnie większych od małego limfocyta) stanowiących powyżej 25% nacieku lub tworzących mikroskopowe guzki [9, 15, 20, 21, 22]. Częściej występuje u pacjentów ze zmianami guzowatymi oraz w bardziej zaawansowanych stadiach choroby [21].

Komórki nowotworowe w MF wykazują immunofenotyp dojrzałych limfocytów T pamięci: CD3+, CD4+, CD45RO+, CD8-. W rzadkich przypadkach klasycznej postaci MF obserwuje się fenotyp CD4-, CD8+ nieróżniący się klinicznym przebiegiem i rokowaniem od przypadków CD4+. Często obserwowany jest nieprawidłowy immunofenotyp: utrata ekspresji antygenu CD7 jest częsta we wszystkich fazach choroby, natomiast utrata ekspresji innych antygenów, jak CD2, CD3, czy CD5

występuje zwykle w stadium guzowatym. Ekspresja białek cytotoksycznych (TIA-1 czy granzym B) występuje w około 10% MF w stadium naciekowym (*plaque*), a znacznie częściej w guzach z transformacją blastyczną. W większości przypadków stwierdza się ekspresję skórno limfocytowego antygenu limfocytów (*cutaneous lymphocyte antigen*, CLA) [1, 2, 9, 14].

Najistotniejszym czynnikiem rokowniczym u pacjentów z MF jest stadium zaawansowania, a zwłaszcza typ i zasięg zmian skórnych, jak również zajęcie lokalizacji pozaskórnych [1, 4, 9, 14, 21, 23, 24, 25]. Obecnie zalecana jest ocena zaawansowania MF i zespołu Sezarye'go (SS) zgodnie z wytycznymi ISCL i EORTC uwzględniająca ocenę zajęcia skóry, węzłów chłonnych, narządów wewnętrznych i krwi obwodowej [9, 15, 22].

U pacjentów z chorobą ograniczoną w stadium rumieniowym (*patch*) /naciekowym (*plaque*) oczekiwana długość życia jest podobna do odpowiedniej dla wieku, płci i rasy populacji kontrolnej [1, 9, 14, 23, 21]. Ryzyko progresji w zmianach ograniczonych w stadium rumieniowym (*patch*) /naciekowym (*plaque*) zajmujących poniżej 10% powierzchni skóry do bardziej zaawansowanego stadium wynosi około 10%. Czynniki ryzyka związane z progresją choroby to oporność na początkowe leczenie oraz starszy wiek (powyżej 60 lat) [23]. Dziesięcioletnie przeżycia wynoszą dla pacjentów z ograniczoną chorobą w stadium rumieniowym (*patch*) /naciekowym (*plaque*) (poniżej 10% powierzchni skóry zajętej) 97-98%, 83% dla pacjentów z uogólnioną chorobą w stadium rumieniowym (*patch*) /naciekowym (*plaque*) (powyżej 10% powierzchni skóry zajętej), 42% w fazie guzowatej i około 20% u pacjentów z histologicznie potwierdzonym zajęciem węzłów chłonnych [1, 4, 9, 24]. Niekorzystnym czynnikiem rokowniczym jest również wiek powyżej 60rż [1, 9, 24] oraz podwyższony poziom LDH [1, 9].

Spośród cech ocenianych w badaniu patomorfologicznym jedynym parametrem o znaczeniu prognostycznym uwzględnionym w systemie oceny zaawansowania klinicznego ISCL/EORTC jest histopatologiczna ocena klinicznie podejrzanych węzłów chłonnych [9, 24, 15, 22]. Do innych parametrów ocenianych w badaniu patomorfologicznym, mających znaczenie prognostyczne należą: transformacja wielkokomórkowa [1, 9, 14, 20, 21, 24] oraz ekspresja niektórych antygenów: CD30, Ki67 [24] i SATB1 [26]. Nie wykazano znaczenia prognostycznego ekspresji antygenów CD4, CD8, CD56 i/ lub CD25 [24].

Pacjenci umierają najczęściej wskutek uogólnienia procesu rozrostowego lub infekcji [1, 9].

#### **2.4.1.1. Warianty i podtypy MF**

Opisano wiele wariantów klinicznych i/lub histologicznych MF oprócz postaci klasycznej. Odmiennymi cechami kliniczno-morfologicznymi cechują się warianty folikulotropowy, *pagetoid reticulosis* i *granulomatous slack skin*, ujęte w klasyfikacjach WHO-EORTC i WHO 2008 [1]. Większość pozostałych wariantów klinicznych cechuje się przebiegiem zbliżonym do wariantu klasycznego [1, 27].

##### **2.4.1.1.1. Wariant folikulotropowy MF**

Wariant folikulotropowy MF cechujący się obecnością nacieków folikulotropowych, preferencyjnie zajmujący okolice głowy i szyi. Większość przypadków wykazuje śluzową degenerację mieszków włosowych (*follicular mucinosis*), tradycyjnie określane jako *MF-associated follicular mucinosis* [1, 4, 9]. Przypadki niewykazujące degeneracji śluzowej określano jako *folliculocentric* lub *pilotropic* MF. Ponieważ nie wykazano różnic w przebiegu klinicznym w przypadkach folikulotropowego MF z lub bez degeneracji śluzowej mieszków włosowych, przypadki te określa się obecnie jako *follicular* MF lub *folliculotropic* MF [1, 9, 14, 27], przy czym ostatnia nazwa jest preferowana w klasyfikacji WHO-EORTC i WHO [1, 9, 14].

Folikulotropowy MF najczęściej występuje u dorosłych, ale może też występować u dzieci i młodzieży. Częściej występuje u mężczyzn niż u kobiet (4-5:1) [1, 14, 27]. Zmiany mogą mieć postać grudek, zmian przypominających trądzik (w tym torbiele naskórkowe), zmian naciekowych, a czasem guzów [1, 9, 14, 28, 29].

Cechą charakterystyczną w obrazie mikroskopowym jest obecność nacieków głównie wokół naczyń i przydatków skórnych z różnie nasilonym naciekiem nabłonka mieszków włosowych przez małe do średniej wielkości, rzadziej duże limfocyty o hiperchromatycznych, móżgokształtnych jądrach często z oszczędzeniem naskórka.

Komórki nowotworowe wykazują najczęściej immunofenotyp postaci klasycznej MF, aczkolwiek często stwierdza się obecność komórek blastycznych CD30+ [1, 9, 27, 29].

Najistotniejszą biologicznie cechą folikulotropowego MF jest głęboka lokalizacja nacieku nowotworowego, co sprawia, że jest on mniej dostępny dla leczenia miejscowego [1, 4, 9, 14, 27, 28]. Pięcioletnie przeżycia wynoszą 60-80%, podobnie jak w stadium

guzowatym klasycznej postaci MF [1, 2, 9, 14, 27], a dziesięcioletnie przeżycia są gorsze niż w stadium guzowatym MF [14], wynoszą 26% [27]. Z tego względu zaproponowano traktowanie pacjentów z folikulotropowym MF, jak w stadium guzowatym MF, bez względu na kliniczny obraz zmian [14, 27].

#### **2.4.1.1.2. Siatkowica pagetoidalna**

Siatkowica pagetoidalna (*pagetoid reticulosis*) jest wariantem MF cechującym się obecnością zlokalizowanych zmian rumieniowych (*patch*) lub naciekowych (*plaque*) z śródskórną proliferacją nowotworowych limfocytów T [1, 9, 14]. Termin ten zarezerwowany jest obecnie dla postaci zlokalizowanej (Woringer-Kolopp) [1, 4, 9]. Postacie rozsiane (Ketrion-Goodman) obecnie klasyfikowane są jako pierwotny skórny agresywny epidermotropowy chłoniak z limfocytów T cytotoksycznych CD8+ (*primary cutaneous aggressive epidermotropic CD8+ cytotoxic T-cell lymphoma*), pierwotny skórny chłoniak z limfocytów T  $\gamma\delta$  (*primary cutaneous  $\gamma\delta$  T-cell lymphoma*) lub stadium guzowate MF [1, 9, 14].

Siatkowica pagetoidalna cechuje się znacznym pagetoidnym nacieczeniem hiperplastycznego naskórka przez atypowe komórki, leżące pojedynczo lub w gniazdach. Komórki nacieku są zwykle średniej wielkości lub duże, czasem o hiperchromatycznych mózgokształtnych jądrach z obfitą zwakuolizowaną cytoplazmą [1, 2, 9, 14].

Komórki nowotworowe mogą wykazywać immunofenotyp CD3+, CD4+, CD8- lub CD3+, CD4-, CD8+ [1, 4, 9] lub CD4-, CD8- [14]. Często stwierdza się ekspresję antygenu CD30 [1, 4, 9], w części przypadków nawet w powyżej 50% komórek [14].

W przeciwieństwie do klasycznej postaci MF do tej pory nie zanotowano przypadku rozsiewu pozaskórnego lub zgonu z powodu choroby [1, 4, 9, 14].

#### **2.4.1.1.3. Ziarniniakowe zwiotczenie skóry**

Ziarniniakowe zwiotczenie skóry (*granulomatous slack skin*) jest wyjątkowo rzadkim indolentnym podtypem MF cechującym się stopniowym pojawianiem się fałdów wiotkiej skóry w obrębie głównych zgięć skóry jak doły pachowe czy pachwinowe, a histologicznie naciekiem ziarniniakowym z obecnością klonalnych limfocytów T CD4+ [1, 4, 9, 22]. Immunofenotyp limfocytów T jest taki jak w postaci klasycznej MF [1, 4]. W 1/3 przypadków obserwowano związek z chłoniakiem Hodgkina [1, 9, 14], jak również opisywano związek z MF. Pięcioletnie przeżycia wynoszą 95% [1, 9].



#### 2.4.1.1.4. Pozostałe warianty MF

Pozostałe warianty kliniczno-morfologiczne MF przedstawia tabela 2.

Tabela 2. Warianty kliniczno-morfologiczne MF [2, 14, 22, 28, 30, 31, 32, 33, 34].

Warianty kliniczno-morfologiczne MF	Cechy szczególne
Erytrodermiczny	Przeżycia od 1,5 roku do 10 lat
Syringotropowy ( <i>syringotropic</i> )	Wszyscy dotychczas opisani pacjenci byli mężczyznami
Pęcherzowy/pęcherzykowy ( <i>bullous/vesicular</i> )	Pojawienie się zmian pęcherzowych wskazuje zwykle na złe rokowanie, blisko 50% pacjentów umiera w ciągu roku
Ziarniniakowy ( <i>granulomatous</i> )	Pięcioletnie przeżycia wynoszą 66%
Hipopigmentowany ( <i>hypopigmented</i> )	Częściej występuje u młodych osób o ciemnej karnacji, komórki nowotworowe częściej wykazują ekspresję CD8
Poikilodermiczny ( <i>poikilodermic</i> )	Zmiany cechują się naprzemienną hipo- i hiperpigmentacją, suchością, zanikiem i teleangiektazjami ( <i>poikiloderma atrophicans vasculare</i> )
Hiperpigmentowany ( <i>hyperpigmented</i> )	Cechuje się rozсіяną plamistą hiperpigmentacją bez zmian poikilodermicznych lub cech regresji wcześniej występujących zmian
Jednoogniskowy ( <i>unilesional</i> )	Pojedyncza zmiana zajmująca poniżej 5% powierzchni skóry
Dłoniowo-podeszwowy ( <i>palmoplantar</i> )	Przebieg zwykle indolentny, zmiany zazwyczaj pozostają ograniczone, choć mogą obejmować kończyny i tułów, jednak nie odnotowano rozsiewu pozaskórnego
Hiperkeratotyczny/ brodawkowy ( <i>hyperkeratotic/verrucous</i> )	Hiperkeratotyczne lub brodawkowe zmiany naciekowe
<i>Vegetating/papillomatous (acanthosis nigricans –like)</i>	W miejscach zagięć skóry (pachy, pachwiny), na szyi i piersiach (brodawka i otoczka brodawki)
Przypominający rybią łuskę ( <i>ichthyosiform</i> )	Doustne retinoidy w kombinacji z fotochemioterapią z doustnym podaniem psolarenów lub fototerapią promieniowaniem ultrafioletowym typu A są najskuteczniejszą metodą leczenia
Przypominający plamicę barwnikową ( <i>pigmented purpura-like</i> )	Klinicznie występują przetrwałe zmiany o morfologii plamicy barwnikowej
Krostkowy ( <i>pustular</i> )	Krosty ograniczone do dłoni i podeszw lub uogólnione
Pierwotnie guzowaty ( <i>d'emblee</i> )	Obecnie klasyfikowany jako inne jednostki spośród chłoniaków T-komórkowych

#### 2.4.2. Zespół Sezary'ego

Zespół Sezary'ego (*Sezary syndrome*) definiowany jest jako triada objawów: erytrodermia zajmująca powyżej 80% powierzchni skóry, uogólniona limfadenopatia oraz obecność komórek nowotworowych (komórek Sezary'ego) w skórze, węzłach chłonnych i krwi obwodowej, gdzie stanowią powyżej 5% liczby limfocytów [1, 4, 9, 14]. Komórki Sezary'ego stanowią małe do średniej wielkości pleomorficzne limfocyty o

mózgokształtnych jądrach [3, 9]. Dodatkowo według zaleceń ISCL kryteria hematologiczne rekomendowane dla rozpoznania SS obejmują przynajmniej jedną z poniższych cech:

- 1/ bezwzględna liczba komórek Sezary'ego powyżej 1000 komórek/ $1\text{mm}^3$ ,
- 2/ wykazanie nieprawidłowości immunofenotypu (CD4:CD8 powyżej 10; utrata któregokolwiek z antygenów T-komórkowych: CD2, CD3, CD4 i CD5),
- 3/ wykazanie obecności klonu komórek T we krwi obwodowej metodami molekularnymi lub cytogenetycznymi [1, 4, 9, 14].

Obecnie wiadomo, że SS stanowi część szerszego spektrum erythrodermicznych chłoniaków skórnych T-komórkowych, dla których zaproponowano odrębne klasyfikacje zaawansowania choroby. Jednak dopóki nie będą znane wyniki badań ISCL, wykazanie klonu limfocytów T (najlepiej tego samego klonu we krwi obwodowej i skórze) w połączeniu z przynajmniej jednym z wyżej wymienionych kryteriów stanowią sugerowane kryteria minimalne wymagane do rozpoznania SS [1, 9]. Przypadki, w których spełnione są kryteria dla rozpoznania SS, a wcześniej pacjent prezentował zmiany typowe dla MF zaleca się klasyfikować jako wtórny SS lub SS poprzedzony MF [15]. Natomiast rzadkie przypadki pacjentów z klasyczną postacią MF prezentujących objawy hematologiczne typowe dla SS, określa się jako *MF with leukaemic involvement* [14].

SS występuje wyłącznie u dorosłych, najczęściej po 60 roku życia, częściej u mężczyzn [1, 2, 4, 9]. Cechuje się erythrodermią, która może łączyć się ze znacznym złuszczeniem naskórka, obrzękiem, lichenifikacją oraz intensywnym świądem. SS jest białaczką, więc chorobą uogólnioną, mogącą zajmować dowolny narząd w zaawansowanym stadium choroby, jednak szpik kostny jest często oszczędzony [1, 2, 9].

Cechy histologiczne SS mogą być podobne do MF. Jednak naciek w SS częściej jest monotony, a epidermotropizm może nie występować. W blisko 1/3 biopsji skóry u pacjentów z typowym obrazem klinicznym SS obraz histologiczny jest niespecyficzny [1, 2, 9].

Komórki nowotworowe wykazują immunofenotyp: CD3+, CD4+, CD8- [1, 2, 9].

Prognoza w SS jest zwykle niekorzystna, z medianą przeżycia 2-4 lata, w zależności od kryteriów rozpoznania [1]. Pięcioletnie przeżycia wynoszą od 10 do 34% [1, 2, 4, 9, 16, 22]. Większość pacjentów umiera z powodu infekcji oportunistycznych, będących efektem immunosupresji [1, 2, 9, 16].

### **2.4.3. Białaczka/ chłoniak T-komórkowy dorosłych**

Białaczka/ chłoniak T-komórkowy dorosłych (ATLL, *adult T-cell leukemia/lymphoma*) jest nowotworem limfocytów T związanym z infekcją ludzkim wirusem białaczki T-komórkowej (HTLV-1) [1, 4, 9]. Zmiany skórne stanowią najczęściej manifestację rozsianej choroby, aczkolwiek w postaci powoli postępującej zmiany mogą być ograniczone do skóry [1, 9].

ATLL występuje endemicznie w obszarach częstego występowania infekcji HTLV-1 [1, 4], sporadycznie w Europie [4]. Choroba przebiega w czterech postaciach: ostrej i chłoniakowej o agresywnym przebiegu oraz przewlekłej i tlącej się (*smoldering*) o przebiegu powolnym [4]. Większość pacjentów wykazuje białaczkowy obraz krwi obwodowej, powiększenie węzłów chłonnych, organomegalię, hiperkalcemię i w około 50% zmiany skórne. Zmiany skórne najczęściej mają postać guzków lub guzów (33%), uogólnionych grudek (22%) lub zmian naciekowych (*plaque*) (19%) [1]. W wariantach przewlekłych lub przewlekłe postępujących zmiany skórne są częste, mogące przypominać MF, natomiast krążące komórki nowotworowe są nieliczne lub nieobecne [1, 4].

W skórze stwierdza się powierzchniowy lub rozlany naciek średniej wielkości do dużych limfocytów T o pleomorficznych lub wielopłatowych jądrach, często wykazujących znaczny epidermotropizm. W zmianach skórnych w typie powoli postępującym nacieki mogą być skąpe z jedynie nieznacznie atypowymi komórkami [1].

Komórki nowotworowe wykazują immunofenotyp CD3+, CD4+, CD8- oraz silną ekspresję CD25 [1].

Zasadniczym czynnikiem rokowniczym jest podtyp kliniczny. W postaciach ostrych i białaczkowych przeżycia wahają się od 2 tygodni do ponad roku. W postaciach przewlekłych i powoli postępujących przeżycia są dłuższe, jednak może wystąpić transformacja do ostrej fazy z agresywnym przebiegiem [1].

### **2.4.4. Pierwotne skórne CD30+ choroby limfoproliferacyjne**

Grupa pierwotnych skórnych CD30+ chorób limfoproliferacyjnych (*primary cutaneous CD30+ lymphoproliferative disorders*) obejmuje spektrum zmian od

pierwotnego skórno-anaplastycznego chłoniaka z dużych komórek<sup>1</sup> (C-ALCL, *primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma*), poprzez przypadki graniczne, do *lymphomatoid papulosis* (LyP) [1, 2, 4, 9]. Same kryteria histologiczne nierzadko są niewystarczające dla zróżnicowania poszczególnych jednostek. W tych przypadkach obraz i przebieg kliniczny służą jako kryteria decyzyjne do ustalenia ostatecznego rozpoznania i wyboru leczenia. Określenie „graniczne” zarezerwowane jest dla przypadków, w których pomimo dokładnej korelacji kliniczno-morfologicznej definitywne rozróżnienie nie jest możliwe. W takich przypadkach zwykle dalsza obserwacja pozwala na ustalenie rozpoznania [1, 2, 9].

#### **2.4.4.1 Pierwotny skórny anaplastyczny chłoniak z dużych komórek**

C-ALCL jest nowotworem składającym się z dużych komórek o morfologii anaplastycznej, pleomorficznej lub immunoblastycznej, w większości (powyżej 75% komórek nowotworowych) wykazujących ekspresję antygenu CD30. Klinicznie nie stwierdza się cech lub występujących w wywiadzie innych skórnych chłoniaków T-komórkowych [1, 9, 22].

C-ALCL występuje głównie u dorosłych (mediana wieku 60 lat), częściej u mężczyzn niż u kobiet (2-3:1). U większości pacjentów stwierdza się pojedynczy guz lub zlokalizowane guzy, czasem grudki, często z owrzodzeniem. Zmiany lokalizują się najczęściej na tułowie, twarzy, kończynach i pośladkach [1, 4, 9]. Zmiany wieloogniskowe występują u około 20% pacjentów [1, 9]. Zmiany skórne mogą wykazywać cechy częściowej lub całkowitej spontanicznej regresji, podobnie jak w LyP. Chłoniak ten często nawraca w skórze, jednak rozsiew poza skórę, głównie do regionalnych węzłów chłonnych występuje rzadko (około 10% pacjentów) [1, 4, 9].

C-ALCL cechuje się rozlanym naciekiem złożonym z kohezyjnych płatów dużych komórek, niewykazujących epidermotropizmu. W większości przypadków komórki mają morfologię anaplastyczną z jądrami okrągłymi, owalnymi lub o nieregularnych obrysach, wyraźnymi kwasochłonnymi jąderkami oraz obfitą cytoplazmą. Rzadziej obserwuje się morfologię pleomorficzną lub immunoblastyczną (20-25%). Na obwodzie zmiany często występują odczynowe limfocyty [1, 2, 4, 9].

---

<sup>1</sup> W piśmiennictwie polskojęzycznym funkcjonują dwa tłumaczenia nazwy *primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma*: 1-pierwotnie skórny anaplastyczny chłoniak z dużych komórek [4] oraz 2- chłoniak wielkokomórkowy skóry z komórek T CD30+ [35]. W pracy wybrano pierwsze tłumaczenie z pozycji aktualniejszej.

Komórki nowotworowe wykazują immunofenotyp aktywowanych limfocytów T CD4+ z różnego stopnia utratą ekspresji antygenów CD2, CD5 i/ lub CD3 oraz częstą ekspresją białek cytotoksycznych (granzym B, TIA-1, perforyna). Rzadkie przypadki (poniżej 5%) wykazują immunofenotyp CD8+. Ekspresję antygeny CD30 wykazuje większość komórek nowotworowych. W przeciwieństwie do systemowego anaplastycznego chłoniaka z dużych komórek, ALK-dodatniego, większość C-ALCL wykazuje ekspresję skórny antygen limfocytów (*cutaneous lymphocyte antigen*, CLA), natomiast nie wykazuje ekspresji EMA i ALK. W przeciwieństwie do komórek Hodgkina i Reed-Sternberga w chłoniaku Hodgkina komórki nowotworowe C-ALCL zwykle nie wykazują ekspresji antygeny CD15. W części przypadków stwierdza się ekspresję antygeny CD56 [1, 2, 9].

Większość C-ALCL wykazuje klonalną rearanżację genów receptora limfocyta T, natomiast nie stwierdza się translokacji typowych dla systemowego anaplastycznego chłoniaka z dużych komórek, ALK-dodatniego [1, 9].

Rokowanie jest zwykle korzystne, dziesięcioletnie przeżycia wynoszą około 90% [1, 4, 9]. Prognoza u pacjentów ze zmianami wieloogniskowymi oraz z zajęciem regionalnych węzłów chłonnych jest zbliżona do pacjentów ze zmianami ograniczonymi do skóry [1, 9]. Rokowanie w C-ALCL zależy od lokalizacji zmiany. Pięcioletnie przeżycia specyficzne dla choroby wynoszą odpowiednio 82% dla zmiany zlokalizowanej na kończynie dolnej, 95% dla zmiany zlokalizowanej na głowie, szyi czy ramieniu, a 96% na tułowiu [4]. Obraz morfologiczny C-ALCL nie ma wpływu na rokowanie [1, 9]. Również ekspresja różnych antygenów (TRAF1, MUM1, bcl2 i CD15) nie ma znaczenia prognostycznego [36].

Dla pierwotnych skórnych chłoniaków innych niż MF i SS ISCL i EORTC zaproponowało odrębny system do oceny stopnia zaawansowania, ponieważ system dedykowany MF i SS nie znajduje zastosowania dla pozostałych chłoniaków skórnych. Ze względu na kliniczną i patologiczną różnorodność skórnych chłoniaków innych niż MF i SS proponowany system opiera się o anatomiczne rozmieszczenie zmian. W obecnej postaci ISCL/EORTC proponuje powstrzymanie się od podawania grup zaawansowania, ponieważ nie jest to wiarygodne wobec obecnie dostępnej wiedzy [37].

#### **2.4.4.2. *Lymphomatoid papulosis***

LyP jest przewlekłą, nawracającą, ulegającą samoistnej regresji chorobą, histologicznie złożoną z dużych atypowych anaplastycznych, immunoblastycznych lub Hodgkino-podobnych komórek na tle komórek zapalnych [9, 22].

LyP występuje najczęściej u dorosłych (mediana wieku 45 lat), częściej u mężczyzn niż u kobiet (1.5-3:1). Zmiany skórne mają postać grudek, grudek z martwicą i/lub guzów na różnym etapie rozwoju. Zmiany lokalizują się głównie na skórze tułowia i kończyn. Zmiany skórne ulegają regresji w ciągu 3 do 12 tygodni, z ewentualnym pozostawieniem blizny. Czas trwania choroby waha się od kilku miesięcy do ponad 40 lat. W blisko 20% przypadków LyP może być poprzedzony, współistnieć lub po nim może następować inny typ chłoniaka, najczęściej MF, C-ALCL lub chłoniak Hodgkina (HL) [1, 4, 9].

Obraz histologiczny LyP cechuje się dużą różnorodnością, w części zależną od czasu trwania biopsjowanej zmiany. Wyróżniono trzy zasadnicze podtypy LyP, stanowiące spektrum o nakładających się cechach. W LyP typ A (typ histiocytarny), najczęściej występującym, komórki duże lub wielojądrzaste występują rozproszone lub w drobnych skupieniach przemieszane z licznymi komórkami zapalnymi (histiocytami, małymi limfocytami, neutrofilami, i/lub eozynofilami). W LyP typ C (przypominający chłoniaka anaplastycznego z dużych komórek) stwierdza się monotonną populację dużych komórek CD30+, tworzących duże skupienia z względnie nieznaczną domieszką komórek zapalnych. Najrzadszy typ B (przypominający MF) cechuje się epidermotropowym naciekiem złożonym z małych atypowych limfocytów o mózgowkształtnych jądrach, podobnych do obserwowanych w MF [1, 2, 4, 9].

Komórki duże w LyP typ A i C wykazują immunofenotyp identyczny z komórkami nowotworowymi w C-ALCL, natomiast w LyP typ B komórki o immunofenotypie CD3+, CD4+, CD8- nie wykazują ekspresji antygenu CD30 [1, 2, 9].

Klonalna rearanżacja genów receptora limfocyta T występuje w około 60-70% przypadków. Identyczne rearanżacje stwierdza się w LyP i związanych z nim chłoniakach. Nie stwierdza się translokacji typowych dla systemowego anaplastycznego chłoniaka z dużych komórek, ALK+ [1, 9].

LyP cechuje się doskonałym rokowaniem. Zaledwie u 4% pacjentów obserwowano wystąpienie chłoniaka systemowego, 2% pacjentów zmarło z powodu systemowej choroby. Czynniki ryzyka rozwoju chłoniaka systemowego u pacjentów z

LyP nie są znane [1, 2, 9], aczkolwiek niektórzy autorzy podają, że ekspresja fascyny może stanowić czynnik prognostyczny rozwoju chłoniaka [2].

#### **2.4.5. Chłoniak z komórek T typu zapalenia tkanki podskórnej**

Chłoniak z komórek T typu zapalenia tkanki podskórnej (SPTL, *subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma*) jest chłoniakiem z limfocytów T cytotoksycznych cechującym się naciekiem głównie tkanki podskórnej. Złożony jest z małych, średniej wielkości lub dużych pleomorficznych limfocytów T oraz licznych makrofagów, typowo z cechami rozpadu jąder komórkowych nowotworowych limfocytów i martwicą tkanki tłuszczowej. Skóra właściwa i naskórek zwykle są niezajęte. Pomocną, aczkolwiek nie całkowicie specyficzną cechą diagnostyczną jest otaczanie pojedynczych adipocytów przez komórki nowotworowe. We wczesnych etapach komórki nowotworowe mogą nie wykazywać znaczącej atypii i przeważać może naciek zapalny [1, 4, 9]. Zarówno w klasyfikacji WHO-EORTC i WHO termin ten zarezerwowany jest dla chłoniaków o immunofenotypie  $\alpha/\beta+$ , natomiast chłoniaki o immunofenotypie  $\gamma/\delta+$  są klasyfikowane odrębnie [1, 2, 4, 9].

SPTL występuje zarówno u dorosłych, jak i u dzieci [1, 9], nieznacznie częściej u kobiet [9, 4]. Zmiany w postaci pojedynczych lub mnogich guzów i zmian naciekowych (*plaque*), rzadko owrzodziałych, zajmują głównie kończyny dolne. Mogą występować objawy ogólne, jak gorączka, wyniszczenie, utrata masy ciała, a w niektórych przypadkach (15-20%) zespół hemofagocytarny związany zwykle z gwałtowną progresją. Rozsiew pozaskórny jest rzadki [1, 9]. U około 20% pacjentów występuje choroba autoimmunologiczna, najczęściej toczeń układowy [4, 9]. Zmiany mogą wykazywać obraz podobny do *lupus profundus panniculitis*. U niektórych pacjentów zmiany wczesne mogą przypominać *lobular panniculitis*, jednak nie jest do końca wyjaśnione czy *lobular panniculitis* może poprzedzać SPTL u pacjentów bez toczenia układowego [9].

Komórki nowotworowe wykazują fenotyp:  $\alpha/\beta+$ , CD3+, CD4-, CD8+ oraz ekspresję białek cytotoksycznych, natomiast rzadko wykazują ekspresję antygenów CD30 i CD56 [1, 2, 4, 9].

Przebieg kliniczny jest zwykle powolny z nawracającymi zmianami skórnymi, jednak najczęściej bez rozsiewu pozaskórnego czy rozwoju zespołu hemofagocytarnego (częstszy w pierwotnym skórnym chłoniaku z limfocytów T  $\gamma/\delta$ ) [1, 4, 9]. Wystąpienie zespołu hemofagocytarnego wiąże się z niekorzystnym rokowaniem [1, 9]. Pięcioletnie

przeżycia przekraczają 80% [1, 2, 4, 9, 22, 34], a w przypadku wystąpienia zespołu hemofagocytarnego 46% [34].

#### **2.4.6. Pozawęzłowy chłoniak z komórek NK/T, typu nosowego**

Pozawęzłowy chłoniak z komórek NK/T, typu nosowego (*extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type*) jest chłoniakiem w większości przypadków pozawęzłowym, złożonym z małych, średnich lub dużych komórek, prawie zawsze EBV+ o immunofenotypie komórek NK lub rzadziej cytotoksycznych, cechującym się destrukcją ścian naczyń i masywną martwicą. Skóra jest po jamie nosowej i nosogardle drugą pod względem częstości lokalizacją nowotworu [1, 9], przy czym może być zajęta w jej przebiegu pierwotnie lub wtórnie, jednak obie formy zachowują się agresywnie i wymagają takiego samego leczenia, więc odróżnienie postaci pierwotnej i wtórnej nie ma znaczenia klinicznego [1, 22]. Z tego względu klasyfikacje WHO-EORTC i WHO pozostawiły dla tej jednostki określenie *nasal type*, nie wprowadzając odrębnej kategorii chłoniaka tego typu pierwotnie skórniego [1, 9].

Pacjenci to najczęściej dorośli z przewagą mężczyzn. Chłoniak ten częściej występuje w Azji, centralnej i południowej Ameryce [1, 4, 9]. Zmiany skórne zwykle są mnogie w postaci guzów lub zmian naciekowych (*plaque*), często owrzodziałych. Zmiany lokalizują się preferencyjnie na tułowiu lub kończynach, a w postaci nosowej w części centralnej twarzy występuje destrukcyjny guz (wcześniej zmiana określana była jako *lethal midline granuloma*). Mogą występować objawy ogólne: gorączka, wyniszczenie, utrata masy ciała, w niektórych przypadkach zespół hemofagocytarny [1, 4].

Komórki nowotworowe wykazują ekspresję antygenów CD2, CD56, CD3 (reakcja cytoplazmatyczna) oraz białek cytotoksycznych (TIA-1, granzym B, perforyna). W przypadkach CD56-ujemnych wykrycie EBV metodą hybrydyzacji *in situ* oraz ekspresja białek cytotoksycznych są wymagane do rozpoznania [1, 4, 9]. Zwykle nie stwierdza się ekspresji innych antygenów limfocytów T i NK: CD4, CD5, CD8, TCR $\delta$ ,  $\beta$ F1, CD16 i CD57. Często stwierdza się natomiast ekspresję CD43, CD45RO, HLA-DR, CD25, FAS (CD95) [9].

Pozawęzłowy chłoniak z komórek NK/T, typu nosowego manifestujący się zajęciem skóry jest wysoce agresywnym nowotworem [1, 9] z medianą przeżycia poniżej 12 miesięcy. Najistotniejszym czynnikiem wpływającym na niekorzystne rokowanie jest zajęcie lokalizacji pozaskórnych w momencie rozpoznania. Mediana przeżycia wynosi 27



miesiący u pacjentów ze zmianami ograniczonymi do skóry, a 5 miesięcy u pacjentów ze zmianami skórnymi i pozaskórnymi [1].

### **2.4.7. Pierwotne skórne obwodowe chłoniaki T-komórkowe, nieokreślone / rzadkie podtypy**

Obwodowe chłoniaki z limfocytów T nierzadko zajmują skórę pierwotnie lub wtórnie. Z grupy tej w klasyfikacji WHO-EORTC wyodrębniono trzy jednostki tymczasowe pierwotnych chłoniaków skórnych: pierwotnego skórno chłoniaka z limfocytów T  $\gamma\delta$ , pierwotnego skórno agresywnego epidermotropowego chłoniaka z limfocytów T cytotoksycznych CD8+ oraz pierwotnego skórno chłoniaka z małych i średniej wielkości (pleomorficznych)<sup>2</sup> limfocytów T CD4+. Dwie ostatnie jednostki w klasyfikacji WHO nadal są traktowane jako tymczasowe [1, 2, 4, 9]. Pozostałe chłoniaki T-komórkowe niespełniające kryteriów rozpoznania innych zdefiniowanych w klasyfikacjach jednostek określa się jako pierwotne skórne obwodowe chłoniaki T-komórkowe, nieokreślone (PTCL-U, *primary cutaneous peripheral T-cell lymphoma, unspecified*) [1]. We wszystkich przypadkach do rozpoznania wymagane jest wykluczenie MF na podstawie dokładnego badania klinicznego i historii pacjenta [1, 2, 9].

#### **2.4.7.1. Pierwotny skórny agresywny epidermotropowy chłoniak z limfocytów T cytotoksycznych CD8+**

Pierwotny skórny agresywny epidermotropowy chłoniak z limfocytów T cytotoksycznych CD8+ (*primary cutaneous aggressive epidermotropic CD8+ cytotoxic T-cell lymphoma*) jest agresywnym chłoniakiem, cechującym się proliferacją cytotoksycznych limfocytów T CD8+ wykazujących epidermotropizm. Różnicowanie z innymi chłoniakami o podobnym immunofenotypie (powyżej 50% siatkowicy pagetoidalnej, rzadkie przypadki MF, LyP i C-ALCL) opiera się na obrazie i przebiegu klinicznym [1, 9] oraz pewnych cechach histologicznych, jak znaczny epidermotropizm z martwicą naskórka [9].

---

<sup>2</sup> Określenie pleomorficzny w nazwie *primary cutaneous CD4+ small/medium sized (pleomorphic) T-cell lymphoma* znajduje się w klasyfikacji WHO-EORTC [1], natomiast zostało pominięte w klasyfikacji WHO [9], z tego względu umieszczono je w nawiasie.

Zmiany skórne przebiegają jako wysiew zlokalizowanych lub rozsianych guzków, guzków lub guzów z centralnym owrzodzeniem [1, 2, 9] lub powierzchownych zmian hiperkeratotycznych rumieniowych (*patch*) lub naciekowych (*plaque*), bez predylekcji do określonej lokalizacji [1, 9]. Obraz kliniczny podobny jest do pierwotnego skórniego chłoniaka z limfocytów T  $\gamma\delta$  oraz przypadków dawniej określanych jako uogólniona postać siatkowicy pagetoidalnej (typ Ketron- Goodman) [1, 4, 9]. Chłoniak ten może rozsiewać się do narządów wewnętrznych (płuca, jądra, ośrodkowy układ nerwowy, a także błona śluzowa jamy ustnej), lecz zwykle oszczędza węzły chłonne [1, 9].

Obraz histologiczny jest zmienny: od lichenoidnego nacieku, pagetoidnego epidermotropizmu z obrzękiem warstw pod naskórkiem, po głębsze, guzkowe nacieki [9]. Naskórek pokrywający zmianę jest akantotyczny lub zanikowy z martwicą keratynocytów, owrzodzeniem i różnie nasiloną spongiozą, czasem z tworzeniem pęcherzy [1, 9]. Epidermotropizm jest często wyraźny [1, 2, 9], waha się od linijnie układających się nowotworowych limfocytów w warstwie podstawnej po pagetoidny nacieki pełnej grubości naskórka [1]. Często występuje naciekanie i zniszczenie przydatków skórnych. Czasem obserwuje się angiocentryzm i angioinwazję [1, 9]. Komórki nowotworowe są małe-średnie lub średnie-duże z pleomorficznymi lub blastycznymi jądrami [1, 2].

Komórki nowotworowe wykazują immunofenotyp:  $\beta F1+$ ,  $CD3+$ ,  $CD8+$ , granzym  $B+$ , perforyna+,  $TIA-1+$ ,  $CD45RA+/-$ ,  $CD45RO-$ ,  $CD2-/+$ ,  $CD4-$ ,  $CD5-$ ,  $CD7-/+$  [1, 2, 9].

Przebieg kliniczny jest agresywny [1, 2, 9], mediana przeżycia wynosi 32 miesiące [1, 4, 9]. Morfologia komórek nowotworowych nie ma znaczenia prognostycznego [1, 9].

#### **2.4.7.2. Pierwotny skórny chłoniak z limfocytów T $\gamma\delta$**

Pierwotny skórny chłoniak z limfocytów T  $\gamma\delta$  (*primary cutaneous  $\gamma\delta$  T-cell lymphoma*) jest klonalnym rozrostem dojrzałych, aktywowanych limfocytów T  $\gamma\delta$  o immunofenotypie cytotoksycznym [1, 4]. Podobny, prawdopodobnie związany z pierwotnym skórnym chłoniakiem z limfocytów T  $\gamma\delta$  chłoniak może zajmować śluzówki, jednak nie jest obecnie jasne czy stanowią one odrębne jednostki [1, 4, 9]. Różnicowanie pomiędzy pierwotną a wtórną postacią skórną nie ma znaczenia klinicznego, ponieważ w obu grupach rokowanie jest niekorzystne [1].

Klinicznie stwierdza się zwykle rozsiane zmiany naciekowe (*plaque*), guzki lub guzy z lub bez owrzodzeń czy martwicy. Zmiany najczęściej lokalizują się na kończynach [1, 4, 9]. Często zajęte są również śluzówki i inne lokalizacje pozawęzłowe, jednak zajęcie węzłów chłonnych, śledziony lub szpiku jest rzadkie. Zespół hemofagocytarny może występować u pacjentów ze zmianami przypominającymi *panniculitis* [1, 9]. Objawy ogólne (gorączka, poty nocne i utrata masy ciała) występują u większości pacjentów [4, 9].

W pierwotnym skórnym chłoniaku z limfocytów T  $\gamma\delta$  można wyróżnić trzy zasadnicze rodzaje nacieku: epidermotropowy, śródskórny i podskórny. Często w tej samej biopsji lub biopsjach pobranych z różnych miejsc obserwuje się więcej niż jeden typ zajęcia skóry [1, 4, 9]. Epidermotropizm może być nieznaczny po znaczne pagetoidne szerzenie się komórek nowotworowych w obrębie naskórka [4, 9]. W nacieku tkanki podskórnej może występować otaczanie adipocytów przez komórki nowotworowe podobne do obserwowanego w SPTL [1, 4, 9], jednak zwykle stwierdza się także naciek skóry właściwej i/lub naskórka [2, 9]. Komórki nowotworowe są zazwyczaj średnie do dużych z jądrami o gruboziarnistej chromatynie. Duże komórki blastyczne o pęcherzykowych jądrach z wyraźnymi jąderkami są rzadkie [1, 9]. Często stwierdza się martwicę i apoptozę z cechami angioinwazji [1, 2, 4, 9].

Komórki nowotworowe wykazują immunofenotyp:  $\beta F1^-$ ,  $CD3^+$ ,  $CD2^+$ ,  $CD5^-$ ,  $CD7^{+/-}$ ,  $CD56^+$  oraz silną ekspresję białek cytotoksycznych. W większości przypadków nie stwierdza się ekspresji antygenów  $CD4$  i  $CD8$  [1, 2, 4, 9], choć w części może występować ekspresja  $CD8$ . W preparatach mrożonych komórki nowotworowe wykazują silną ekspresję TCR-delta, w przypadku braku preparatów mrożonych brak ekspresji  $\beta F1$  może w odpowiednim kontekście potwierdzać rozpoznanie [1, 2, 9].

Pierwotny skórny chłoniak z limfocytów T  $\gamma\delta$  jest agresywnym chłoniakiem [1, 2, 9], opornym na wielolekową chemioterapię i/lub radioterapię. Mediana przeżycia wynosi 15 miesięcy [1, 4, 9]. Rokowanie dodatkowo pogarsza zajęcie tkanki podskórnej w porównaniu do pacjentów z naciekiem ograniczonym do skóry właściwej lub naskórka [1, 9].

### **2.4.7.3. Pierwotny skórny chłoniak z małych i średniej wielkości (pleomorficznych) limfocytów T CD4+**

Pierwotny skórny chłoniak z małych i średniej wielkości (pleomorficznych) limfocytów T CD4+ (*primary cutaneous CD4+ small/medium sized (pleomorphic) T-cell lymphoma*) jest to chłoniak złożony z małych i średniej wielkości polimorficznych limfocytów T CD4+ bez zmian rumieniowych (*patch*) czy naciekowych (*plaque*) typowych dla MF [1, 9].

Klinicznie najczęściej chłoniak manifestuje się jako pojedyncza zmiana naciekowa (*plaque*) lub jako guz [1, 2, 9], najczęściej zlokalizowany na twarzy, szyi lub górnej części tułowia [1, 4, 9], rzadko na kończynach [9].

Histologicznie obserwuje się gęsty rozlany lub guzkowy naciek w obrębie skóry właściwej z naciekaniem tkanki podskórnej [1, 2, 4, 9]. Epidermotropizm może występować ogniskowo. W nacieku dominują małe i średniej wielkości polimorficzne limfocyty T, mogą być obecne komórki duże, pleomorficzne stanowiące jednak najwyżej 30% komórek nacieku [1, 4, 9].

Komórki nowotworowe wykazują immunofenotyp: CD3+, CD4+, CD8-, CD30-, czasem z utratą niektórych antygenów limfocytów T, zwykle bez ekspresji białek cytotoksycznych [1, 4, 9].

Rokowanie jest korzystne, pięcioletnie przeżycia wynoszą 60-90% [1, 2, 9], zwłaszcza u pacjentów ze zmianami pojedynczymi lub zlokalizowanymi [1, 9].

Według części autorów jednostka opisana jako *indolent CD8+ lymphoid proliferation of the ear* [38] może stanowić fenotypowy wariant pierwotnego skórniego chłoniaka z małych i średniej wielkości (pleomorficznych) limfocytów T CD4+, inni proponują raportowanie jej jako odrębnej jednostki pod nazwą: pierwotny skórny pleomorficzny chłoniak z małych i średniej wielkości limfocytów CD8+, typ uszny (*primary cutaneous CD8+ small/medium-sized pleomorphic T-cell lymphoma, ear-type*) [39]. Cechuje się ona odrębnym obrazem klinicznym -zmiany ograniczone do ucha zewnętrznego [38, 40] lub twarzy [38, 39] i obrazem histologicznym, sugerującym agresywnego chłoniaka. Przebieg choroby jest łagodny bez względu na zastosowane leczenie (chirurgiczne, radioterapia lub obserwacja) [38, 39, 40].

## 2.5. Pierwotne skórne chłoniaki B-komórkowe

### 2.5.1. Pierwotny skórny chłoniak B-komórkowy strefy brzeżnej

Jest to chłoniak indolentny zbudowany z małych limfocytów B o morfologii komórek strefy brzeżnej (przypominających centrocyta), komórek limfoplazmacytoidnych i plazmatycznych [1, 2]. W klasyfikacji WHO/EORTC pierwotny skórny chłoniak B-komórkowy strefy brzeżnej (C-MALT, *primary cutaneous marginal-zone B-cell lymphoma*) jest zaklasyfikowany oddzielnie od innych chłoniaków strefy brzeżnej, natomiast w klasyfikacji WHO jest ujęty łącznie z innymi chłoniakami strefy brzeżnej jako *extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue* (MALT) [2, 9]. Opinie odnośnie klasyfikacji C-MALT jako odrębnej jednostki lub włączenia do pozostałych chłoniaków strefy brzeżnej są podzielone [2, 3, 41].

Zmiany, często mnogie, w postaci guzków, zmian naciekowych (*plaque*) lub guzków lokalizują się głównie na kończynach i tułowiu [1]. C-MALT często nawraca w obrębie skóry, jednak rozsiew pozaskórny występuje rzadko [1, 2]. Wykazano związek z infekcją *Borrelia burgdorferi*, zwłaszcza w przypadkach z Azji i Stanów Zjednoczonych, w Europie w mniejszym odsetku przypadków [1].

C-MALT cechuje guzkowy lub rozlany naciek w obrębie skóry właściwej, bez epidermotropizmu. Naciek złożony jest z małych limfocytów, komórek strefy brzeżnej (przypominających centrocyty), komórek limfoplazmacytoidnych i plazmatycznych [1, 2], wymieszanych z nielicznymi komórkami o morfologii centroblasta lub immunoblasta oraz licznymi reaktywnymi limfocytami T [1]. Często widoczne są odczynowe ośrodki rozmnażania [1, 2], które mogą być otoczone małymi do średniej wielkości komórkami o nieregularnych jądrach z obfitą jasną cytoplazmą [1]. Monotypowe plazmocyty widoczne są często na obwodzie nacieku i bezpośrednio pod naskórkiem [1, 2]. Rzadko stwierdza się transformację do rozlanego chłoniaka z dużych komórek B, aczkolwiek czasem stwierdza się relatywnie zwiększoną liczbę komórek dużych [1]. W obrębie C-MALT można wyróżnić trzy warianty różniące się obrazem kliniczno-morfologicznym [3, 4, 16] (tabela 3).

Komórki strefy brzeżnej wykazują ekspresję antygenów CD20, CD79 $\alpha$  i bcl-2, natomiast nie wykazują ekspresji CD5, CD10 i bcl-6 [1, 2]. Plazmocyty wykazują

ekspresję antygenów CD138, CD79 $\alpha$  i wykazują restrykcję w produkcji łańcuchów lekkich immunoglobulin [1].

Rokowanie w C-MALT jest bardzo dobre, pięcioletnie przeżycia wynoszą blisko 100% [1, 2, 4], jednak u niemal połowy pacjentów występują nawroty [2, 3]. Znaczenie prognostyczne podtypów histologicznych C-MALT nie jest znane [3, 4]. Transformacja blastyczna w nawrotach wiąże się z gorszą prognozą, jądrowa ekspresja antygeny bcl-10 może wiązać się z zachowaniem agresywniejszym miejscowo [3].

Tabela 3. Warianty kliniczno-histopatologiczne C-MALT [3, 4, 16].

	Wariant klasyczny C-MALT	Wariant limfoplazmocytny C-MALT (dawn. <i>cutaneous immunocytoma</i> )	Wariant plazmocytny C-MALT (dawn. <i>cutaneous plasmacytoma</i> )
<b>Częstość</b>	najczęstszy		najrzadszy
<b>Wiek</b>	młodzi dorośli i dorośli	starsi	starsi
<b>Lokalizacja zmian</b>	kończyny górne, tułów	kończyny dolne, pośladki	kończyny dolne
<b>Morfologia zmian</b>	zwykle pojedyncze, skupiska grudek lub guzków, rozproszone guzki	zmiany naciekowe lub guzkowe	
<b>Infekcja B. burgdorferi</b>	rzadziej, w okolicach endemicznych	najczęściej	rzadziej
<b>Morfologia</b>	ogniskowe, guzkowe lub rozlane nacieki, często grudki otoczone nowotworowymi limfocytami i plazmocytami	monomorficzny, guzkowy lub rozlany nacieki z przewagą komórek limfoplazmocytnych, małych limfocytów i plazmocytów, zwykle brak grudek chłonnych, ośrodków rozmnażania i komponentu zapalnego	guzkowy lub rozlany nacieki z przewagą plazmocytów

## 2.5.2. Pierwotny chłoniak grudkowy skóry

Pierwotny chłoniak grudkowy skóry (C-FL, *primary cutaneous follicle center lymphoma*) stanowi proliferację nowotworowych limfocytów ośrodków rozmnażania, zwykle złożoną z centrocytów (małe i średniej wielkości komórki o powiększonych jądrach) oraz różnie licznych centroblastów (duże komórki o wyraźnych jąderkach), tworzących układy grudkowe, grudkowe i rozlane lub rozlane [1, 2, 9]. Chłoniaki o rozlanym wzroście złożone z monotonnej populacji centroblastów i immunoblastów są bez względu na lokalizację klasyfikowane jako pierwotnie skórne rozlane chłoniaki z dużych komórek B<sup>3</sup>, typu kończyny dolnej (C-DLBCL, *primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type*) [1, 9].

<sup>3</sup> W piśmiennictwie polskojęzycznym funkcjonują dwa tłumaczenia nazwy *primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type*: 1-pierwotnie skórny chłoniak z dużych komórek B, typ kończyny dolnej [4]

C-FL występuje głównie u osób dorosłych (średnia wieku 51-54 lata) [4, 9], nieznacznie częściej u mężczyzn [9]. C-FL cechuje się pojedynczymi lub zgrupowanymi zmianami naciekowymi (*plaque*) lub guzami, preferencyjnie zajmującymi skórę owłosioną głowy, czoło lub tułów, rzadko kończyny dolne [1, 4, 9]. Zwłaszcza na tułowiu guzy mogą być otoczone rumieniowymi grudkami lub nieco stwardniałymi zmianami naciekowymi (*plaque*), które mogą poprzedzać rozwój zmian guzowatych miesiące, a nawet lata, co dawniej określano jako: *reticulohistiocytoma of the dorsum* lub *Crosti lymphoma*. Zmiany wielogniskowe występujące u nielicznych pacjentów (15%), według części, ale nie wszystkich autorów wiążą się z gorszym rokowaniem [1, 9]. Zmiany nieleczone stopniowo, w ciągu lat, powiększają się, jednak rozsiew pozaskórny jest rzadki (około 10% pacjentów) [1, 2, 9]. Nawroty lokalizują się zwykle w pobliżu pierwotnej lokalizacji zmian [9], występują u około 40% pacjentów [2].

Obraz histologiczny jest zmienny w zależności od czasu trwania zmiany, szybkości wzrostu i lokalizacji. Zmiany o wyraźnym grudkowym wzroście częściej występują na skórze owłosionej głowy niż na tułowiu [1, 9]. W zmianach małych i wczesnych dominują centrocyty, względnie nieliczne są centroblasty, natomiast występują liczne reaktywne limfocyty T, tworzące układy grudkowe lub częściej tylko pozostałości układów grudkowych. Nieprawidłowe grudki, nieostro odgraniczone, zwykle bez makrofagów (typu *tingible body macrophages*) oraz o zredukowanej lub pozbawionej strefy płaszcza, złożone są z limfocytów bcl6+, zatopionych w sieci komórek dendrytycznych (CD21+ lub CD35+) [1, 2, 9]. W C-FL często występują duże wielopłatowe centrocyty. Niektóre limfocyty nowotworowe mogą przypominać fibroblasty. Wraz z progresją do zmian guzowatych zwiększa się liczba i rozmiar komórek nowotworowych, a zmniejsza się liczba odczynowych limfocytów T. Zwykle struktury grudkowe zanikają, z wyjątkiem rozproszonych komórek dendrytycznych ośrodków rozmnażania (CD21+ lub CD35+). Zmiany guzowate zwykle wykazują monotonną proliferację dużych komórek ośrodków rozmnażania, głównie dużych centrocytów i komórek wielopłatowych, a w rzadkich przypadkach komórek wrzecionowatych ze zmienną domieszką centroblastów i immunoblastów [1, 9]

Komórki nowotworowe wykazują ekspresję antygenów limfocyta B CD20 i CD79 $\alpha$ , zwykle są Ig negatywne. Ekspresja bcl-6 jest stała [1, 2, 9], jednak ekspresja

---

oraz 2- chłoniak wielkokomórkowy skóry kończyn dolnych z komórek B [35]. W pracy wybrano pierwsze tłumaczenie z pozycji aktualniejszej.

CD10 ograniczona jest zwykle do przypadków o grudkowym wzroście. C-FL zwykle nie wykazuje ekspresji antygenów CD5, CD43 i MUM1 [1, 9] oraz w przeciwieństwie do większości postaci systemowego chłoniaka grudkowego nie wykazuje lub wykazuje jedynie słabą ekspresję bcl-2 [1, 2, 4, 9]. Jednak część autorów opisuje w znacznym odsetku przypadków o przynajmniej ogniskowo grudkowym wzroście ekspresję bcl-2. Niemniej jednak silna ekspresja zarówno bcl-2, jak i CD10 powinna budzić podejrzenie węzłowego chłoniaka grudkowego, zajmującego skórę wtórnie [9].

Rokowanie odległe w C-FL jest lepsze niż w węzłowym chłoniaku grudkowym [21]. Bez względu na typ wzrostu (grudkowy lub rozlany), liczbę komórek blastycznych, zmiany zlokalizowane lub wieloogniskowe pięcioletnie przeżycia przekraczają 90% [1, 2, 4, 9]. Zmiany lokalizujące się na kończynach dolnych [2, 9] oraz wykazujące ekspresję FOX-P1 cechują się mniej korzystnym rokowaniem [2]. W rzadkich przypadkach wykazujących ekspresję bcl-2 w powyżej 50% komórek o rozlanym wzroście rokowanie jest mniej korzystne [1].

### **2.5.3. Pierwotnie skórny rozlany chłoniak z dużych komórek B, typu kończyny dolnej**

Pierwotnie skórny rozlany chłoniak z dużych komórek B, typu kończyny dolnej jest chłoniakiem złożonym głównie z dużych komórek B (centroblastów i immunoblastów), lokalizującym się najczęściej na kończynach dolnych, rzadziej w innych lokalizacjach [1, 2, 4, 9].

C-DLBCL występuje głównie u osób starszych [1, 4, 9], najczęściej w 7 dekadzie [9], częściej u kobiet niż u mężczyzn [1, 4, 9] (3-4:1) [9]. Manifestuje się zwykle szybko rosnącymi guzami na jednej lub obu kończynach. Zmiany rzadko (w około 15%) lokalizują się poza kończynami dolnymi, najczęściej na skórze głowy lub tułowia [1, 4, 9].

C-DLBCL cechuje się rozlanym naciekiem, często obejmującym tkankę podskórną, bez cech epidermotropizmu, złożonym ze zlewających się płatów lub monotonnej populacji komórek o morfologii centroblasta lub immunoblasta. Figury podziału mitotycznego są względnie częste. Nie stwierdza się obecności małych limfocytów B, a limfocyty T są nieliczne i często zlokalizowane wokół naczyń [1, 4, 9].



Komórki nowotworowe wykazują ekspresję antygenów limfocytów B CD20 i CD79 $\alpha$  oraz monotypowych sIg lub cIg [1, 9]. W przeciwieństwie do C-FL w C-DLBCL stwierdza się silną ekspresję bcl-2 oraz MUM1 [1, 2, 4, 9] i FOX-P1, jednak około 10% przypadków nie wykazuje ekspresji bcl-2 lub MUM1 [9]. Pomimo częstej ekspresji bcl-2, nie stwierdza się translokacji (14;18). W większości przypadków stwierdza się ekspresję bcl-6 [1, 4, 9], choć może być ona niestała [2], natomiast nie stwierdza się ekspresji CD10 [1, 2, 4, 9].

Pięcioletnie przeżycia wynoszą 50-55% [1, 9]. Prognoza jest gorsza w C-DLBCL lokalizujących się na kończynach dolnych w porównaniu do innej lokalizacji [1]. Zmiany wieloogniskowe w momencie rozpoznania wiążą się z gorszą prognozą [1, 9]. W zmianach pojedynczych zlokalizowanych na kończynach dolnych przeżycia pięcioletnie sięgają 100%, a w zmianach wieloogniskowych na jednej lub obu kończynach dolnych wynoszą odpowiednio 45% i 36% [1]. Częściej niż C-FL rozsiewa się poza skórę i prognoza jest mniej korzystna [1, 9]. Inaktywacja *CDK2A* jest niekorzystnym czynnikiem prognostycznym [9].

Rzadkie przypadki pierwotnych chłoniaków skóry z dużych komórek B, niespełniające kryteriów pozwalających na ich zaklasyfikowanie jako C-DLBCL lub C-FL w klasyfikacji WHO-EORTC ujęte są jako inne pierwotnie skórne rozlane chłoniaki z dużych komórek B (*primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, other*) [1, 2]. Przypadki te obejmują morfologiczne warianty rozlanego chłoniaka z dużych komórek B, jak podtypy immunoblastyczny [1], plazmablastyczny lub bogaty w limfocyty T/histiocyty. Przypadki te są najczęściej manifestacją chłoniaka systemowego zajmującego skórę [1, 2].

### **2.5.5. *Lymphomatoid granulomatosis***

*Lymphomatoid granulomatosis* jest chorobą limfoproliferacyjną wykazującą angiocentryzm i destrukcję naczyń, zajmującą lokalizacje pozawęzłowe. Naciek nowotworowy składa się z EBV-dodatnich limfocytów B przemieszanych ze zwykle dominującymi reaktywnymi limfocytami T. Zmiany wykazują rozmaity stopień histologicznego zróżnicowania i agresywności klinicznej, korelujący z odsetkiem dużych limfocytów B [3, 9, 42].

*Lymphomatoid granulomatosis* jest rzadką chorobą, najczęściej występuje u dorosłych, nieco częściej występuje u mężczyzn. Choroba najczęściej zajmuje płuca;

poza płucami najczęściej skórę, często również mózg, nerki, wątrobę, a rzadziej górne drogi oddechowe i przewód pokarmowy [3, 9, 42]. Pacjenci często prezentują objawy ze strony dróg oddechowych (kaszel, duszność czy ból w klatce piersiowej) oraz objawy ogólne. Zmiany skórne mają zwykle charakter mnogich rumieniowych guzków, zmian naciekowych lub guzów, często owrzodziałych. Zmiany te najczęściej lokalizują się na tułowiu i kończynach, mogą poprzedzać zmiany w płucach [9].

*Lymphomatoid granulomatosis* cechuje się polimorficznym naciekiem limfatycznym. W nacieku dominują zwykle limfocyty, przemieszane z plazmocytami, immunoblastami i histiocytami; granulocyty są zwykle nieliczne. W nacieku widoczne są różnie liczne EBV-dodatnie limfocyty B, wykazujące zwykle cechy atypii. Komórki te mogą przypominać immunoblasty lub komórki Hodgkina oraz postacie wielojądrowe [9]. Dobrze wykształcone ziarniniaki rzadko występują w płucach, częściej w zmianach skórnych [3, 9].

Limfocyty B zwykle wykazują ekspresję CD20, ekspresja CD30 jest zmienna, ekspresję LMP1 mogą wykazywać większe, polimorficzne komórki. Wśród limfocytów tła dominują limfocyty T CD3+ z przewagą limfocytów T CD4+[3, 9].

W większości przypadków choroba ma agresywny przebieg z medianą przeżycia poniżej 2 lat, może ulegać progresji do EBV-dodatniego chłoniaka rozlanego z dużych limfocytów B [9].

## 2.7. Komórki dendrytyczne

### 2.7.1. Definicje i podział

Termin komórki dendrytyczne powstał w 1973 roku, kiedy Ralph Steinman i Zanvil Cohn odkryli je w węzłach chłonnych [43, 44]. Przez pierwsze 20 lat nieliczne badania tych komórek bazowały na ich izolacji z tkanek, jednak rozwój technik, umożliwiających ich hodowlę *in vitro* pozwolił na zidentyfikowanie wielu ich cech biologicznych i molekularnych [44]. Początkowo definiowane były na podstawie morfologii, obecnie jako komórki zdolne do prezentowania antygenów limfocytom T. Szczegółowe scharakteryzowanie tych komórek jest znacznie utrudnione poprzez heterogenność komórek i różnorodność antygenów obecnych na powierzchni ich różnych podgrup oraz różnice pomiędzy mysimi i ludzkimi komórkami dendrytycznymi [43].

Komórki dendrytyczne występują w większości tkanek obwodowych, zwłaszcza w miejscach, gdzie tkanki stykają się ze środowiskiem zewnętrznym (skóra i śluzówki), gdzie stanowią 1-3% liczby komórek danej tkanki [45]. Komórki dendrytyczne lokalizujące się w różnych tkankach stanowią heterogenną grupę obejmującą: komórki Langerhansa naskórka, skórne (śródmiaższowe) komórki dendrytyczne, śledzionowe komórki dendrytyczne strefy brzeżnej, komórki palczaste (*interdigitating*) strefy T, komórki dendrytyczne ośrodków rozmnażania, grasicze komórki dendrytyczne, wątrobowe komórki dendrytyczne oraz komórki dendrytyczne krwi. Populacje te wykazują pewne różnice immunofenotypowe, jednak nie określono jeszcze jednoznacznie różnic w pochodzeniu, etapach rozwoju i funkcjach tych podgrup [43, 46].

Komórki dendrytyczne skóry stanowią zasadniczą populację leukocytów rezydujących w skórze człowieka [47]. Stanowią one heterogenną grupę, do której należą:

- 1- komórki Langerhansa,
- 2- skórne komórki dendrytyczne [43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53],
- 3- plazmacytoidne komórki dendrytyczne [43, 51, 52, 53],
- 4- „zapalne” komórki dendrytyczne [43]

W stanie stacjonarnym w skórze występują trzy populacje komórek dendrytycznych: komórki Langerhansa, skórne (śródmiaższowe szpikowe) komórki dendrytyczne oraz

plazmacytoidne komórki dendrytyczne, a dodatkowo podczas zapalenia pojawia się populacja „zapalnych” skórných komórek dendrytycznych pochodzenia szpikowego [43].

### **2.7.1.1. Komórki Langerhansa**

Komórki Langerhansa stanowią pierwsze opisane komórki dendrytyczne; początkowo ze względu na kształt były uważane za komórki pochodzenia nerwowego [44]. Są one ruchomymi komórkami dendrytycznymi prezentującymi antygen [48, 49]. Stanowią 3-6% wszystkich komórek naskórka [45, 49]. Komórki Langerhansa, regularnie rozmieszczone pomiędzy komórkami naskórka, posiadają liczne wypustki rozpostarte pomiędzy keratynocytami [45, 48, 49], łączące się z nimi poprzez homofilne połączenia cząstek E-cadheryny, obecnych na obu rodzajach komórek [49]. Komórki Langerhansa występują również w innych nabłonkach wielowarstwowych płaskich [49, 54], m.in. jamie ustnej, nosogardle, przełyku, pochwie i tarczy części pochwowej szyjki macicy, jak również w grasicy i węzłach chłonnych [54].

Ultrastrukturalnie cytoplazma komórek Langerhansa jest elektronowo przezierna, pozbawiona tonofilamentów czy melanosomów, jądro komórkowe wgłębione lub płatowe [49]. Specyficznym markerem cytoplazmatycznym są elektronowo gęste ziarnistości Birbecka, pochodzące z błon komórkowych, o nie w pełni wyjaśnionej funkcji, prawdopodobnie biorące udział w procesie endocytozy i przetwarzaniu antygeny [43, 45, 49].

W mikroskopie świetlnym komórki Langerhansa można wykazać metodami histochemicznymi (ATP-aza) lub immunohistochemicznymi [49]. Spośród markerów immunohistochemicznych za najbardziej specyficzny uchodzi antygen CD1a [44, 45, 47, 48, 49]. Ponadto komórki te wykazują ekspresję antygenów związanych z obecnością ziarnistości Birbecka: CD207 (Langerin) [43, 44, 45, 47, 55] i Lag [49, 55]. Mniej specyficzne antygeny obejmują: wimentynę, antygeny HLA klasy II, białko S100, receptory Fc $\gamma$ /Fc $\epsilon$  i C3 [49]. Komórki Langerhansa wywodzą się ze szpikowych komórek prekursorowych (CD34+). Obecnie uważa się, że populacja komórek Langerhansa jest w stanie stacjonarnym stale uzupełniana z puli prekursorowej. Zapalenie powoduje aktywację CD34+ prekursorów z krwi [43]. Dojrzewanie komórek Langerhansa wiąże się z pojawieniem się ekspresji CD208 (DC-lamp-1) i CD83 oraz zmniejszeniem ekspresji CD1a i CD1c [55].

W ostatnich latach toczy się dyskusja na temat patofizjologicznej roli komórek Langerhansa. Uważa się, że skórne antygeny są miejscowo przetwarzane przez komórki Langerhansa w naskórku, skąd komórki Langerhansa migrują do drenującego węzła chłonnego, aby zaprezentować antygen limfocytom T [43]. Komórki Langerhansa uważa się za niedojrzałe do czasu kontaktu z antygenem [48, 49]. Podczas wędrówki do węzła chłonnego komórki Langerhansa zmieniają swój fenotyp i ulegają „dojrzeniu” (m.in. zwiększa się zdolność do kostymulacji limfocytów T) [43]. Po przetworzeniu antygeny jest on prezentowany naiwnym limfocytom T [48, 49].

Komórki Langerhansa powodują znaczącą proliferację naiwnych limfocytów T CD8+ [44, 52], a przy połączeniu nowotworowych lub wirusowych antygenów z MHC są bardzo efektywne w inicjacji antygenowo specyficznych limfocytów T CD8+. Limfocyty te wykazują wysokie poziomy ekspresji molekuł cytotoksycznych (granzymy, perforyny) i są efektywne w zabijaniu docelowych komórek. Komórki dendrytyczne aktywują limfocyty cytotoksyczne poprzez IL-15 [52]. Ponadto komórki Langerhansa są silnymi aktywatorami naiwnych limfocytów CD4+, indukując ich różnicowanie w kierunku limfocytów produkujących IFN- $\gamma$  (Th1), jak również IL4, IL-5 i IL-13 (Th2) [44].

Badania myszy pozbawionych komórek Langerhansa kwestionują tę drogę, ponieważ mimo braku komórek Langerhansa aktywacja limfocytów T nie ulega zaburzeniu. Jednak wyniki tych badań nie są jednoznaczne, co może być spowodowane wieloma czynnikami (sposób deplecji komórek Langerhansa, miejsce, dawka i czas podania antygeny) i nie pozwala na jednoznaczne odrzucenie znaczenia komórek Langerhansa w prezentowaniu antygeny [43].

Sugeruje się, że komórki Langerhansa stale migrują do węzłów chłonnych, prawdopodobnie indukując i podtrzymując tolerancję antygenów skórnych [43, 44]. W związku z tym powstała hipoteza, że skórne komórki dendrytyczne mogą być kluczowe w procesie aktywacji reakcji immunologicznej, a komórki Langerhansa odgrywać rolę w podtrzymaniu tolerancji immunologicznej [43].

Ponadto wykryto u myszy populację dermalnych komórek wykazujących ekspresję CD207 (Langerin) o odmiennym immunofenotypie od naskórkowych komórek Langerhansa, które prawdopodobnie również występują w skórze człowieka [43].

Terminu „*indeterminate cells*” używano dawniej dla określenia komórek dendrytycznych w obrębie naskórka, niebędących keratynocytami, nie wykazujących ultrastrukturalnie obecności specyficznych organelli. Badania z seryjnym skrawaniem preparatów wykazały jednak, iż komórki te w rzeczywistości są komórkami Langerhansa,

zawierającymi jedynie nieliczne ziarnistości Birbecka [49]. Niektórzy uważali te komórki za prekursorzy komórek Langerhansa [17, 54].

### **2.7.1.2. Skórne komórki dendrytyczne**

Skórne komórki dendrytyczne stanowią heterogenną populację komórek dendrytycznych, wykrywanych głównie dzięki zastosowaniu immunohistochemii [48, 49], a wcześniej najprawdopodobniej mylonych z fibroblastami [49]. Ze względu na obecność licznych wypustek nazywano je dermalnymi dendrocytami [43]. Komórki dendrytyczne znajdujące się w skórze właściwej są analogiczne do dendrytycznych komórek śródmiąższowych występujących w tkankach miękkich i podścielisku innych narządów [43]. W skórze lokalizują się na poziomie kapilar i wyższych częściach warstwy siatkowatej skóry [45]. Komórki te są zdolne do wychwytu antygenów skórnych, po czym dojrzewają i migrują do regionalnych węzłów chłonnych, gdzie prezentują antygen limfocytom T i B [43].

Komórki dendrytyczne skóry właściwej człowieka długo definiowano na podstawie ekspresji czynnika XIIIa [48, 47, 56]. Wykazano jednak, że ekspresja czynnika XIIIa jest indukowana w hodowlach tkankowych i właściwie czynnik XIIIa stanowi marker makrofagów, stąd prace identyfikujące te komórki na podstawie ekspresji czynnika XIIIa wymagają ostrożnej interpretacji [43].

Obecnie szpikowe lub konwencjonalne komórki dendrytyczne w wielu tkankach identyfikowane są na podstawie wysokiej ekspresji cząstek prezentujących antygen HLA-DR [47] oraz integryny łańcucha  $\alpha$  x (CD11c), która była przez pewien czas traktowana jako dobry marker tych komórek [43]. Jednak wykazano, że ekspresję CD11c wykazują również makrofagi [47, 56].

Na podstawie immunofenotypu wyróżniano odmiany skórnych komórek dendrytycznych m.in:

-typ I cechuje się ekspresją czynnika XIIIa. Komórki te lokalizują się wokół naczyń włosowatych warstwy brodawkowej skóry właściwej, wokół gruczołów potowych oraz przegrodach łącznotkankowych tkanki podskórnej. Wykazują one ekspresję zarówno markerów komórek mesenchymalnych (wimentyna, antygen Te7), jak również niektórych molekuł powierzchniowych komórek prezentujących antygen (HLe1, HLA DR/DQ, CD14, CD36), a nie wykazują ekspresji markerów swoistych dla komórek

Langerhansa (CD1a, CD207, Lag, białka S100) [49]. Komórki te mogą brać udział w procesie gojenia ran [48].

-typ II cechuje się ekspresją antygeny CD34 (lub ludzkiego antygeny komórek progenitorowych, HPCA-1). Ponadto wykazują ekspresję antygenów mesenchymalnych i czasem antygenów HLA-DR, jednak nie wykazują ekspresji czynnika XIIIa, CD1a, białka S100. Komórki te lokalizują się głównie w środkowych i głębokich warstwach skóry właściwej wokół części wydzielniczych gruczołów potowych i mieszków włosowych.

Komórki dendrytyczne skóry nie posiadają ziarnistości Birbecka, ani innych szczególnych cech ultrastrukturalnych [49]. Komórki dendrytyczne otaczające drobne naczynia skóry określa się mianem *veil cells*. Obie grupy cechuje podobny immunofenotyp, jednak komórki dendrytyczne skóry morfologicznie mogą przypominać zarówno inne komórki dendrytyczne, jak i fibroblasty, natomiast komórki typu *veil cells* zawsze przypominają morfologicznie fibroblasty. Sugerowano, iż skórne komórki dendrytyczne mogą być niedojrzałym prekursorem komórek Langerhansa; skoro komórki Langerhansa są stale zastępowane prekursorami z komórek szpikowych, to *veil cells* skoncentrowane wokół naczyń mogłyby być prekursorami komórek dendrytycznych wnikających drogą naczyń do skóry [48].

Zasugerowano, że na pulę komórek dendrytycznych skóry składa się populacja stacjonarna i dodatkowa pojawiająca się podczas zapalenia (zapalne komórki dendrytyczne).

Część z tych stacjonarnych komórek dendrytycznych (CD11c+) może proliferować *in situ*. Zasadnicza populacja komórek dendrytycznych znajdujących się w skórze w stanie stacjonarnym, wykazujących ekspresję CD1c (BDCA-1), to względnie niedojrzałe komórki z umiarkowaną zdolnością do aktywacji limfocytów T. Komórki te wykazują także ekspresję CD11c, HLA-DR, CD45, CD209 (DC-SIGN) i w 50% CD1a, nie wykazują ekspresji CD14. Dendrytyczne komórki skóry CD1c+/CD14-/ CD1a+ wykazują także ekspresję CCR7 i są wrażliwe na węzłową chemokinę CCL19, co sugeruje, że mogą migrować do węzłów chłonnych w celu prezentacji antygeny. Prawdopodobnie te niedojrzałe komórki utrzymują tolerancję antygenów własnych. Bodźce stymulujące dojrzewania tych komórek wpływają na zwiększenie zdolności aktywacji limfocytów T [43].

Drugą populację komórek prezentujących antygen mogą stanowić komórki wykazujące ekspresję CD14 i niską CD1a [43, 52, 45]. Komórki te w zdrowej skórze są

nieliczne i nie jest nawet pewne czy faktycznie rezydują w skórze; również według niektórych autorów ich rola pozostaje niewyjaśniona [43]; niektórzy uważają je za makrofagi [45]. Natomiast inni badacze wykazali, że CD14<sup>+</sup> komórki dendrytyczne stymulują naiwne limfocyty B aktywowane poprzez CD40 do różnicowania w plazmocyty i produkcji IgM poprzez sekrecję IL-6 i IL-10 [44, 52]. Te same komórki indukują naiwne limfocyty T CD4<sup>+</sup> do różnicowania w grudkowe pomocnicze limfocyty T (Tfh), które specjalizują się w aktywacji limfocytów B. Limfocyty Tfh aktywują produkcję dużej ilości IgM i przełączają produkcję immunoglobulin w kierunku IgG i IgA. Nabycie fenotypu Tfh i czynność tych komórek zależy od IL-12 [52]. W związku z tym zaproponowano, że skórne komórki dendrytyczne indukują głównie odpowiedź humoralną, a komórki Langerhansa odpowiedź komórkową [44].

Około 5% względnie niedojrzałych komórek CD1c (BDCA-1)-dodatnich wykazuje ekspresję markerów dojrzałych komórek dendrytycznych, jak CD208 (DC-LAMP) i CD205 (DEC-205); ekspresja CD205 (DEC-205) znacznie zwiększa się na komórkach dojrzałych. Komórki dojrzałe tworzą skupienia w skórze. Prawdopodobnie prawidłowa skóra potrzebuje dojrzałych komórek dla sprawnej prezentacji antygeny [43].

Około 10% komórek dendrytycznych skóry stanowią komórki wykazujące ekspresję CD141 (BDCA-3). Ich rola w skórze nie została poznana, we krwi natomiast stanowią populację komórek szpikowego pochodzenia o najmniejszym potencjale immunostymulacyjnym [43].

„Zapalne” komórki dendrytyczne skóry badane były w dermatozach zapalnych. W łuszczycy obserwuje się około trzydziestokrotny wzrost liczby komórek dendrytycznych skóry (CD11c<sup>+</sup>), co zbliża je do liczebności limfocytów T. Po skutecznym leczeniu liczba tych komórek wraca do normy. Charakterystyka „zapalnych” komórek dendrytycznych nie jest pełna, jednak dostępne wyniki wskazują, że nie wykazują one ekspresji CD1c (BDCA-1), co wskazuje na to, że mogą one pochodzić z krążących prekursorów komórek dendrytycznych migrujących do skóry w wyniku oddziaływania sygnałów chemotaktycznych pochodzących z ogniska zapalnego. Potencjalne prekursory obejmują krążące hematopoetyczne komórki prekursorowe, krążące komórki „pre-dendrytyczne” (CD11c<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>), monocyty oraz stacjonarne komórki dendrytyczne. Komórki dendrytyczne skóry występujące w łuszczycy, produkują TNF i syntetazę tlenku azotu, prawdopodobnie należą do populacji „zapalnych” komórek dendrytycznych. Te komórki pojawiają się także w skórze leczonej imikwimodem z powodu raka podstawnokomórkowego, więc mogą brać udział w odrzucaniu guza. Na



patogenetyczne znaczenie tych komórek w łuszczycy wskazuje gwałtowny spadek produkowanych przez nie modulatorów po skutecznym leczeniu. Komórki dendrytyczne produkujące TNF i syntetazę tlenku azotu stymulują także różnicowanie i aktywację limfocytów Th17, które stanowią nowy podtyp limfocytów T związany z procesem autoimmunologicznym w wielu modelach chorób. Potencjalna rola tych komórek dendrytycznych jako źródła mediatorów zapalnych stoi w kontraście z klasycznym poglądem na rolę komórek dendrytycznych jako prezentujących antygen. Ponieważ te komórki mogą stanowić kluczowy cel leczenia przeciwzapalnego i mogą być zaangażowane w choroby autoimmunologiczne konieczne jest lepsze zrozumienie powstawania i aktywacji tych komórek [43].

„Zapalne” komórki dendrytyczne, początkowo nazwane zapalnymi naskórkowymi komórkami dendrytycznymi, opisano także w atopowym zapaleniu skóry w oparciu o badania w cytometrze przepływowym komórek z zawiesiny naskórka. Komórki te wykazywały ekspresję HLA-DR, CD11c, CD1a, CD206, CD36, CD1b/c, CD11b, CD209 (DC-SIGN). Obecnie uznaje się, że komórki te zlokalizowane są w rzeczywistości w skórze właściwej i produkują szereg cytokin i chemokin (Th2: CCL7 i CCL18), odmiennych od komórek występujących w łuszczycy [43].

Zarówno komórki Langerhansa, jak i skórne komórki dendrytyczne aktywują proliferację i różnicowanie limfocytów B i T pamięci [44].

### **2.7.1.3. Plazmacytoidne komórki dendrytyczne**

Plazmacytoidne komórki dendrytyczne stanowią unikatową populację stacjonarnych komórek dendrytycznych skóry; początkowo zostały opisane na podstawie morfologii przypominającej plazmocyta [43]. Komórki te posiadają wiele z cech limfocytów B (zależność od czynnika transkrypcyjnego limfocytów B, rearanżacja genów immunoglobulin) [43]. Cechuje je ekspresja CD303 (BDCA-2), CD123, [43, 51], BDCA-4 [43], CD2AP [57]. Uważa się, że zarówno szpikowe, jak i plazmacytoidne komórki dendrytyczne mogą pochodzić ze wspólnych prekursorów komórek dendrytycznych szpiku kostnego. Zarówno szpikowe, jak i plazmacytoidne komórki dendrytyczne wykazują ekspresję HLA-DR i mają zdolność do prezentacji antygeny [43].

Plazmacytoidne komórki dendrytyczne cechuje zdolność do produkcji dużych ilości IFN typu 1 (IFN- $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\omega$ ) podczas infekcji wirusowej (10000 razy więcej niż inne komórki) [43, 51]. Z tego względu uważa się, że stanowią one pierwszą linię obrony

przeciwwirusowej [52]. Produkcja interferonu jest stymulowana przez wirusowe RNA i DNA zawierające powtarzalne niemetylowane nukleotydy CG, przyłączające się do receptorów *Toll-like* (TLR7 i TLR9) [43, 51]. Produkcję interferonu mogą stymulować również pewne bakterie [51]. IFN- $\alpha$  moduluje powstawanie i dojrzewanie komórek układu immunologicznego (limfocytów T, szpikowych komórek dendrytycznych) poprzez receptor IFN [43]. Interferon  $\alpha/\beta$  wywołuje różny wpływ na komórki NK, limfocyty B i T oraz inne komórki dendrytyczne. W zależności od stadium dojrzałości oraz natury i koncentracji antygeny mogą indukować limfocyty Th1 lub Th2 bądź limfocyty T regulatorowe (tolerancję immunologiczną). Pomimo, iż posiadają zdolność do aktywowania limfocytów T pamięci z podobną efektywnością do innych komórek dendrytycznych, są znacznie mniej skuteczne w aktywowaniu antygenowo specyficznych naiwnych limfocytów T. Chociaż obecnie nie wiadomo, czy komórki plazmacytoidne mogą migrować do skóry dla rozpoznania antygeny, mogą być rekrutowane do zapalnie zmienionej skóry [51].

W zdrowej skórze występuje niewielka liczba plazmacytoidnych komórek dendrytycznych. Obserwuje się zwiększoną ich liczbę w łuszczycy, gdzie mogą odgrywać rolę w fazie początkowej [43]. Odgrywają również kluczową rolę w przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej [57].

#### **2.7.1.4 Naskórkowe dendrytyczne limfocyty T**

Dodatkowo opisano naskórkowe dendrytyczne limfocyty T stanowiące 1-2% komórek naskórka u gryzoni. Są komórkami wywodzącymi się ze szpiku (CD45+) linii limfocyta T (Thy-1+/ CD3+) z ekspresją receptora limfocyta T  $\gamma/\delta$ . Komórki te nie wykazują ekspresji antygenów CD4 i CD8, jak również MHC klasy II. Limfocyty  $\gamma/\delta$  rozpoznają ograniczoną liczbę epitopów, jak białko szoku cieplnego, cząsteczki przypominające MHC i antygeny mykobakterii. Ze względu na możliwość produkcji białka szoku cieplnego przez komórki zarówno bakteryjne, jak i ssaków oraz jego konserwatywną strukturę, sugerowano, że limfocyty  $\gamma/\delta$  mogą brać udział w reakcjach autoimmunologicznych. Proponowano również, że komórki te mogą brać udział w indukowaniu tolerancji immunologicznej [48].

### 2.7.1.5. Makrofagi

Makrofagi obok komórek dendrytycznych stanowią drugą grupę nielimfatycznych komórek jednojądrowych biorących udział w reakcjach immunologicznych. W porównaniu do komórek dendrytycznych cechują się większą zdolnością fagocytarną oraz wyższym poziomem enzymów lizosomalnych. Podobnie jak komórki dendrytyczne makrofagi są szeroko rozpowszechnione. Występują w węzłach chłonnych (w ośrodkach rozmnażania jako tzw. *tingible-body macrophages* oraz w zatokach jako histiocyty zatokowe) oraz tkankach obwodowych m.in. w tkance łącznej, pęcherzykach płucnych czy wątrobie (komórki Kupffera) [54]. Według niektórych autorów makrofagi stanowią jedną z przynajmniej dwóch populacji skórnych komórek dendrytycznych. Wykazali oni obecność w zdrowej skórze dwóch zasadniczych populacji komórek o morfologii dendrytycznej:

- 1- niedojrzałe komórki dendrytyczne CD1+, CD11c+, CD208+;
- 2- makrofagi CD209+, CD206+, CD163+, CD68+ bez koekspresji markerów komórek dendrytycznych (CD1a, CD1b, CD1c i DC-LAMP). Autorzy uważają, że stwierdzona przez innych ekspresja CD209 przez komórki dendrytyczne może wynikać z metody badania (mikroskop fluorescencyjny lub mikroskop konfokalny) [56].

### 2.7.2. Powstawanie komórek dendrytycznych

Komórki dendrytyczne wywodzą się ze szpikowych lub limfatycznych komórek progenitorowych (CD34+), chociaż istnienie ludzkich limfatycznych komórek dendrytycznych pozostaje wątpliwe [46]. We krwi obwodowej komórki prekursorowe tworzą dwie lub trzy populacje:

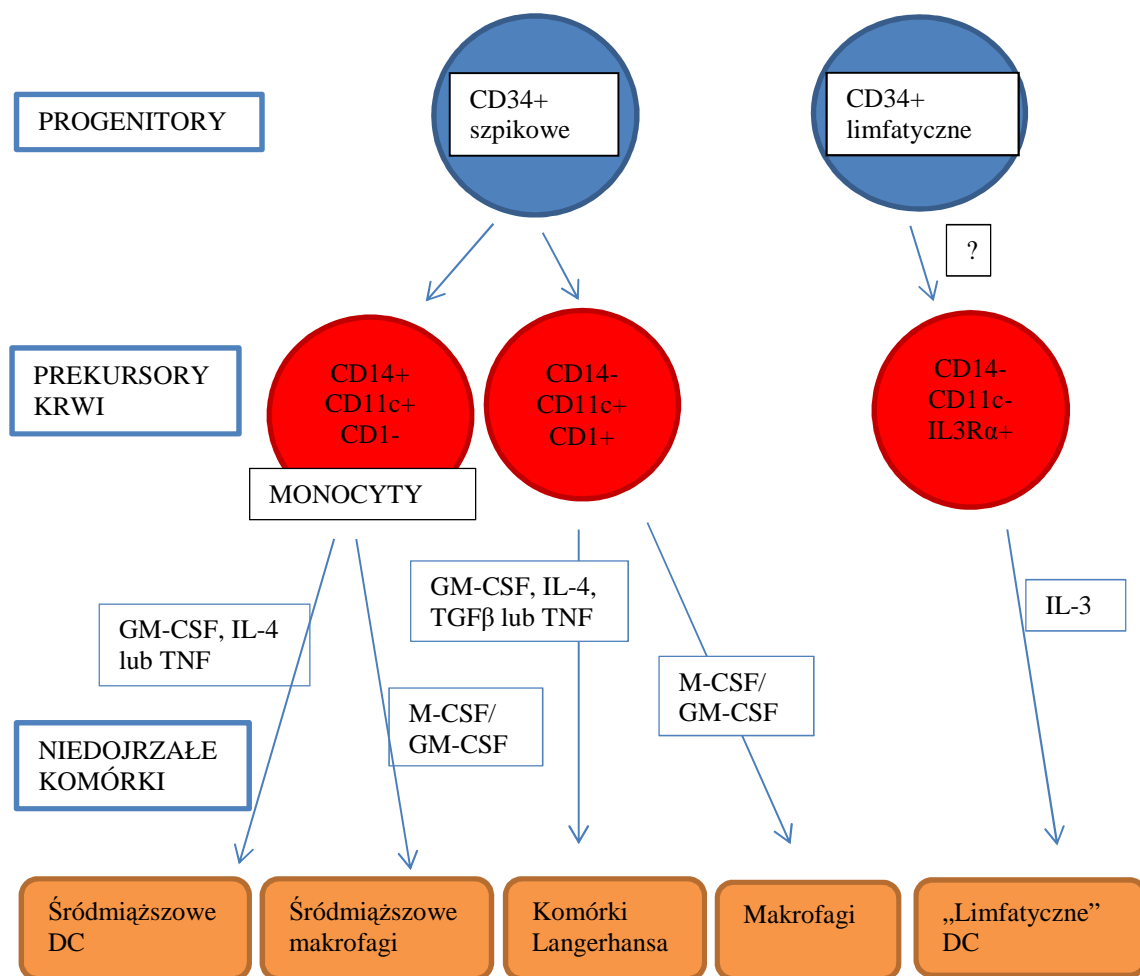
- 1- monocyty CD14+/CD11c+/CD1-,
- 2- prekursorzy komórek dendrytycznych CD11c-/IL-3R $\alpha$ + *lineage-negative*, pierwotnie opisane jako plazmacytoidne komórki T lub plazmacytoidne monocyty,
- 3- komórki CD11c+ *lineage-negative* mogą stanowić trzecią grupę, jednak komórki te są bardziej zróżnicowane, ponieważ mogą spontanicznie różnicować się do komórek dendrytycznych w kulturach tkankowych [46].

Z monocytów CD14+/CD11c+ oraz komórek CD11c+ *lineage-negative* pod wpływem GM-CSF i IL-4 lub TNF powstają niedojrzałe komórki dendrytyczne [44, 46]. Ponadto CD11c+ komórki prekursorowe krwi pod wpływem TGF- $\beta$  mogą różnicować się

w kierunku komórek Langerhansa [44, 46, 50]. TGF- $\beta$  stanowi główny czynnik powodujący różnicowanie w kierunku komórek Langerhansa [45, 46], natomiast hamuje powstawanie skórných komórek dendrytycznych. Proces różnicowania komórek Langerhansa i ich migracja do naskórka nie jest w pełni poznany. Uważa się, że szpikowe prekursorzy komórek Langerhansa wędrują poprzez krew obwodową do skóry właściwej i naskórka. Inne badania sugerują, że w zdrowej skórze istnieje populacja prekursorów komórek Langerhansa (CD207 (Langerin)+, CD14+) [45].

Obie grupy komórek prekursorowych mogą różnicować się w kierunku makrofagów pod wpływem GM-CSF lub M-CSF, co wskazuje na plastyczność układu komórek dendrytycznych (schemat 1). Prekursorzy CD11c- *lineage-negative* potrzebują do przeżycia IL-3, a CD40-L do dojrzewania [46].

Schemat 1. Powstawanie komórek dendrytycznych.



DC-komórki dendrytyczne

### 2.7.3. Funkcjonowanie i rola komórek dendrytycznych

Komórki dendrytyczne stanowią heterogenną, dynamiczną i plastyczną populację komórek prezentujących antygen, będących kluczowymi inicjatorami i regulatorami odpowiedzi immunologicznej zarówno swoistej, jak i nieswoistej [44, 51, 52].

Ze szpikowych komórek progenitorowych powstają krążące we krwi komórki prekursorowe, patrolujące naczynia i tkanki limfatyczne oraz osiedlające się w narządach limfatycznych i tkankach obwodowych jako niedojrzałe komórki o wysokiej zdolności fagocytarnej [44, 51]. Niedojrzałe komórki dendrytyczne pełnią rolę immunologicznych strażników, ostrzegających przed potencjalnie groźnymi mikroorganizmami [44, 45, 46]. Niedojrzałe komórki dendrytyczne bardzo efektywnie wychwytyją antygeny, wykorzystując kilka dróg:

- 1- makropinocytozę,
- 2- endocytozę zależną od receptorów lektyn typu C (DEC-205) lub receptory Fcγ typu I (CD64) lub II (CD32),
- 3- fagocytozę cząstek takich jak lateks, fragmentów martwiczo zmienionych komórek, wirusów czy bakterii oraz wewnątrzkomórkowych pasożytów [46].

Rozpoznają one bezpośrednio antygeny mikroorganizmów lub otrzymują sygnały ze strony układu nieswoistej odpowiedzi immunologicznej [44, 45, 46, 55]. Informacje te są rozszyfrowywane i integrowane oraz przekazywane komórkom swoistego układu odpowiedzi immunologicznej [44, 45, 55]. Typ swoistej odpowiedzi immunologicznej w znacznym stopniu zależny jest od rodzaju bodźca aktywującego komórki dendrytyczne [44, 45].

Aktywowane komórki dendrytyczne są ukierunkowane na wywołanie odpowiedzi swoistej antygenowo. Prowadzą do proliferacji i różnicowania limfocytów T w komórki pomocnicze i efektorowe, inicjują również odpowiedź humoralną [52]. Po rozpoznaniu antygeny niedojrzałe komórki dendrytyczne migrują do narządów limfatycznych, gdzie prezentują antygen limfocytom T pomocniczym CD4+ i dokonują selekcji limfocytów specyficznych dla antygeny. Aktywowane limfocyty T wspomagają dojrzewanie komórek dendrytycznych, co umożliwia proliferację i różnicowanie limfocytów [46]. W procesie aktywacji (dojrzewania) na powierzchni komórek dendrytycznych ulegają ekspresji różne cząsteczki powierzchniowe, jak czynniki kostymulujące limfocyty T (CD40, CD80, CD86) i MHC klasy II oraz inne (CD83, LAMP). W zależności od rodzaju bodźca inicjującego reakcję immunologiczną z niedojrzałych komórek dendrytycznych

mogą powstać różnego typu komórki efektorowe, zdolne do aktywacji limfocytów T pomocniczych typu 1 lub 2 oraz reakcji cytotoksycznych. Aktywowane komórki dendrytyczne mogą brać również udział w rozwoju tolerancji i modulować odpowiedź immunologiczną poprzez stymulację limfocytów T regulatorowych [46, 51]. Indukcja tolerancji bądź reakcji immunologicznej może zależeć od stopnia dojrzałości komórek dendrytycznych [58]. Uważa się, że komórki dendrytyczne po interakcji z limfocytami ulegają apoptozie [46].

### **2.7.3.1. Aktywacja i dojrzewanie komórek dendrytycznych**

Aby zainicjować reakcję immunologiczną komórki dendrytyczne podlegają złożonemu procesowi dojrzewania, czyli przemianie z komórek wychwytyjących antygen w komórki ów antygen prezentujące. Proces dojrzewania obejmuje:

- 1- zmiany morfologiczno-czynnościowe jak utrata struktur adhezyjnych, reorganizacja cytoszkieletu oraz nabycie wysokiej ruchliwości komórki,
- 2- utratę receptorów endocytarno-fagocytarnych,
- 3- sekrecję chemokin, co przebiega w skoordynowany sposób, zależny od typów komórek, które mają zostać przywołane w miejsce reakcji,
- 4- nadekspresję cząstek kostymulujących (CD40, CD80, CD86),
- 5- przemieszczenie cząstek MHC II na powierzchnię komórki,
- 6- sekrecję cytokin, które wpływają na różnicowanie i polaryzację komórek efektorowych [44, 45, 46].

Niedojrzałe komórki dendrytyczne są aktywowane czterema zasadniczymi drogami:

- 1- przez antygeny mikroorganizmów (bakterie, grzyby, wirusy i pasożyty),
- 2- przez antygeny obumierających komórek własnych organizmu,
- 3- przez komórki nieswoistego układu immunologicznego (plazmacytoidne komórki dendrytyczne, mastocyty, granulocyty, komórki NK, limfocyty T NK i  $\gamma\delta$ ),
- 4- przez komórki swoistego układu immunologicznego [44].

Aktywacja komórek dendrytycznych przez mikroorganizmy zachodzi poprzez receptory rozpoznające wzorce (*pattern recognition receptors*) [44]. Mikroorganizmy są rozpoznawane przez ograniczony zestaw konserwatywnych wzorców molekularnych, (związane z patogenem wzorce molekularne, *pathogen-associated molecular patterns*,

PAMPs), stałych u różnych patogenów. Kombinacja PAMPs jest unikatowa dla określonego mikroorganizmu. PAMPs są rozpoznawane przez przynajmniej trzy rodziny receptorów rozpoznających wzorce:

- 1- receptory *toll-like* (TLR),
- 2- receptory powierzchniowe lektyny typu C,
- 3- wewnątrzcytoplazmatyczne receptory *nucleotide oligomerization domain-like* (NOD) [44, 45].

Mikroorganizmy aktywują komórki dendrytyczne bezpośrednio przez receptory rozpoznające wzorce lub pośrednio poprzez wychwyt antygenów umierających komórek wskutek infekcji. Mikroorganizmy aktywują również układ nieswoistej odpowiedzi immunologicznej, który produkuje cytokiny zdolne do aktywacji komórek dendrytycznych [44].

Receptory *toll-like* (TLR) występują na różnych komórkach, w tym komórkach dendrytycznych. U ludzi zidentyfikowano 10 rodzajów TLR. Można je podzielić na podgrupy, w zależności od ligandów, które rozpoznają i lokalizacji w komórce. Podgrupa obejmująca TLR1, TLR2, TLR4 i TLR6 rozpoznaje lipidy, a TLR3, TLR7, TLR8 i TLR9 kwasy nukleinowe. TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 i TLR6 lokalizują się na powierzchni komórki, a TLR3, TLR7, TLR8, TLR9 wewnątrzkomórkowo, typowo w późnych endosomach. Ograniczona lokalizacja TLR chroni przed spontaniczną aktywacją komórek dendrytycznych przez własne kwasy nukleinowe [44]. Antygeny bakteryjne są rozpoznawane przez TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 i TLR6, RNA wirusowe poprzez TLR3 i TLR7 [45].

Inny mechanizm regulacyjny stanowi różna ekspresja TLR przez poszczególne typy komórek dendrytycznych, która pozwala na różną odpowiedź wywoływaną przez poszczególne podtypy komórek dendrytycznych. Skórne komórki dendrytyczne posiadają TLR rozpoznające bakteryjne PAMPs, więc mogą stanowić podtyp komórek specjalizujących się w rozpoznawaniu bakterii. Różne TLR nie tylko rozpoznają różne PAMPs, lecz również przekazują odrębne sygnały molekularne, powodujące dojrzewanie określonych podtypów komórek dendrytycznych, a w konsekwencji wyzwalają odrębne reakcje immunologiczne. Przykładowo stymulacja TLR4 indukuje odpowiedź Th1 przez sekrecję IL-12, a TLR2 poprzez wydzielanie IL-10 indukuje reakcję Th2. Ponieważ mikroorganizmy wykazują ekspresję różnych ligandów TLR, część z tych receptorów może współdziałać przy aktywacji komórek dendrytycznych [44].

Receptory lektyny typu C przyłączają się do węglowodanowych ugrupowań glikoprotein. Podobnie do TLR poszczególne podtypy komórek dendrytycznych wykazują ekspresję różnych receptorów lektyny. Receptory lektyny pełnią różne funkcje. Oprócz rozpoznawania patogenów i ich internalizacji pełnią rolę molekuł adhezyjnych, umożliwiających kontakt komórek dendrytycznych z innymi komórkami [44].

Receptory NOD stanowią rodzinę receptorów rozpoznających wewnątrzkomórkowe komponenty mikroorganizmów. Rodzina receptorów NOD obejmuje 22 rodzaje receptorów, które w większości można zaklasyfikować do dwóch podgrup: NOD (NOD1-5) i NALP (NACHT, *leucine-rich repeat*, and *pyrin-domain-containing proteins 1-14*). Ekspresja większości receptorów NOD u człowieka nie jest poznana. Receptory NOD1-2 występują w cytoplazmie makrofagów i komórek dendrytycznych, NALP1 w komórkach Langerhansa w obrębie naskórka i błon śluzowych. Po rozpoznaniu PAMPs konformacja receptorów NOD ulega zmianie, powodując ich aktywację i uruchomienie produkcji prozapalnych cytokin. Polimorfizm lub mutacje receptorów NOD związane są z podatnością na choroby zapalne (m.in. choroba Leśniowskiego-Crohna, rodzinna sarkoidoza) [44].

Komórki dendrytyczne mogą być aktywowane poprzez produkty obumierających komórek, łącznie zwane jako wzorce molekularne związane z uszkodzeniem (*damage-associated molecular patterns*). Wzorce molekularne związane z uszkodzeniem obejmują białka szoku cieplnego, *high-mobility group box 1 protein*,  $\beta$ -defensyny i kryształy kwasu moczowego. Receptory dla białek szoku cieplnego mogą stanowić CD40 i *lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1* (LOX-1).  $\beta$ -defensyny stanowią peptydy przeciwbakteryjne, uwalniane przez neutrofile i komórki nabłonkowe. Aktywują one komórki dendrytyczne poprzez TLR 4. Kryształy kwasu moczowego aktywują komórki dendrytyczne do produkcji cytokin prozapalnych (zwłaszcza IL-1 $\beta$ ) poprzez receptor NALP3. Również inne cząsteczki endogenne takie, jak fibronektyna, fibrynogen, kwas hialuronowy mogą aktywować komórki dendrytyczne poprzez TLR4. Umierające komórki uwalniają podobny do cytokin czynnik (HMGB1), aktywujący makrofagi do produkcji prozapalnych cytokin (TNF, IL-6 oraz HMGB1). HMGB1 przyłącza się do różnych receptorów (TLR2, TLR4 i *receptor for advanced glycation end products*, RAGE) obecnych na monocytach, makrofagach komórkach NK [44].

Komórki dendrytyczne mogą być aktywowane przez komórki układu nieswoistej odpowiedzi immunologicznej (neutrofile, bazofile, mastocyty i plazmacytoide komórki dendrytyczne), aktywowane z kolei przez kontakt z mikroorganizmem. Neutrofile i



makrofagi po rozpoznaniu mikroorganizmu produkują cytokiny prozapalne (IL-1, IL-6 i TNF). Neutrofile indukują dojrzewanie komórek dendrytycznych poprzez interakcję pomiędzy DC-SIGN i Mac-1/CEACAM-1 oraz sekrecję  $\beta$ -defensyn. Mastocyty wydzielają GM-CSF, IL-4 i TNF po rozpoznaniu pasożyta. Plazmacytoidne komórki dendrytyczne wydzielają duże ilości IFN typu 1 w odpowiedzi na cząsteczki wirusowe. Komórki nabłonkowe (w tym keratynocyty) produkują IL-15 i GM-CSF; w chorobach alergicznych skóry keratynocyty produkują grasiczą stromalną limfopoetynę (TSLP). Pod wpływem tych cytokin komórki dendrytyczne dojrzewają, a w zależności od rodzaju bodźca powstają komórki dojrzałe o określonym fenotypie (IFN, TSLP, TNF, IL-10, IFN- $\gamma$ , IL-15), które indukują odrębne rodzaje reakcji limfocytów T. Przykładowo TSLP indukuje odpowiedź komórek typu 2, które produkują TNF i cytokiny typu 2. IL-10 promuje powstawanie limfocytów T regulatorowych produkujących IL-10. IFN- $\gamma$  promuje silną reakcję limfocytów T typu 1 poprzez IL-12. Komórki dendrytyczne indukowane IL-15, które wykazują ekspresję CD207/Langerin i mają wiele cech wspólnych z komórkami Langerhansa są silnymi aktywatorami limfocytów T cytotoksycznych [44].

Komórki dendrytyczne nie tylko są aktywowane przez komórki układu nieswoistej odpowiedzi immunologicznej, lecz również na nie oddziałują. Interakcja komórek dendrytycznych i komórek NK, limfocytów NK i limfocytów T  $\gamma\delta$  może zachodzić w tkankach obwodowych lub wtórnych narządach limfatycznych [44].

### **2.7.3.2. Migracja komórek dendrytycznych**

Migracja komórek dendrytycznych ze skóry jest obok aktywacji ich dojrzewania jednym z pierwszych etapów inicjacji odpowiedzi immunologicznej. Kontakt skóry z antygenem stymuluje produkcję różnych naskórkowych cytokin (IL-6, TNF- $\alpha$ , GM-CSF i CXCL2/CXCL3). Kluczowe w migracji komórek dendrytycznych są IL-1 $\beta$  oraz TNF- $\alpha$ . IL-1 $\beta$  produkowana przez komórki dendrytyczne, aktywuje je autokrynnie oraz stymuluje keratynocyty do produkcji TNF- $\alpha$ , który ułatwia migrację komórek dendrytycznych. Równocześnie aktywowane komórki dendrytyczne produkują enzymy trawiące błonę podstawną naskórka (metaloproteinazy). Metaloproteinazy ułatwiają migrację komórek dendrytycznym w obrębie skóry właściwej, degradując kolagen typu IV. Pod wpływem cytokin zmienia się ekspresja molekuł adhezyjnych na komórkach dendrytycznych, która ułatwia migrację. Najistotniejsza jest redukcja ekspresji E-cadheryny, która pozwala

odłączyć się komórkom Langerhansa od keratynocytów; w dalszej ich drodze biorą udział: CD54 (wewnątrzkomórkowa molekula adhezyjna, ICAM-1), antygen 1 związany z funkcją limfocytów, integryny  $\alpha 6$  i  $\beta 1$  [45].

Migracja komórek dendrytycznych związana jest również z ekspresją receptorów chemokin. Śródmiąższowe komórki dendrytyczne wykazują ekspresję receptorów chemokin, które prowadzą je do miejsca zapalenia. Proces dojrzewania komórek dendrytycznych wiąże się ze spadkiem ekspresji receptorów chemokin naprowadzających na skórę (CCR1, CCR2, CCR5 i CCR6), natomiast zwiększa się ekspresja receptorów prowadzących komórki do regionalnych węzłów chłonnych (CCR4, CXCR4, CCR7). Zarówno naczynia limfatyczne, jak i żyłki produkują CCL21, zasadniczy ligand dla CCR7. Komórki dendrytyczne rezydujące w strefie parakortykalnej węzłów chłonnych produkują CCL19, który również jest ligandem CCR7. Leukotrieny i prostaglandyny powstające w miejscu zapalenia również wpływają na migrację komórek Langerhansa poprzez zwiększenie ekspresji CCR7 [45].

W badaniach na myszach wykazano, że tylko około 30% komórek Langerhansa opuszcza naskórek, bez względu na rodzaj działającego bodźca. Można przypuszczać, że pozostające komórki mają chronić skórę przed ewentualnymi kolejnymi zagrożeniami. Również w badaniach na myszach wykazano, że komórki Langerhansa i skórne komórki dendrytyczne wykazują różnice w migracji. Skórne komórki dendrytyczne migrują szybciej niż komórki Langerhansa [45]. Oba typy komórek lokalizują się w strefie T węzła chłonnego, przy czym skórne komórki dendrytyczne zajmują część bezpośrednio przylegającą do grudek chłonnych, natomiast komórki Langerhansa zajmują środkową część strefy parakortykalnej, bogatą w limfocyty T. Taka lokalizacja odzwierciedla funkcje tych komórek: komórki Langerhansa indukują głównie odpowiedź komórkową, a skórne komórki dendrytyczne głównie odpowiedź humoralną [44, 45]. Strefa parakortykalna stwarza również optymalne warunki dla spotkania obładowanych antygenem komórek dendrytycznych i naiwnych limfocytów T. Ponadto dendrytyczny kształt komórek prezentujących antygen ułatwia kontakt z wieloma komórkami, prowadząc do aktywacji antygenowo swoistych limfocytów T, ulegających proliferacji i generujących komórki efektorowe i komórki pamięci, które poprzez naczynia limfatyczne odprowadzające dostają się do krążenia [45].

### **2.7.3.3. Wpływ komórek dendrytycznych na komórki układu immunologicznego**

Komórki dendrytyczne kierują komórkami układu immunologicznego poprzez szereg chemokin, które są uwalniane przez komórki dendrytyczne krwi w trzech fazach odpowiednio do etapów odpowiedzi immunologicznej. Najwcześniej w ciągu 2-4 godzin produkowane są CXCL1-3 przywołujące komórki NK i CXCL8 przyciągające neutrofile. Komórki te mogą ograniczyć rozprzestrzenianie się infekcji. W drugim etapie odpowiedzi immunologicznej, w ciągu 4-8 godzin, produkowane są CCL3-5 i CXCL9-11 przyciągające odpowiednio efektorowe limfocyty T pamięci i monocyty, które mogą uzupełniać populacje komórek dendrytycznych lub makrofagów. W ostatnim etapie odpowiedzi immunologicznej (powyżej 12 godzin), kiedy dojrzałe komórki dendrytyczne trafiają do drenujących miejsce zapalenia narządów limfatycznych, produkowana jest CXCL13 przyciągająca limfocyty B i T (Tfh) odpowiedzialne za reakcję humoralną, CCL19 i CCL21 przyciągające naiwne limfocyty T oraz CCL22 przyciągająca limfocyty T regulatorowe, które odpowiadają za zakończenie reakcji immunologicznej [44].

### **2.7.3.4. Interakcja komórek dendrytycznych z komórkami układu swoistej odpowiedzi immunologicznej**

Komórki dendrytyczne aktywowane po wychwycie antygeny migrują do drenujących okolicznych narządów limfatycznych [44, 45, 46]. Limfocyty T posiadające receptory (TCR) komplementarne do kompleksu antygen-MHC na powierzchni komórki dendrytycznej ulegają aktywacji. Miejsce interakcji pomiędzy komórką prezentującą antygen a limfocytym T jest nazywane „synapsą immunologiczną” [45].

Najistotniejszym antygenowo-specyficznym sygnałem jest połączenie TCR i kompleksu antygen-MHC. Drugim najsilniejszym kostymulującym sygnałem jest połączenie molekuł kostymulujących komórki dendrytycznych (CD80 lub CD86) z CD28 na powierzchni limfocytów T. Dodatkowe interakcje CD54 i CD102 (ICAM-2) oraz CD252 z ich odpowiednikami na limfocytach T wzmacniają drugi sygnał. Oba te sygnały powodują antygenowo specyficzną aktywację i proliferację dziewiczych limfocytów T oraz powstanie komórek efektorowych i pamięci. Dodatkowy sygnał jest potrzebny dla polaryzacji limfocytów T w kierunku Th1 lub Th2. Limfocyty T typu 1 produkują IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  i TNF- $\beta$ , kluczowe w indukcji odpowiedzi typu komórkowego skierowanej przeciw wewnątrzkomórkowym patogenom. Limfocyty T typu 2 produkują

IL-4, IL-5 i IL-13, regulujące odpowiedź humoralną. Obok limfocytów T typu 1 i 2 mogą powstać mniej spolaryzowane limfocyty T typu 0, które produkują szerokie spektrum cytokin: IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4 i IL-10. Sugeruje się, że podczas pierwszego kontaktu z patogenem większość komórek efektorowych stanowią limfocyty typu 0, a podczas kolejnej ekspozycji na antygen mogą ulegać dalszej polaryzacji w kierunku typu 1 lub 2 [45].

Komórki dendrytyczne odgrywają ważną rolę w polaryzacji limfocytów T. Cytokiny typu 1 produkowane przez komórki dendrytyczne promują odpowiedź typu 1. Najistotniejszą cytokiną z tej grupy jest IL-12, należąca do rodziny IL-12, która obejmuje IL-12, IL-18, IL-23 i IL-27. Niewiele natomiast wiadomo o mediatorach promujących typ 2 odpowiedzi limfocytów T. Sugerowano, że polaryzacja w tym kierunku może być związana z brakiem cytokin typu 1 [45].

Komórki dendrytyczne oddziałują na limfocyty poprzez przynajmniej trzy rodziny molekuł: cytokiny, członków rodziny B7 i TNF.

IL-12 produkowana przez aktywowane komórki dendrytyczne promuje różnicowanie limfocytów T do typu 1. Inne interleukiny z rodziny IL-12 (IL-23 i IL-27) również produkowane przez komórki dendrytyczne w inny sposób regulują odpowiedź immunologiczną. IL-23 promuje różnicowanie limfocytów T w komórki Th17, produkujące IL-17. IL-27 wywiera działanie przeciwzapalne. Aktywowane komórki dendrytyczne produkują również IL-15, która może być zaangażowana w proliferację naiwnych limfocytów T [44].

Cząsteczki z rodziny B7 są kluczowe w regulacji mediowanej przez limfocyty T odporności i tolerancji. Rodzina ta składa się z siedmiu molekuł: CD80(B7-1), CD86(B7-2), indukowanego kostymulatora ligandu (ICOSL), ligandów zaprogramowanej śmierci PD-L1(BL-H1), PD-L2(B7-DC), B7-H3 i B7-H4. Molekuły te występują zarówno na komórkach dendrytycznych, jak i makrofagach. CD80 i CD86, często wykorzystywane jako markery dojrzałości komórek dendrytycznych, przyłączają się do CD28 i antygenu 4 limfocytów T cytotoksycznych (CTLA-4). CD28 dostarcza limfocytom T sygnał do stania się czynnymi komórkami efektorowymi, a CTLA-4 dostarcza sygnały hamujące [44].

ICOSL jest homologiem CD28, który oprócz komórek dendrytycznych występuje również na aktywowanych limfocytach T, limfocytach B, monocytach i makrofagach, jednak najwyższa jego ekspresję wykazują podtypy komórek dendrytycznych wyspecjalizowane w indukcji limfocytów T regulatorowych [44].

PD-L1 i PD-L2 biorą udział w indukcji i utrzymaniu tolerancji poprzez kontrolę anergii limfocytów T w przewlekłych infekcjach wirusowych i prawdopodobnie nowotworach [44].

Rodzina TNF i CD40 występują we wczesnej fazie odpowiedzi immunologicznej jako aktywatory komórek dendrytycznych. CD40 promuje ekspresję CD80 i CD86 przez komórki dendrytyczne, wydzielanie IL-12 oraz ekspresję innych molekuł z rodziny TNF (CD70, 4-1BBL i OX40L). OX40L ukierunkowuje różnicowanie limfocytów T w kierunku Th2 i hamuje sekrecję IL-10 przez limfocyty regulatorowe. CD70 odgrywa kluczową rolę w inicjacji naiwnych limfocytów T CD8+, jak również w różnicowaniu w kierunku limfocytów cytotoksycznych produkujących IFN- $\gamma$  oraz limfocytów T pamięci. Ekspresja 4-1BBL jest również istotna w inicjacji naiwnych limfocytów T CD8+ oraz dla przeżycia limfocytów CD8+ pamięci [44].

Komórki dendrytyczne wykazują również ekspresję molekuł z rodziny TNF związanych z inicjacją i różnicowaniem limfocytów B. BAFF (czynnik aktywujący limfocyty B należący do rodziny TNF) / BLyS (stymulator limfocytów B) ulega nadekspresji na komórkach dendrytycznych w odpowiedzi na IFN typu I i II oraz lipopolisacharydy i łączy się z receptorami limfocytów B takimi, jak: BAFF-R, TACI (przezbłonowy aktywator i modulator wapnia współpracujący z ligandem cyklofiliny), BCMA (antygen dojrzewania limfocytów B). Stymulacja BAFF i związanego z nim ligandu promuje przeżycie limfocytów B oraz ich różnicowanie w kierunku plazmacytów produkujących immunoglobuliny i przełączenie klas [44].

### **2.7.3.5. Utrzymanie tolerancji przez komórki dendrytyczne**

Komórki dendrytyczne odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu centralnej i obwodowej tolerancji. Spośród tymocytów stale powstających w grasicy część reaguje na własne antygeny. Autoreaktywne tymocyty o wysokim powinowactwie są eliminowane poprzez kontakt z własnymi MHC (centralna tolerancja). Udział w tym procesie biorą grasicze komórki nabłonkowe oraz dojrzałe komórki dendrytyczne. Jednak część autoreaktywnych tymocytów unika eliminacji i przedostaje się na obwód, więc konieczne są również obwodowe mechanizmy zapobiegające autoimmunizacji. Ważne połączenie centralnej i obwodowej tolerancji znajduje się w ciałkach Hassala. Komórki dendrytyczne w nich rezydujące stymulowane przez TSLP kierują pozytywną selekcją

autoreaktywnych limfocytów T regulatorowych (CD4+, CD25+). Limfocyty te są kluczowe dla utrzymania tolerancji obwodowej [44].

Obwodowe komórki dendrytyczne również biorą udział w utrzymaniu obwodowej tolerancji [44]. Uważa się, że niedojrzałe komórki dendrytyczne stale prezentują własne antygeny autoreaktywnym limfocytom T i przy braku stymulacji indukują anergię lub eliminację potencjalnie szkodliwych autoreaktywnych limfocytów T [44, 52]. Dojrzałe komórki dendrytyczne także odgrywają rolę w utrzymaniu obwodowej tolerancji poprzez wpływ na limfocyty T regulatorowe. Takie działanie dojrzałych komórek dendrytycznych można tłumaczyć poprzez istnienie komórek dendrytycznych na różnych etapach dojrzałości [44].

Obwodowa tolerancja może być aktywnie utrzymywana poprzez komórki dendrytyczne indukujące tolerancję. Oprócz eliminacji autoreaktywnych limfocytów T, te komórki dendrytyczne indukują różnicowanie i proliferację limfocytów T o funkcji komórek regulatorowych i supresorowych [44, 45].

Nieliczne badania wskazują, że również plazmacytoidne komórki dendrytyczne mogą brać udział w indukcji tolerancji [44].

Przebieg aktywacji komórek dendrytycznych i ich funkcja fizjologiczna nie są w pełni poznane i zagadnienia te wymagają dalszych badań.

#### **2.7.4. Markery immunohistochemiczne komórek dendrytycznych**

Białko S100 nazwę swą zawdzięcza rozpuszczalności w nasyconym (100%) roztworze siarczanu amonu. Po raz pierwszy zostało ono wyizolowane z tkanki ośrodkowego układu nerwowego, obecnie wiadomo, że jest powszechne w tkankach ludzkich włączając glej, neurony, komórki Schwanna, melanocyty, chondrocyty, adipocyty, komórki mioepitelialne oraz różne nabłonki (zwłaszcza piersi, gruczołów ślinowych, potowych i żeńskiego układu rozrodczego), a także komórki fagocytarne i prezentujące antygen, komórki Langerhansa. Komórki Langerhansa wykazują silną ekspresję białka S100, natomiast makrofagi i komórki dendrytyczne cechuje zmienna ekspresja S100. Plazmacytoidne komórki dendrytyczne nie wykazują ekspresji S100 [9]. S100 jest dimerycznym białkiem złożonym z dowolnej kombinacji podjednostek alfa i beta, tworzy więc trzy izoformy: S-100 $\alpha\alpha$  (dimer alfa), S-100 $\alpha\beta$  (izoforma alfa-beta) i S-100 $\beta\beta$  (dimer beta). Zasadniczą funkcją białka S100 jest regulacja przepływu wapnia [59].

CD1 stanowi przezbłonowe białko powierzchniowe komórek wykazujące częściową homologię z białkami zgodności tkankowej (MHC) [43, 51], kodowane na chromosomie 1. Białko to u człowieka posiada 5 podtypów (a-e), z których wszystkie wiążą się niekowalencyjnie z  $\beta$ -2-mikroglobuliną [51]. Wśród tych pięciu podtypów można wyróżnić trzy odrębne grupy białek CD1 na podstawie obecności sekwencji homologicznych, miejsca ekspresji i funkcji. Do grupy pierwszej należą białka CD1a, CD1b i CD1c, białko CD1d tworzy grupę drugą, a trzecią białko CD1e o właściwościach pośrednich pomiędzy grupą pierwszą i drugą [60]. Ekspresję białka CD1a (dawniej OKT6) wykazują komórki dendrytyczne (typowo komórki Langerhansa i skórne komórki dendrytyczne, głównie niedojrzałe [51, 55, 60]. Wykazano zmniejszenie ekspresji CD1a w procesie dojrzewania komórek dendrytycznych [53]. Ponadto ekspresję CD1a wykazują niedojrzałe tymocyty, aktywowane monocyty oraz niektóre limfocyty B. Poprzez białko CD1 ugrupowania glikolipidów, biorące udział w reakcjach immunologicznych są prezentowane limfocytom T  $\alpha/\beta$  lub  $\gamma/\delta$  [43, 48, 61]. Glikolipidy te występują najczęściej na bakteriach, zwłaszcza mykobakteriach, jak również na komórkach niektórych nowotworów [51].

Komórki dendrytyczne wykazują ekspresję różnych cząsteczek powierzchniowych, należących do grupy lektyn typu C np. DEC205/CD205, CD207 (Langerin), DC-SIGN/CD209 (*dendritic cell -specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin*), BDCA-2/CD303 (*blood dendritic cell antigen-2*) [51]. Lektyny typu C rozpoznają i wiążą węglowodanowe struktury stanowiące część patogennych mikroorganizmów [43, 51, 44], jak również pewne glikoproteiny związane z nowotworem, ułatwiające wychwyt antygeny [51]. CD207 (Langerin) stanowi endocytarny receptor lokalizujący się i tworzący ziarnistości Birbecka [45, 47, 58]. Po endocytozie antygeny cząsteczki CD1a wraz z CD207/Langerin migrują do ziarnistości Birbecka, gdzie mogą brać udział w przetwarzaniu antygeny [43]. DC-SIGN/CD209 bierze udział w kontakcie komórek dendrytycznych i limfocytów T, BDCA-2/CD303 bierze udział w wychwycie antygeny i hamowaniu produkcji IFN- $\alpha/\beta$ . Pewne lektyny typu C są obecne selektywnie w różnych podtypach komórek dendrytycznych. Pomimo pewnego stopnia nakładania się ekspresji tych markerów w podtypach komórek dendrytycznych, to ekspresja CD207 (Langerin) jest względnie specyficzna dla komórek Langerhansa [44, 51, 58], głównie niedojrzałych [55]. DC-SIGN/CD209 uznawane jest za marker dermalnych komórek dendrytycznych [44, 51, 58], choć część autorów wykazała, że komórki wykazujące ekspresję tego antygeny mają fenotyp makrofagów

[56]. Ekspresja BDCA-2 cechuje komórki plazmacytoidne [43, 44, 51, 58]. Inne receptory lektyn, jak np. DEC205/CD205 są obecne na różnych typach komórek [44]. Porównawcze zestawienie ekspresji antygenów w podtypach komórek dendrytycznych przedstawia tabela 4.

Tabela 4. Ekspresja antygenów w podtypach komórek dendrytycznych *in vivo* [43, 44, 57, 62].

<b>Antygeny</b>	<b>Naskórkowe komórki Langerhansa</b>	<b>Skórne komórki dendrytyczne</b>	<b>Szpikowe komórki dendrytyczne krwi</b>	<b>Plazmacytoidne komórki dendrytyczne krwi</b>
<b>Lektyny typu C</b>	CD207 (Langerin)	CD206 (receptor mannozy) CD209 (DC-SIGN)*	CD206 (receptor mannozy) CD209 (DC-SIGN)	CD303 (BDCA-2)
<b>Specyficzne markery</b>	CD11c CD1a E-cadheryna	CD11c CD1a/CD14 CD11b CD36 Czynnik XIIIa	CD11c	CD123 ILT7 CD2AP
<b>Toll-like receptors</b>	1,2,3,6,(7),(10)	1,2,3,4,5,6,7,8	1,2,3,4,5,6,(7),8,10	1,6,7,9,10

\*w skórze wykazano, że komórki CD209+ mają fenotyp makrofagów.

Czynnik XIIIa jest czynnikiem krzepnięcia stabilizującym fibrynę, działającym również jako wewnątrzkomórkowa transglutaminaza. Jego ekspresję wykazują makrofagi i komórki dendrytyczne [51].

CD123 jest łańcuchem  $\alpha$  receptora interleukiny 3, występującym typowo na plazmacytoidnych komórkach dendrytycznych [51].

Markerami dojrzałości komórek dendrytycznych są CD208/ DC-LAMP oraz CD83 [56, 58].

CD68 początkowo opisano jako glikoproteinę (110-kD) związaną z lizosomami, której ekspresję wykazywały makrofagi [53, 59]. Ekspresja CD68 jest głównie wewnątrzkomórkowa, w mniejszym stopniu na powierzchni komórek. CD68 może brać udział w przetwarzaniu i/lub prezentacji antygeny. Ekspresję tego antygeny oprócz komórek układu monocytów/makrofagów wykazują również komórki dendrytyczne [53],



w tym plazmacytoidne komórki dendrytyczne oraz skórne komórki dendrytyczne [9]. Według niektórych autorów spośród skórnych komórek dendrytycznych ekspresję CD68 wykazuje tylko ich podtyp odpowiadający fenotypowo makrofagom [56].

Obecnie brak pojedynczego markera identyfikującego wszystkie podtypy komórek dendrytycznych [9], a zwłaszcza markera skórnych komórek dendrytycznych [56].



### 3. CEL PRACY

W opracowaniach dotyczących udziału komórek dendrytycznych w skórnych chorobach limfoproliferacyjnych, wykazano obecność tych komórek w chłoniakach T- i B-komórkowych, jak również w jednostkach typu *pseudolymphoma*, jednakże ich udział w różnych typach chłoniaków jest zmienny. Różna metodologia przeprowadzonych badań, wykorzystanie różnych markerów, najczęściej półilościowa ocena wyników, jak również odmienne rezultaty uzyskane przez różnych badaczy utrudnia wiarygodną ocenę, stąd pomysł na realizację badania na własnym materiale z ilościową oceną komórek dendrytycznych w chłoniakach skórnych. Ponadto biorąc pod uwagę potencjalną rolę komórek dendrytycznych w patogenezie chłoniaków skórnych, podjęto w niniejszej pracy analizę liczebności komórek dendrytycznych w tej grupie chłoniaków. Zasadnicze cele pracy stanowiły:

- 1- Analiza i reklasyfikacja zgodnie z obowiązującymi klasyfikacjami chłoniaków skórnych w materiale archiwalnym Katedry Patomorfologii;
- 2- Ocena liczby komórek dendrytycznych wykazujących ekspresję wybranych antygenów w chłoniakach skórnych i porównanie ich liczby w chłoniakach pierwotnych i wtórnych, B- i T-komórkowych oraz poszczególnych jednostkach chłoniaków.



## **4. MATERIAŁ I METODY**

W badaniach wykorzystano materiał tkankowy, przechowywany w formie kostek parafinowych, zgromadzony w archiwum Katedry Patomorfologii w latach 1992-2010.

Kryterium włączenia do analizy było histologicznie potwierdzone rozpoznanie nacieku chłoniaka w skórze oraz wystarczająca jakość materiału, w tym ilość materiału w kostce parafinowej. Z analizy wyłączono także zmiany z rozpoznaniem niepewnym, które w ponownej ocenie zostały zaklasyfikowane jako zmiany odczynowe lub nadal o niepewnym rozpoznaniu.

Dane kliniczne uzyskano z informacji dostępnych na skierowaniach do badania histologicznego.

Ostatecznie w analizie uwzględniono 118 przypadków chłoniaków zajmujących skórę, zarówno pierwotnych jak i wtórnie zajmujących skórę, zdiagnozowanych w Katedrze Patomorfologii w latach 1992-2010.

### **4.1. Ocena morfologiczna**

W pierwszym etapie pracy oceniano archiwalne preparaty histologiczne barwione rutynowo hematoksyliną i eozyną. Przypadki klasyfikowano jako chłoniaki pierwotne przy braku dowodów na lokalizację pozaskórną. Przypadki klasyfikowano jako chłoniaki wtórne, gdy u pacjenta wcześniej ustalono rozpoznanie chłoniaka systemowego lub gdy takie rozpoznanie postawiono w ciągu sześciu miesięcy po rozpoznaniu chłoniaka skóry; oparto się przy tym na danych dostępnych w bazie rozpoznani histologicznych Katedry Patomorfologii.

We wszystkich przypadkach oceniano następujące cechy morfologiczne:

- 1- lokalizację nacieku: w obrębie skóry właściwej, tkanki podskórnej lub skóry i tkanki podskórnej;
- 2- morfologię nacieku. W ocenie morfologii nacieku wybrano przeważający (powyżej 50% powierzchni nacieku) typ rozmieszczenia komórek. Rozlany wzrost cechował się dużymi litymi płatami gęsto rozmieszczonych komórek, zacierających całkowicie strukturę zajętej skóry. Okołonaczyniowy nacieki lokalizował się głównie wokół naczyń splotu powierzchniowego i/lub głębokiego skóry właściwej i poprzedzielany był obszarami skóry wolnej od nacieku

nowotworowego. Naciek pasmowaty tworzył różnej grubości pas komórek zlokalizowany tuż pod naskórkiem głównie w warstwie brodawkowej i/lub powierzchownie w warstwie siatkowatej skóry właściwej. W nacieku guzkowym dominowały skupienia komórek nowotworowych poprzedzielane obszarami niezmiętej skóry bez wyraźnego związku z naczyniami. Rozproszony naciek tworzyły luźno ułożone komórki pojedynczo lub w drobnych skupieniach z widocznymi pomiędzy nimi zachowanymi strukturami skóry;

- 3- wielkość komórek oceniano w porównaniu do wielkości normalnego spoczynkowego limfocyta, jako małe (wielkości małego limfocyta; około 8µm), średniej wielkości (do dwukrotnej wielkości małego limfocyta; do 16µm) oraz duże (powyżej dwukrotnej wielkości małego limfocyta, powyżej 16µm). Przy obecności różnorodnej pod względem wielkości populacji komórek nowotworowych uwzględniono dwie najczęstsze populacje;
- 4- epidermotropizm oceniano jako obecność komórek nowotworowych w obrębie naskórka;
- 5- obecność owrzodzenia stwierdzano w przypadkach z ubytkiem pełnej grubości naskórka z wysiękiem włóknikowo-ropnym pokrywającym dno owrzodzenia.

## **4.2. Badania immunohistochemiczne**

W przypadkach, w których rozpoznanie było ustalone w oparciu o klasyfikacje starsze niż klasyfikacja WHO-EORTC [1] dla chłoniaków skórnych lub WHO 2008 [9] dla chłoniaków systemowych, wtórnie zajmujących skórę lub wcześniej nie wykonywano odczynów immunohistochemicznych wykonano podstawowy panel reakcji: w pierwszym etapie w kierunku antygenów CD20 i CD3, a następnie dla chłoniaków T-komórkowych (CD3+): CD30, CD4, CD8, a dla chłoniaków B-komórkowych (CD20+): CD10, bcl-6, bcl-2. W niektórych przypadkach wykonano ponadto wybrane reakcje w kierunku obecności antygenów: CD5, cykliny D1, CD23, CD7, ALK 1, CD56 lub granzymu B. Następnie w oparciu o dostępne dane kliniczne, obraz morfologiczny i immunofenotyp ustalono rozpoznanie na podstawie kryteriów zawartych w powyższych klasyfikacjach.

Do badań metodami immunohistochemicznymi wybrano po jednej, reprezentatywnej kostce parafinowej z każdego przypadku. W przypadkach, w których dostępne było kilka kolejnych biopsji skóry wybrano wycinki o największej intensywności nacieku.

Z wybranych kostek parafinowych skrojono skrawki grubości 4  $\mu\text{m}$ , a następnie umieszczone na powlekanych silanizowanych szkiełkach podstawowych Super Frost (Thermo Scientific, Niemcy) zgrzewano w cieplarni w 34st. C przez 12 godz. Preparaty odparafinowano w ksylenie (poprzez 3-krotne umieszczenie na 10 minut w cieplarni w 60 st. C), a następnie odwodniono przeprowadzając przez 3 zmiany alkoholu etylowego o wzrastającym stężeniu (70%, 86% i 96%), każdej trwającej 5 minut. W celu zahamowania aktywności endogennej peroksydazy preparaty umieszczano na 8 min w 3% roztworze  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Odmaskowanie antygenów uzyskano poprzez ogrzewanie w łaźni wodnej w temperaturze 97 st. C przez 30 min. preparatów umieszczonych w buforze cytrynianowym (pH 6.0; 0.01M) lub buforze EDTA (pH 8,0;0,01M). Szczegółowe dane dotyczące rodzaju użytych przeciwciał pierwotnych, czasów inkubacji oraz rozcieńczenia przedstawia tabela 5. Po inkubacji preparaty płukano buforem TBS ( 50 mM Tris-Hcl, 150 mM NaCl, pH 7.6; DAKO Corporation). Do uwidocznienia kompleksu antygen-przeciwciała użyto systemu Ultra Vision LP Value Detection System HRP Polymer (Lab Vision) dla większości przeciwciał lub Ultra Vision LP Large Volume Detection System HRP Polymer (Lab Vision) dla przeciwciał CD3 i bcl-6 z użyciem DAB (3,3'-diaminobenzyny) (DAKO Corporation) jako chromogenu. Jądra komórkowe kontrastowano hematoksyliną Mayera przez 1 minutę, a następnie zamykano preparaty szkiełkami nakrywkowymi w CYTOSEAL XYL (Thermo Scientific, Niemcy).

Tabela 5. Przeciwciała użyte w pracy.

Przeciwciało	Rodzaj	Klon	Producent	Rozcieńczenie	Odmaskowanie	Czas
<b>CD1a</b>	Monoklonalne	MTB1	Novocastra	1:10	Bufor cytrynianowy pH 6.0	noc
<b>S-100</b>	Poliklonalne		DAKO	1:400	Bez odmaskowania	30 min.
<b>CD207 (Langerin)</b>	Monoklonalne	12D6	Novocastra	1:100	Bufor cytrynianowy pH 6.0	60 min.
<b>CD68</b>	Monoklonalne	PG-M1	DAKO	1:50	EDTA, pH=8.0	30 min.
<b>CD20</b>	Monoklonalne	L26	DAKO	1:100	Bufor cytrynianowy pH 6.0	30 min.
<b>CD3</b>	Poliklonalne		Novocastra	1:50	Bufor cytrynianowy pH 6.0	60 min
<b>CD30</b>		HRS4	Lab Vision	1:50	EDTA, pH=8.0	60 min.
<b>CD4</b>	Monoklonalne	4B12	Lab Vision	1:50	Bufor cytrynianowy pH 6.0	60 min.
<b>CD8</b>	Monoklonalne	C8/144B	DAKO	1:100	EDTA, pH=8.0	60 min.
<b>CD7</b>	Monoklonalne	CBG.37	DAKO	1:25	Bufor cytrynianowy pH 6.0	30 min
<b>ALK1</b>	Monoklonalne	ALK1	DAKO	1:25	Bufor cytrynianowy pH 6.0	60 min.
<b>CD56</b>	Monoklonalne	1B6	Novocastra	1:50	EDTA, pH=8.0	30 min.
<b>Granzym B</b>	Monoklonalne	11F1	Novocastra	1:40	Bufor cytrynianowy pH 6.0	60 min.
<b>Bcl-6</b>	Monoklonalne	P1F6+PG- B6p	Lab Vision	1:20	EDTA, pH=8.0	60 min.
<b>Bcl-2</b>	Monoklonalne	bcl- 2/100/D5	Novocastra	1:50	Bufor cytrynianowy pH 6.0	60 min.
<b>CD10</b>	Monoklonalne	56C6	Novocastra	1:50	EDTA, pH=8.0	30 min.
<b>CD23</b>	Monoklonalne	1B12	Novocastra	3:100	EDTA, pH=8.0	60 min.
<b>Cyklina D1</b>	Monoklonalne	SP4	Lab Vision	3:100	EDTA, pH=8.0	60 min.
<b>CD5</b>	Monoklonalne	4C7	Novocastra	1:50	EDTA, pH=8.0	60 min.

Kontrolę pozytywną stanowiły wycinki ze:

skóry bez nacieku chłoniaka - dla CD1a, S100, CD207 (Langerin), CD68.

Kontrolę ujemną stanowiły te same preparaty z pominięciem przeciwciała pierwotnego.

Wybór przeciwciał wykorzystanych w pracy podyktowany był kilkoma względami. Większość nowszych markerów przeznaczona jest do materiału świeżego lub mrożonego, a materiał dostępny w archiwum Katedry Patomorfologii stanowi tkanka utrwalona formalinie, rutynowo przeprowadzona i zatopiona w bloczkach parafinowych. W pracy wykorzystano cztery przeciwciała: S100, CD1a, CD207 (Langerin) i CD68, które są przeznaczone do materiału zatopionego w bloczkach parafinowych i stosowane



w rutynowej diagnostyce histopatologicznej. Ponadto prace prezentujące ekspresję nowszych markerów przedstawiają niejednokrotnie sprzeczne wyniki [56]. Ekspresję poszczególnych antygenów wykorzystanych w pracy przedstawia tabela 6.

Tabela. 6. Ekspresja wykorzystanych w pracy antygenów komórek dendrytycznych i makrofagów [9, 54, 55].

<b>Marker</b>	<b>Komórki Langerhansa</b>	<b>Plazmacytoidne komórki dendrytyczne</b>	<b>Skórne komórki dendrytyczne</b>	<b>Makrofagi</b>
<b>S100</b>	++	-	+/-	+/- *
<b>CD1a</b>	++	-	+/-	-
<b>CD207(Langerin)</b>	++	-	-	-
<b>CD68</b>	+/-	++	+	++

\*większość makrofagów ujemna, dodatnia część histiocytów zatokowych [54]

Ekspresja antygenów oceniana półilościowo: - brak ekspresji, + obecna ekspresja, ++ wysoka ekspresja, +/- ekspresja niska lub zmienna w zależności od stanu komórki.

### 4.3. Ocena odczynów immunohistochemicznych

Komórki wykazujące ekspresję antygenów: CD1a, CD207 (Langerin), białka S-100 i CD68 zliczano wybierając wstępnie pod małym powiększeniem (obiektyw 10x, mikroskop Olympus CX41) obszar z największą liczbą komórek na terenie nacieku nowotworowego, a następnie w wybranych obszarach zliczano komórki wykazujące ekspresję każdego z antygenów pod dużym powiększeniem (obiektyw 40x; średnica pola widzenia 0,55mm) w przeliczeniu na 1mm<sup>2</sup> (w pięciu polach widzenia). W obliczeniach uwzględniano komórki wykazujące ekspresję antygenów z widocznymi jądrami komórkowymi i cytoplazmą.

Wstępną ocenę komórek dendrytycznych w obrębie naskórka wykonywano podobnie, wybierając pod małym powiększeniem obszar z największą liczbą komórek, a następnie w wybranych obszarach naskórka zliczano komórki wykazujące ekspresję każdego z antygenów pod dużym powiększeniem w pięciu polach widzenia (na 2,75mm długości naskórka).

#### 4.4. Analiza statystyczna

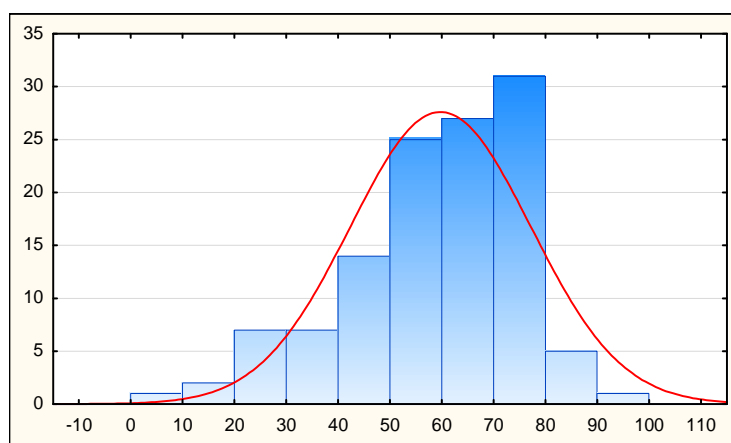
Uzyskane wyniki analizowano używając pakietu statystycznego Statistica 10 (Statsoft Inc USA). Do wykazania związków pomiędzy zmiennymi wykorzystano: współczynniki korelacji Pearsona, Spearmana i gamma. Do oceny istotności różnic pomiędzy liczebnościami grup zastosowano testy  $\chi^2$  i test dokładny Fishera. Porównanie rozkładu empirycznego z rozkładem normalnym wykonano przy użyciu testu Kołmogorowa-Smirnowa. Stosownie do jego wyników do oceny różnic pomiędzy grupami posłużono się testem t-Studenta, jednowymiarową analizą wariancji ANOVA oraz testem najmniejszej istotnej różnicy, a także testem Mann-Whitney, nieparametryczną metodą analizy wariancji ANOVA Kruskall-Wallis, wraz z testem wielokrotnych porównań oraz testem kolejności par Wilcoxon. Jako znamienne przyjęto poziom istotności  $p \leq 0,05$ .

## 5. WYNIKI

### 5.1. Ogólna charakterystyka grupy

Badana grupa obejmowała 118 pacjentów: 57 kobiet (48,3%) i 61 mężczyzn (51,7%), w wieku od 5 do 92 lat (średni wiek: 59,3 lat, mediana 61,5) (wykres 1).

Wykres 1. Rozkład wieku w badanej grupie.



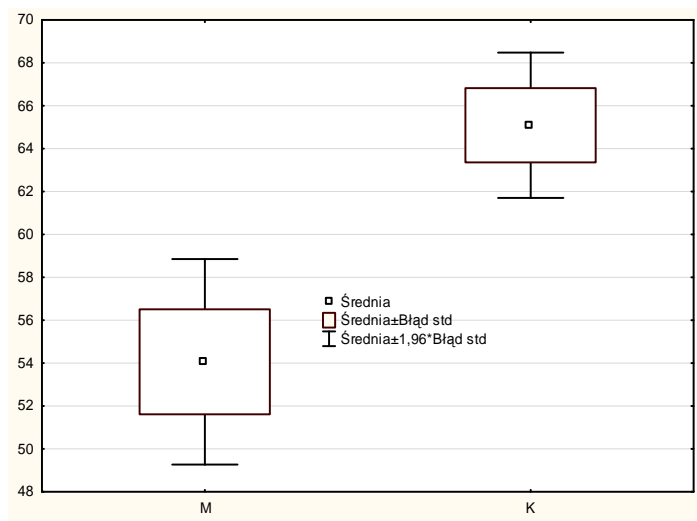
Dane wieku dla płci przedstawia tabela 7 i wykres 2.

Tabela 7. Relacja wieku kobiet i mężczyzn.

Płeć	Średnia wieku (min-max, SD)
M	54,06 (5-84, 19,25)
K	65,09 (22-92, 12,92)

Różnica wieku kobiet i mężczyzn była istotna statystycznie.

Wykres 2. Relacja wieku kobiet i mężczyzn.



Nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy pomiędzy wiekiem pacjentów w chłoniakach pierwotnych i wtórnych, B- i T-komórkowych oraz poszczególnych podtypach histologicznych chłoniaków. W chłoniakach pierwotnych średnia wieku wynosiła 60,24 (22-92), w chłoniakach wtórnych 55,38 (5-84). W chłoniakach T-komórkowych średnia wieku wynosiła 62,05 (14-84), w chłoniakach B-komórkowych 55,61 (5-92).

## 5.2. Reklasyfikacja chłoniaków

W oparciu o klasyfikacje WHO-EORTC [1] oraz WHO 2008 [9] przeprowadzono reklasyfikację chłoniaków w analizowanym materiale. W 28 spośród 118 przypadków zmieniono lub uściślono pierwotne rozpoznanie.

W 10 przypadkach doprecyzowano pierwotne rozpoznanie, w 5 przypadkach dokonano jedynie reklasyfikacji zgodnie z aktualnymi klasyfikacjami. W 4 przypadkach zreklasyfikowano zmiany ze względu na przynależność liniową (T- lub B-komórkowe). W 6 przypadkach dokonano zmiany rozpoznania w obrębie grupy chłoniaków tej samej linii komórkowej (B- lub T-komórkowych) o podobnym przebiegu klinicznym, a w 2 przypadkach chłoniaków T-komórkowych zaklasyfikowano zmiany do grupy o wyższym stopniu agresywności klinicznej, a w 1 przypadku zmianę odczynową zaklasyfikowano jako MF. Uzasadnienie dokonanej reklasyfikacji przedstawiono w dyskusji. Dane przedstawia tabela 8.

Tabela 8. Porównanie rozpoznań pierwotnych i zmienionych po reklasyfikacji w analizowanym materiale.

Rodzaj dokonanej zmiany reklasyfikacyjnej	Rozpoznanie po reklasyfikacji	Rozpoznanie pierwotne	
<b>Doprecyzowanie rozpoznania pierwotnego</b>	Angioimmunoblastyczny chłoniak z komórek T (AILT)	chłoniak nieziarniczny	
	Chłoniak Burkitta (BL)	chłoniak nieziarniczny	
	Pierwotny skórny chłoniak B-komórkowy strefy brzeżnej (C-MALT)	chłoniak nieziarniczny B-komórkowy z grupy o niższym stopniu złośliwości	chłoniak nieziarniczny
		chłoniak nieziarniczny	pierwotny skórny indolentny chłoniak z komórek B
		chłoniak nieziarniczny B-komórkowy	chłoniak nieziarniczny z grupy o większym stopniu złośliwości
	Rozlany chłoniak z dużych komórek B (DLBCL)	chłoniak nieziarniczny	
	Białaczka/ chłoniak limfoblastyczny z komórek T (T-LBL)	chłoniak nieziarniczny T-komórkowy	
	Ziarniniak grzybiasty (MF)	zmiana polekowa lub chłoniak	
<b>Reklasyfikacja zgodnie z obowiązującymi klasyfikacjami</b>	Pierwotny chłoniak grudkowy skóry (C-FL)	<i>small cleaved follicular lymphoma</i>	
		chłoniak nieziarniczny o niższym stopniu złośliwości/ <i>lymphoma centrocyticum/centroblasticum</i>	
	Pierwotny skórny chłoniak B-komórkowy strefy brzeżnej (C-MALT)	plasmocytoma	
		plasmocytoma	
Pozawęzłowy chłoniak B-komórkowy ze strefy brzeżnej typu MALT (MALT)	<i>lymphoma malignum centrocyticum</i>		
<b>Zmiana przynależności liniowej</b>	Pierwotny skórny anaplastyczny chłoniak z dużych komórek (C-ALCL)	chłoniak nieziarniczny B-komórkowy	
	Pierwotny skórny chłoniak B-komórkowy strefy brzeżnej (C-MALT)	pierwotny skórny T-komórkowy chłoniak nieziarniczny	
		LyP podejrzenie	
Rozlany chłoniak z dużych komórek B (DLBCL)	chłoniak nieziarniczny z grupy o większej złośliwości, prawdopodobnie T-komórkowy		
<b>Zmiana w obrębie grupy tej samej linii komórkowej o zbliżonym przebiegu klinicznym</b>	Pierwotny skórny anaplastyczny chłoniak z dużych komórek (C-ALCL)	LyP	
		LyP A	
		LyP	
	Pierwotny skórny chłoniak B-komórkowy strefy brzeżnej (C-MALT)	C-FL	
	Pierwotny skórny chłoniak z limfocytów T $\gamma\delta$	<i>Extranodal NK/T cell lymphoma, nasal type</i>	
Pierwotny skórny chłoniak z limfocytów T $\gamma\delta$	PTCL-U		
<b>Zmiana w obrębie grupy tej samej linii komórkowej z podwyższeniem stopnia złośliwości</b>	Pierwotny skórny agresywny epidermotropowy chłoniak z limfocytów T cytotoksycznych CD8+	MF	
	Pierwotny skórny chłoniak z limfocytów T $\gamma\delta$	MF	
<b>Zmiana kategorii</b>	Ziarniniak grzybiasty (MF)	odczyn	

### 5.3. Charakterystyka typów chłoniaków

W analizowanym materiale pierwotne chłoniaki skórne stanowiły 95 przypadków (80,5% wszystkich chłoniaków), chłoniaki wtórne 23 przypadki (19,5%). Wśród chłoniaków pierwotnych przeważały chłoniaki T-komórkowe (59 przypadków, 62,1% pierwotnych chłoniaków). Dane przedstawia tabela 9.

Tabela 9. Charakterystyka typów chłoniaków.

Chłoniaki Liczba (% wszystkich chłoniaków)	Linia komórkowa Liczba (% wszystkich chłoniaków)	Jednostka	Liczba (% wszystkich chłoniaków)		
<b>Chłoniaki pierwotne 95 (80,5%)</b>	T-komórkowe 59 (50%)	Ziarniniak grzybiasty (MF)	32 (27,1%)		
		Pierwotny skórny anaplastyczny chłoniak z dużych komórek (C-ALCL)	13 (11,0%)		
		<i>Lymphomatoid papulosis</i> (LyP)	6 (5,1%)		
		Pierwotny skórny chłoniak z limfocytów T $\gamma\delta$	3 (2,5%)		
		Zespół Sezary'ego (SS)	2 (1,7%)		
		Pierwotny skórny agresywny epidermotropowy chłoniak z limfocytów T cytotoksycznych CD8+	2 (1,7%)		
		Białaczka/ chłoniak T-komórkowy dorosłych (ATLL)	1 (0,8%)		
	B-komórkowe 36 (30,5%)	Pierwotny skórny chłoniak B-komórkowy strefy brzeżnej (C-MALT)	16 (13,6%)		
		Pierwotny chłoniak grudkowy skóry (C-FL)	11 (9,3%)		
		Pierwotnie skórny rozlany chłoniak z dużych komórek B, typu kończyny dolnej (C-DLBCL)	7 (5,9%)		
		<i>Lymphomatoid granulomatosis</i>	2 (1,7%)		
		<b>Chłoniaki wtórne 23 (19,5%)</b>	B-komórkowe 14 (11,9%)	Rozlany chłoniak z dużych komórek B (DLBCL)	5 (4,2%)
				Pozawęzłowy chłoniak B-komórkowy ze strefy brzeżnej typu MALT (MALT)	3 (2,5%)
				Białaczka/ chłoniak limfoblastyczny z komórek B (B-LBL)	2 (1,7%)
Chłoniak Hodgkina (HL)	2 (1,7%)				
Chłoniak z komórek strefy płaszcz (MCL)	1 (0,8%)				
Chłoniak Burkitta (BL)	1 (0,8%)				
T-komórkowe 9 (7,6%)	Obwodowy chłoniak T-komórkowy, niescharakteryzowany w inny sposób (PTCL, NOS)		5 (4,2%)		
	Białaczka/ chłoniak limfoblastyczny z komórek T (T-LBL)	3 (2,5%)			
	Angioimmunoblastyczny chłoniak z komórek T (AILT)	1 (0,8%)			

Najliczniejszą grupę pierwotnych chłoniaków T-komórkowych stanowił ziarniniak grzybiasty (*mycosis fungoides*) (32 przypadki, 33,7% pierwotnych

chłoniaków). Pierwotne chłoniaki B-komórkowe stanowiły 37,9% pierwotnych chłoniaków (36 przypadków), wśród nich najliczniejszą grupę stanowił pierwotny skórny chłoniak strefy brzeżnej (*primary cutaneous marginal-zone B-cell lymphoma*) (16 przypadków, 16,8% pierwotnych chłoniaków). Wśród chłoniaków wtórnych przeważały chłoniaki B-komórkowe (14 przypadków, 11,9% wszystkich chłoniaków). Najliczniejszą grupę wtórnych chłoniaków B-komórkowych stanowił rozlany chłoniak z dużych komórek B (*diffuse large B-cell lymphoma*) (5 przypadków, 4,2% wszystkich chłoniaków). Spośród wtórnych chłoniaków T-komórkowych (9 przypadków, 7,6% wszystkich chłoniaków) najliczniejszą grupę stanowił obwodowy chłoniak T-komórkowy, niescharakteryzowany w inny sposób (PTCL, NOS ; *peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified*) (5 przypadków, 4,2% wszystkich chłoniaków).

Obraz histologiczny wybranych jednostek przedstawiają ryciny 1-12 (strony 97-98).

## **5.4. Lokalizacja i obraz makroskopowy zmian**

Dane dotyczące lokalizacji zmian skórnych były dostępne w 78 przypadkach, liczby zmian w 31 przypadkach, obrazu makroskopowego zmian w 52 przypadkach.

### **5.4.1. Lokalizacja zmian**

Najwięcej zmian zlokalizowanych było w obrębie kończyn (36 przypadków), następnie na skórze tułowia (26 przypadków) i głowy (25 przypadków).

Zmiany w chłoniakach pierwotnych były zlokalizowane na skórze kończyn w 25 przypadkach, tułowia w 21 przypadkach i głowy w 20 przypadkach, natomiast chłoniaki wtórne lokalizowały się w 6 przypadkach na tułowiu, 5 przypadkach na kończynach i w 1 przypadku na głowie. Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy pomiędzy lokalizacją zmian w chłoniakach pierwotnych i wtórnych.

Zmiany w chłoniakach T-komórkowych lokalizowały się na skórze kończyn w 19 przypadkach, tułowia w 13 przypadkach i głowy w 6 przypadkach, natomiast w chłoniakach B-komórkowych w 15 przypadkach na skórze głowy, tułowia w 14 przypadkach i kończyn w 11 przypadkach. Wykazano różnice pomiędzy lokalizacją w chłoniakach B- i T-komórkowych (w teście  $\chi^2$   $p < 0.047$ ).

Dokładne dane lokalizacji zmian w poszczególnych typach histologicznych chłoniaków przedstawia tabela 10.

Tabela 10. Lokalizacja zmian w poszczególnych jednostkach.

Jednostka	Lokalizacja zmian		
	głowa i szyja	tułów	kończyny
Ziarniniak grzybiasty (MF)	4	6	<b>13</b>
Pierwotny skórny anaplastyczny chłoniak z dużych komórek (C-ALCL)	1	2	<b>6</b>
<i>Lymphomatoid papulosis</i> (LyP)		1	<b>4</b>
Zespół Sezary'ego (SS)		1	
Pierwotny skórny chłoniak z limfocytów T $\gamma\delta$	1		
Białaczka/ chłoniak T-komórkowy dorosłych (ATLL)		1	1
Pierwotny skórny chłoniak B-komórkowy strefy brzeżnej (C-MALT)	5	<b>8</b>	3
Pierwotny chłoniak grudkowy skóry (C-FL)	<b>9</b>		
Pierwotnie skórny rozlany chłoniak z dużych komórek B, typu kończyny dolnej (C-DLBCL)	2	1	<b>4</b>
<i>Lymphomatoid granulomatosis</i>	1		1
Rozlany chłoniak z dużych komórek B (DLBCL)	1	<b>2</b>	1
Pozawęzłowy chłoniak B-komórkowy ze strefy brzeżnej typu MALT (MALT)		1	
Białaczka/ chłoniak limfoblastyczny z komórek B (B-LBL)		1	
Chłoniak Hodgkina (HL)		1	1
Chłoniak z komórek strefy płaszczka (MCL)	1		1
Obwodowy chłoniak T-komórkowy, niescharakteryzowany w inny sposób (PTCL, NOS)			1
Angioimmunoblastyczny chłoniak z komórek T (AILT)		1	
SUMA	25	26	36

Pogrubioną czcionką zaznaczono najczęstszą lokalizację dla poszczególnych typów chłoniaków.

Wykazano różnice pomiędzy lokalizacją w zależności od typu histologicznego chłoniaka (w teście  $\chi^2$   $p=0,049$ ).

#### 5.4.2. Liczba zmian

W chłoniakach pierwotnych zmiany pojedyncze i mnogie występowały ze zbliżoną częstością (w 13 przypadkach zmiany mnogie, w 12 zmiany pojedyncze), natomiast w chłoniakach wtórnych dane dotyczące liczby zmian dostępne były tylko w dwóch przypadkach (zmiany mnogie).

W chłoniakach T-komórkowych częściej występowały zmiany mnogie (8 przypadków) niż pojedyncze (2 przypadki), natomiast w chłoniakach B-komórkowych



zmiany pojedyncze obserwowano częściej (10 przypadków) niż mnogie (6 przypadków). Różnice te są istotne statystycznie.

Dostępne dane dotyczące liczby zmian w poszczególnych typach histologicznych chłoniaków przedstawia tabela 11.

Tabela 11. Liczba zmian w poszczególnych jednostkach chłoniaków.

Jednostka	Liczba zmian	
	pojedyncze	mnogie
Ziarniniak grzybiasty (MF)	1	5
Pierwotny skórny anaplastyczny chłoniak z dużych komórek (C-ALCL)	1	1
<i>Lymphomatoid papulosis</i> (LyP)		1
Pierwotny skórny chłoniak z limfocytów T $\gamma\delta$		1
Białaczka/ chłoniak T-komórkowy dorosłych (ATLL)		1
Pierwotny skórny chłoniak B-komórkowy strefy brzeżnej (C-MALT)	4	3
Pierwotny chłoniak grudkowy skóry (C-FL)	4	2
Pierwotnie skórny rozlany chłoniak z dużych komórek B, typu kończyny dolnej (C-DLBCL)	1	1
<i>Lymphomatoid granulomatosis</i>		2
Chłoniak z komórek strefy płaszczka (MCL)		1
Obwodowy chłoniak T-komórkowy, niescharakteryzowany w inny sposób (PTCL, NOS)		1

Nie wykazano istotnego statystycznie związku liczby zmian z typem histologicznym chłoniaków.

### 5.4.3. Obraz makroskopowy zmian

Większość chłoniaków klinicznie manifestowała się jako guzy (37 przypadków; w 32 przypadkach chłoniaków pierwotnych i 5 wtórnych). Nie wykazano statystycznie istotnych różnic pomiędzy morfologią zmian w chłoniakach pierwotnych i wtórnych. Pozostałe zmiany miały charakter rumieniowo-naciekowy, rumieniowy, naciekowy, rumieniowo-grudkowy, grudkowy, naciekowo-guzkowy, grudkowo-krostkowy bądź złuszcający.

Podobnie chłoniaki zarówno T- jak i B-komórkowe manifestowały się najczęściej klinicznie jako guzy. Dane przedstawia tabela 12.

Tabela 12. Morfologia zmian w chłoniakach T- i B-komórkowych.

Chłoniaki	Morfologia zmian								
	Liczba przypadków (% ogółu)								
	guz	rumieniowo-grudkowe	naciekowo-guzkowe	rumieniowe	naciekowe	grudkowe	rumieniowo-naciekowe	grudkowo-krostkowe	złuszczone
<b>T</b>	<b>10</b> (19,23)	1 (1,92)	0	2 (3,85)	1 (1,92)	0	5 (9,62)	1 (1,92)	1 (1,92)
<b>B</b>	<b>27</b> (51,92)	0	1 (1,92)	0	1 (1,92)	1 (1,92)	1 (1,92)	0	0

Pogrubioną czcionką zaznaczono najczęstszy obraz makroskopowy zmian dla chłoniaków T- i B-komórkowych.

Różnice pomiędzy morfologią zmian w chłoniakach T- i B-komórkowych (testy:  $\chi^2$ ) były statystycznie istotne.

W MF najczęściej stwierdzono zmiany rumieniowo-naciekowe (4 przypadki), w dwóch przypadkach guzy oraz po jednym przypadku zmian rumieniowej, naciekowej oraz złuszczonej. Zmiany w C-ALCL miały charakter guzów (5 przypadków), w LyP w 1 przypadku stwierdzono guz, a w 1 przypadku zmianę grudkowo-krostkową. W pierwotnym skórnym chłoniaku z limfocytów T  $\gamma\delta$  w 3 przypadkach stwierdzono guzy. W 1 przypadku SS zmiany miały charakter rumieniowo-naciekowy. W 1 przypadku ATLL zmiany miały charakter rumieniowy. W większości C-MALT zmiany miały charakter guzów (10 przypadków), w 1 przypadku stwierdzono zmianę naciekowo-guzkową. Zmiany o charakterze guzów dominowały również w C-FL (6 przypadków), pozostałe zmiany miały charakter naciekowy (1 przypadek), grudkowy (1 przypadek) oraz rumieniowo-naciekowy (1 przypadek). W pozostałych chłoniakach B-komórkowych zmiany miały charakter guzów: C-DLBCL (5 przypadków), *lymphomatoid granulomatosis* (1 przypadek), DLBCL (1 przypadek), MALT (1 przypadek), chłoniak Hodgkina (1 przypadek) i MCL (1 przypadek). W 1 przypadku PTCL, NOS zmiany miały charakter rumieniowo-grudkowy. Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy pomiędzy morfologią zmian w poszczególnych jednostkach.

## 5.5. Obraz histologiczny

### 5.5.1. Lokalizacja nacieku

Histologicznie nacieki w większości przypadków zlokalizowany był w obrębie skóry właściwej (89 przypadków, 75,42% wszystkich chłoniaków); w 24 przypadkach (20,34% wszystkich chłoniaków) w obrębie skóry właściwej i tkanki podskórnej, w 5 przypadkach (4,24% wszystkich chłoniaków) w tkance podskórnej.

Nacieki w obrębie skóry właściwej w chłoniakach pierwotnych i wtórnych obserwowano w odpowiednio 71 przypadkach (60,17% wszystkich chłoniaków) i 18 przypadkach (15,25% wszystkich chłoniaków); w obrębie skóry właściwej i tkanki podskórnej odpowiednio w 19 (16,1% wszystkich chłoniaków) i 5 przypadkach (4,24%) oraz w obrębie tkanki podskórnej odpowiednio w 4 (3,39% wszystkich chłoniaków) i 1 przypadku (0,85% wszystkich chłoniaków). Nie wykazano statystycznie istotnych różnic pomiędzy lokalizacją nacieku w chłoniakach pierwotnych i wtórnych.

Podobny rozkład obserwowano w chłoniakach T-i B-komórkowych, w większości przypadków nacieki były zlokalizowane w skórze właściwej odpowiednio w 60 przypadkach (50,85% wszystkich chłoniaków) i 29 przypadkach (24,58%), w skórze właściwej i tkance podskórnej w odpowiednio 6 przypadkach (5,08% wszystkich chłoniaków) i 18 przypadkach (15,25% wszystkich chłoniaków) oraz w tkance podskórnej odpowiednio w 0 przypadkach i 5 przypadkach (4,24% wszystkich chłoniaków). Wykazano statystycznie istotne różnice pomiędzy lokalizacją nacieku w chłoniakach T- i B-komórkowych (testy  $\chi^2$ ).

Lokalizację zmian w poszczególnych typach chłoniaków przedstawia tabela 13.

Tabela 13. Lokalizacja nacieku w podtypach histologicznych chłoniaków.

Jednostka	Lokalizacja nacieku Liczba przypadków (%wszystkich chłoniaków)		
	skóra	tkanka podskórna	skóra i tkanka podskórna
Ziarniniak grzybiasty (MF)	<b>31 (26,3)</b>	0	0
Pierwotny skórny anaplastyczny chłoniak z dużych komórek (C-ALCL)	<b>9 (7,63)</b>	0	4 (3,39)
<i>Lymphomatoid papulosis</i> (LyP)	<b>6 (5,08)</b>	0	0
Pierwotny skórny chłoniak z limfocytów T $\gamma\delta$	<b>2 (1,69)</b>	0	1 (0,85)
Zespół Sezary'ego (SS)	<b>3 (2,54)</b>	0	0
Pierwotny skórny agresywny epidermotropowy chłoniak z limfocytów T cytotoksycznych CD8+	1 (0,85)	0	1 (0,85)
Białaczka/ chłoniak T-komórkowy dorosłych (ATLL)	1 (0,85)	0	0
Pierwotny skórny chłoniak B-komórkowy strefy brzeżnej (C-MALT)	<b>10 (8,47)</b>	1 (0,85)	5 (4,24)
Pierwotny chłoniak grudkowy skóry (C-FL)	<b>5 (4,24)</b>	2 (1,69)	4 (3,39)
Pierwotnie skórny rozlany chłoniak z dużych komórek B, typu kończyny dolnej (C-DLBCL)	2 (1,69)	1 (0,85)	<b>4 (3,39)</b>
<i>Lymphomatoid granulomatosis</i>	<b>2 (1,69)</b>	0	0
Rozlany chłoniak z dużych komórek B (DLBCL)	<b>4 (3,39)</b>	0	1 (0,85)
Pozawęzłowy chłoniak B-komórkowy ze strefy brzeżnej typu MALT (MALT)	1 (0,85)	0	<b>2 (1,69)</b>
Białaczka/ chłoniak limfoblastyczny z komórek B (B-LBL)	1 (0,85)	0	1 (0,85)
Chłoniak Hodgkina (HL)	1 (0,85)	0	1 (0,85)
Chłoniak z komórek strefy płaszczka (MCL)	0	<b>1 (0,85)</b>	0
Chłoniak Burkitta (BL)	<b>1 (0,85)</b>	0	0
Obwodowy chłoniak T-komórkowy, niescharakteryzowany w inny sposób (PTCL, NOS)	<b>5 (4,24)</b>	0	0
Białaczka/ chłoniak limfoblastyczny z komórek T (T-LBL)	<b>3 (2,54)</b>	0	0
Angioimmunoblastyczny chłoniak z komórek T (AILT)	<b>1 (0,85)</b>	0	0

Pogrubioną czcionką oznaczono najczęstszą lokalizację dla poszczególnych jednostek.

Wykazano statystycznie istotny związek lokalizacji nacieku z typem histologicznym chłoniaka (testy  $\chi^2$ ).

### 5.5.2. Morfologia nacieku

W badanej grupie dominował rozlany naciek (71 przypadków, 60,17% wszystkich chłoniaków), w 23 przypadkach (19,83% wszystkich chłoniaków) obserwowano pasmowaty naciek, okołonaczyniowy w 19 przypadkach (16,38% wszystkich

chłoniaków), guzkowy w 4 przypadkach (3,45% wszystkich chłoniaków) i rozproszony w 1 przypadku (0,86% wszystkich chłoniaków). Dane dla chłoniaków pierwotnych i wtórnych przedstawia tabela 14.

Tabela 14. Morfologia nacieku w chłoniakach pierwotnych i wtórnych.

Chłoniaki	Morfologia nacieku				
	Liczba (% wszystkich chłoniaków)				
	rozlany	okołonaczyniowy	pasmowaty	guzkowy	rozproszony
<b>pierwotny</b>	<b>57 (48,31)</b>	10 (8,47)	23 (19,49)	3 (2,54)	1 (0,85)
<b>wtórny</b>	<b>14 (11,86)</b>	9 (7,63)	0	1 (0,85)	0
<b>Sumarycznie</b>	71 (60,17)	19 (16,1)	23 (19,49)	4 (3,39)	1 (0,85)

Pogrubioną czcionką oznaczono dominującą morfologię nacieku.

Wykazano statystycznie istotny związek morfologii nacieku w chłoniakach pierwotnych i wtórnych (testy  $\chi^2$ ).

Dane dla chłoniaków B- i T-komórkowych przedstawia tabela 15.

Tabela 15. Morfologia nacieku w chłoniakach T- i B-komórkowych.

Chłoniaki	Morfologia nacieku				
	Liczba (% ogółu)				
	rozlany	okołonaczyniowy	pasmowaty	guzkowy	rozproszony
<b>T-komórkowe</b>	<b>25 (21,19)</b>	16 (13,56)	22 (18,64)	2 (1,69)	1 (0,85)
<b>B-komórkowe</b>	<b>46 (38,98)</b>	3 (2,54)	1 (0,85)	2 (1,69)	0

Pogrubioną czcionką oznaczono dominującą morfologię nacieku.

Wykazano statystycznie istotny związek morfologii nacieku w chłoniakach T- i B-komórkowych (testy  $\chi^2$ ).

Dane dla poszczególnych typów histologicznych chłoniaków przedstawia tabela 16.

Tabela 16. Morfologia nacieku w poszczególnych typach chłoniaków.

Jednostka	Morfologia nacieku				
	Liczba (% ogółu)				
	rozlany	okołonaczyniowy	pasmowaty	guzkowy	rozproszony
MF	8 (6,78)	3 (2,54)	<b>19 (16,1)</b>		1 (0,85)
C-ALCL	<b>9 (7,63)</b>	2 (1,69)	1 (0,85)	1 (0,85)	
LyP	<b>3 (2,54)</b>		2 (1,69)	1 (0,85)	
Pierwotny skórny chłoniak z limfocytów T $\gamma\delta$	<b>3 (2,54)</b>				
SS		<b>2 (1,69)</b>	1 (0,85)		
Pierwotny skórny agresywny epidermotropowy chłoniak z limfocytów T cytotoksycznych CD8+	<b>2 (1,69)</b>				
ATLL		<b>1 (0,85)</b>			
C-MALT	<b>15 (12,71)</b>			1 (0,85)	
C-FL	<b>11 (9,32)</b>				
C-DLBCL	<b>6 (5,08)</b>	1 (0,85)			
<i>Lymphomatoid granulomatosis</i>	1 (0,85)	1 (0,85)			
DLBCL	<b>4 (3,39)</b>			1 (0,85)	
MALT	<b>2 (1,69)</b>	1 (0,85)			
B-LBL	<b>2 (1,69)</b>				
HL	<b>2 (1,69)</b>				
MCL	<b>1 (0,85)</b>				
BL	<b>1 (0,85)</b>				
PTCL, NOS		<b>5 (4,24)</b>			
LBL-T		<b>3 (2,54)</b>			
AILT	<b>1 (0,85)</b>				

Pogrubioną czcionką oznaczono dominującą morfologię nacieku.

Wykazano statystycznie istotny związek morfologii nacieku w poszczególnych typach chłoniaków (testy  $\chi^2$ ).

### 5.5.3. Wielkość komórek

W ocenie morfologii uwzględniono wielkość komórek. Nie wykazano istotnego statystycznie związku wielkości komórek w chłoniakach pierwotnych i wtórnych oraz B- i T-komórkowych. Dane dla poszczególnych jednostek przedstawia tabela 17.

Tabela 17. Wielkość komórek w poszczególnych jednostkach chłoniaków.

Chłoniaki	Wielkość komórek Liczba przypadków (% wszystkich chłoniaków)					
	duże	małe/średnie	średnie	małe	średnie/duże	małe/duże
MF		10 (8,47)	5 (4,24)	<b>12 (10,17)</b>	3 (2,54)	1 (0,85)
C-ALCL	<b>12 (10,17)</b>				1 (0,85)	
LyP	<b>4 (3,39)</b>	1 (0,85)				1 (0,85)
Pierwotny skórny chłoniak z limfocytów T $\gamma\delta$	1 (0,85)	1 (0,85)			1 (0,85)	
SS			1 (0,85)	<b>2 (1,69)</b>		
Pierwotny skórny agresywny epidermotropowy chłoniak z limfocytów T cytotoksycznych CD8+		1 (0,85)	1 (0,85)			
ATLL	1 (0,85)					
C-MALT		<b>11 (9,32)</b>		5 (4,24)		
C-FL	1 (0,85)	<b>6 (5,08)</b>			4 (3,39)	
C-DLBCL	<b>7 (5,93)</b>					
<i>Lymphomatoid granulomatosis</i>	2 (1,69)					
DLBCL	<b>4 (3,39)</b>		1 (0,85)			
MALT		1 (0,85)		<b>2 (1,69)</b>		
B-LBL			<b>2 (1,69)</b>			
HL	<b>2 (1,69)</b>					
MCL				<b>1 (0,85)</b>		
BL					<b>1 (0,85)</b>	
PTCL, NOS	<b>3 (2,54)</b>	1 (0,85)			1 (0,85)	
LBL-T		1 (0,85)	1 (0,85)		1 (0,85)	
AILT			1 (0,85)			

Pogrubioną czcionką oznaczono dominującą wielkość komórki dla poszczególnych typów chłoniaków.

Wykazano statystycznie istotny związek wielkości komórek w poszczególnych typach histologicznych chłoniaków (test  $\chi^2$ ).

#### 5.5.4. Epidermotropizm

Epidermotropizm obserwowano w 43 przypadkach. Cecha ta częściej występowała w chłoniakach pierwotnych- 41 przypadków (35,34% wszystkich chłoniaków), w porównaniu do chłoniaków wtórnych -2 przypadki (1,72% wszystkich chłoniaków). Wykazano statystycznie istotny związek obecności epidermotropizmu w chłoniakach pierwotnych i wtórnych (testy:  $\chi^2$ , dokładny Fishera).

Epidermotropizm wykazywały głównie chłoniaki T-komórkowe. Epidermotropizm stwierdzono w 42 chłoniakach T-komórkowych (36,19% wszystkich chłoniaków), w porównaniu do jedynie jednego chłoniaka B-komórkowego (0,85% wszystkich chłoniaków). Wykazano statystycznie istotny związek obecności epidermotropizmu w chłoniakach T- i B-komórkowych (testy:  $\chi^2$ , dokładny Fishera).

Spośród poszczególnych jednostek epidermotropizm wykazywał głównie ziarniniak grzybiasty (30 przypadków). Ponadto epidermotropizm stwierdzono w 3 przypadkach SS, 2 przypadkach LyP, 2 przypadkach pierwotnego skórno chłoniaka z limfocytów T  $\gamma\delta$ , 2 przypadkach pierwotnego skórno agresywnego epidermotropowego chłoniaka z limfocytów T cytotoksycznych CD8+ oraz w 1 przypadku C-ALCL, ATLL, MALT oraz PTCL, NOS. Wykazano statystycznie istotny związek obecności epidermotropizmu w poszczególnych typach chłoniaków (testy:  $\chi^2$ ).

### **5.5.5. Owrzodzenie**

Obecność owrzodzenia stwierdzono w 8 przypadkach chłoniaków pierwotnych (6,78% wszystkich chłoniaków) i w 1 przypadku chłoniaków wtórnych (0,85% wszystkich chłoniaków). Różnice te nie były statystycznie istotne.

Obecność owrzodzenia stwierdzono w 5 przypadkach chłoniaków T-komórkowych (4,24% wszystkich chłoniaków) i w 4 przypadkach chłoniaków B-komórkowych (3,39% wszystkich chłoniaków). Różnice te nie były statystycznie istotne.

Obecność owrzodzenia stwierdzono w 3 przypadkach C-ALCL, 2 przypadkach C-DLBCL oraz w 1 przypadku MF, LyP, lymphomatoid granulomatosis i chłoniaku Hodgkina. Nie wykazano statystycznie istotnego związku obecności owrzodzenia w poszczególnych typach histologicznych chłoniaków.



## 5.6. Liczba komórek dendrytycznych

### 5.6.1. Liczba komórek dendrytycznych na terenie nacieku nowotworowego

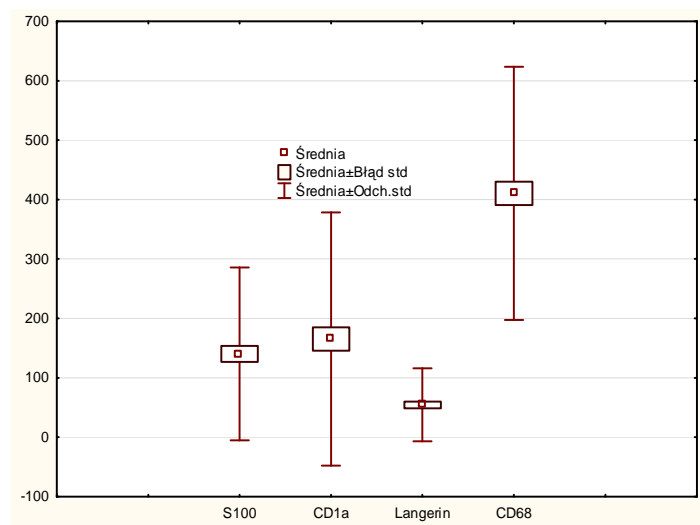
Porównanie liczby komórek dendrytycznych /1mm<sup>2</sup> na terenie nacieku nowotworowego wykazujących ekspresję poszczególnych antygenów przedstawia tabela 18 i wykres 3.

Tabela 18. Liczba komórek wykazujących ekspresję antygenów S100, CD1a, CD207 (Langerin) i CD68 na terenie nacieku nowotworowego.

Antygen	Średnia liczba komórek (zakres)
<b>S100</b>	140,32 (0-740)
<b>CD1a</b>	165, 31 (0-1400)
<b>CD207 (Langerin)</b>	54,16 (0-240)
<b>CD68</b>	410,41 (3-1300)

Wykazano statystycznie istotne różnice ( $p < 0,001$ ) w liczebności komórek wykazujących ekspresję poszczególnych antygenów (S100, CD1a, CD207 (Langerin) i CD68) na terenie nacieku nowotworowego. Nie stwierdzono jedynie istotnie statystycznej różnicy pomiędzy liczbą komórek wykazujących ekspresję S100 i CD1a. Najniższa była średnia liczba komórek wykazujących ekspresję antygeny CD207 (Langerin), porównywalne średnie liczby komórek wykazujących ekspresję antygenów S100 i CD1a, natomiast najwyższa była średnia liczba komórek wykazujących ekspresję antygeny CD68.

Wykres 3. Liczba komórek wykazujących ekspresję antygenów S100, CD1a, CD207 (Langerin) i CD68 na terenie nacieku nowotworowego



### 5.6.2. Liczba komórek dendrytycznych w obrębie naskórka

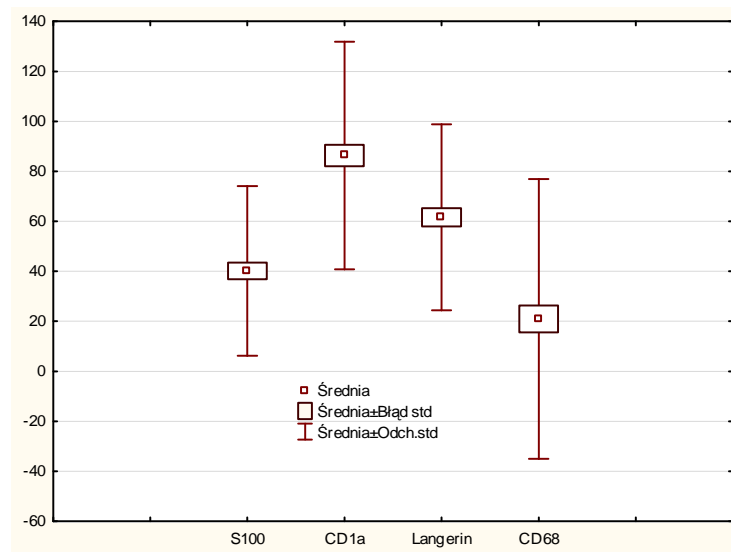
Porównanie liczby komórek dendrytycznych /2,75mm długości naskórka wykazujących ekspresję poszczególnych antygenów przedstawia tabela 19 i wykres 4.

Tabela 19. Liczba komórek wykazujących ekspresję antygenów S100, CD1a, CD207 (Langerin) i CD68 w obrębie naskórka.

Antygen	Średnia liczba komórek (zakres)
<b>S100</b>	40,16 (0-210)
<b>CD1a</b>	86,34 (5-247)
<b>CD207 (Langerin)</b>	61,61 (3-165)
<b>CD68</b>	20,95 (0-560)

Wykazano statystycznie istotne różnice ( $p < 0,001$ ) w liczebności komórek wykazujących ekspresję poszczególnych antygenów (S100, CD1a, CD207 (Langerin) i CD68) w obrębie naskórka. Najniższa była średnia liczba komórek wykazujących ekspresję antygenu CD68, natomiast najwyższa była średnia liczba komórek wykazujących ekspresję antygenu CD1a.

Wykres 4. Liczba komórek wykazujących ekspresję antygenów S100, CD1a, CD207 (Langerin) i CD68 w obrębie naskórka.



## 5.7. Liczba komórek dendrytycznych w chłoniakach pierwotnych i wtórnych

Porównanie liczby komórek dendrytycznych/ $1\text{mm}^2$  w chłoniakach pierwotnych i wtórnych na terenie nacieku nowotworowego przedstawia tabela 20.

Tabela 20. Porównanie liczby komórek dendrytycznych/ $1\text{mm}^2$  w chłoniakach pierwotnych i wtórnych na terenie nacieku nowotworowego.

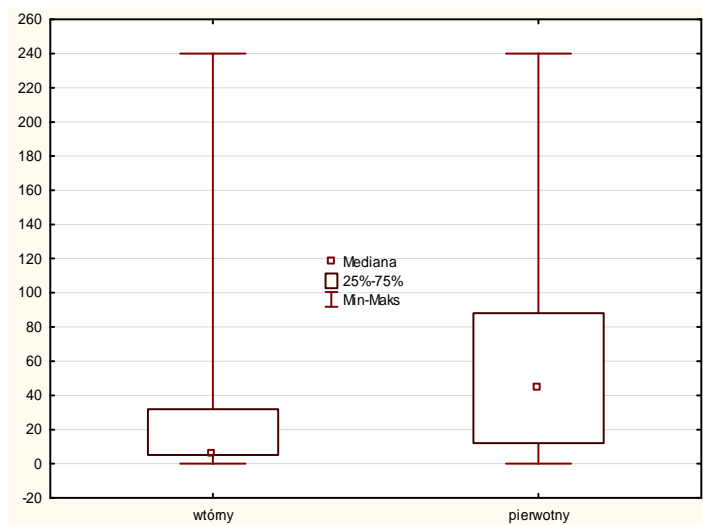
Marker	Chłoniaki pierwotne Średnia (zakres)	Chłoniaki wtórne Średnia (zakres)	Test Manna-Whitneya
<b>S100</b>	161,02 (5-740)	57,29 (0-400)	<b>U=473,5 p=0,000012</b>
<b>CD1a</b>	179,3 (4-750)	108,21 (0-1400)	<b>U=617,0 p=0,000597</b>
<b>CD207 (Langerin)</b>	62,69 (0-240)	25,17 (0-240)	<b>U=499,0 p=0,000083</b>
<b>CD68</b>	393,08 (3-960)	480,46 (3-1300)	U=971,0 p=0,368827

Pogrubioną czcionką zaznaczono wyniki istotne statystycznie.

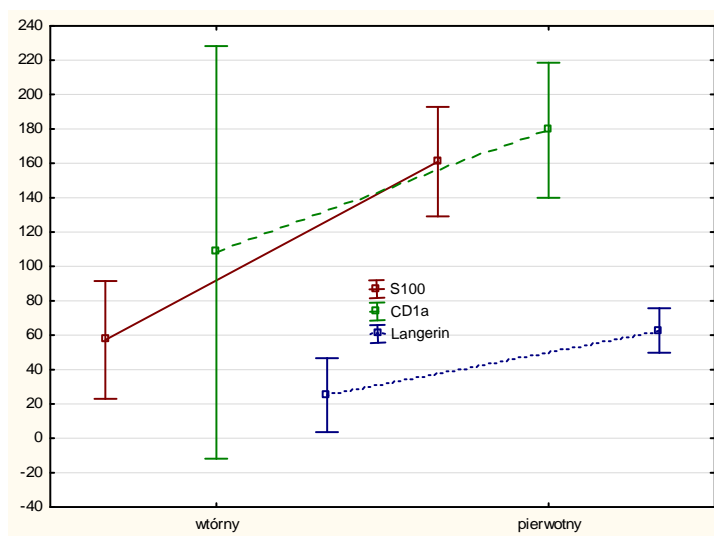
Wykazano statystycznie istotne różnice w liczebności komórek wykazujących ekspresję antygenów S100, CD1a i CD207 (Langerin) na terenie nacieku nowotworowego (jak na wykresach 5-8) pomiędzy pierwotnymi a wtórnymi chłoniakami



Wykres 7. Liczba komórek CD207 (Langerin)+ w chłoniakach pierwotnych i wtórnych na terenie nacieku nowotworowego.



Wykres. 8. Porównanie średnich wartości komórek S100+, CD1a+ i CD207(Langerin)+ w chłoniakach pierwotnych i wtórnych na terenie nacieku nowotworowego (wąs: średnia+/-0,95 przedział ufności).



Podjęto próbę stwierdzenia czy klasyfikacja danych na podstawie liczebności komórek dendrytycznych może posłużyć do rozróżnienia pomiędzy chłoniakami pierwotnymi i wtórnymi. Analiza macierzy klasyfikacji przyniosła poprawną klasyfikację 82 z 83 pierwotnych chłoniaków, jednak tylko 4 spośród 17 chłoniaków wtórnych. Jest to więc niewystarczające do zastosowania praktycznego.

Porównanie liczby komórek dendrytycznych w chłoniakach pierwotnych i wtórnych na terenie naskórka przedstawia tabela 21.

Tabela 21. Porównanie liczby komórek dendrytycznych w chłoniakach pierwotnych i wtórnych w obrębie naskórka.

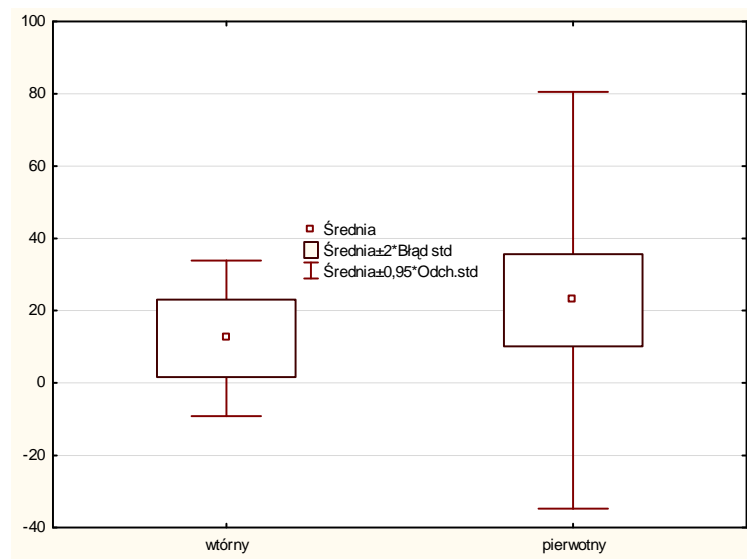
Marker	Chłoniaki pierwotne Średnia (zakres)	Chłoniaki wtórne Średnia (zakres)	Test Manna-Whitneya
<b>S100</b>	42,23 (0-210)	30,47 (2-110)	U=593,0 p=0,180571
<b>CD1a</b>	89,54 (5-247)	73,06 (7-160)	U=631,0 p=0,142144
<b>CD207 (Langerin)</b>	62,52 (5-165)	57,22 (3-135)	U=717,0 p=0,580565
<b>CD68</b>	22,9 (0-560)	12,33 (0-98)	<b>U=482,5 p=0,006218</b>

Pogrubioną czcionką zaznaczono wyniki istotne statystycznie.

Wykazano statystycznie istotne różnice w liczebności komórek wykazujących ekspresję antygeny CD68 w obrębie naskórka pomiędzy pierwotnymi a wtórnymi chłoniakami skóry. Średnia liczba komórek wykazujących ekspresję CD68 jest wyższa w chłoniakach pierwotnych (wykres 9).

Nie wykazano natomiast statystycznie istotnych różnic w liczebności komórek wykazujących ekspresję antygenów S100, CD1a i CD207 (Langerin) w obrębie naskórka pomiędzy pierwotnymi a wtórnymi chłoniakami skóry.

Wykres 9. Liczba komórek CD68+ na terenie naskórka w chłoniakach pierwotnych i wtórnych.



## 5.8. Liczba komórek dendrytycznych w chłoniakach B- i T-komórkowych

Porównanie liczby komórek dendrytycznych/1mm<sup>2</sup> w chłoniakach B- i T-komórkowych na terenie nacieku nowotworowego przedstawia tabela 22.

Tabela 22. Liczba komórek dendrytycznych/1mm<sup>2</sup> w chłoniakach B- i T-komórkowych na terenie nacieku nowotworowego.

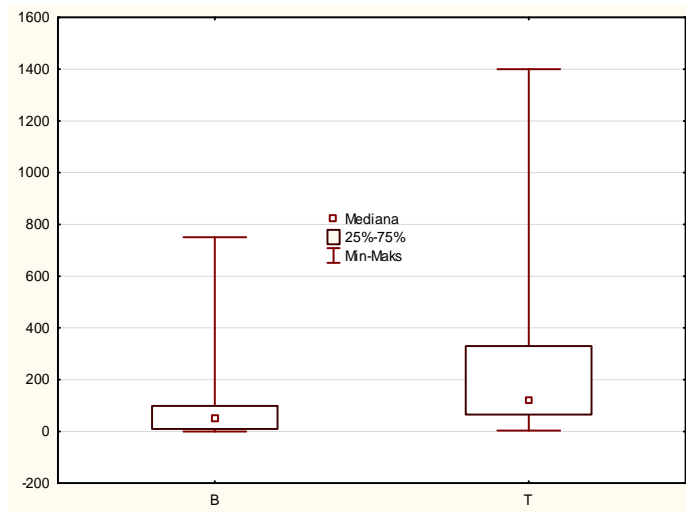
Marker	Chłoniaki B-komórkowe Średnia (zakres)	Chłoniaki T-komórkowe Średnia (zakres)	Test Manna-Whitneya
<b>S100</b>	139,48 (0-560)	138,95 (5-740)	U=1591,5 p=0,961444
<b>CD1a</b>	100,94 (0-750)	215,74 (4-1400)	<b>U=938,0 p=0,000026</b>
<b>CD207 (Langerin)</b>	40,58 (0-240)	66,54 (3-240)	<b>U=1061,0 p=0,002763</b>
<b>CD68</b>	462,02 (136-1300)	371,25 (3-960)	<b>U=1255,0 p=0,024954</b>

Pogrubioną czcionką zaznaczono wyniki istotne statystycznie.

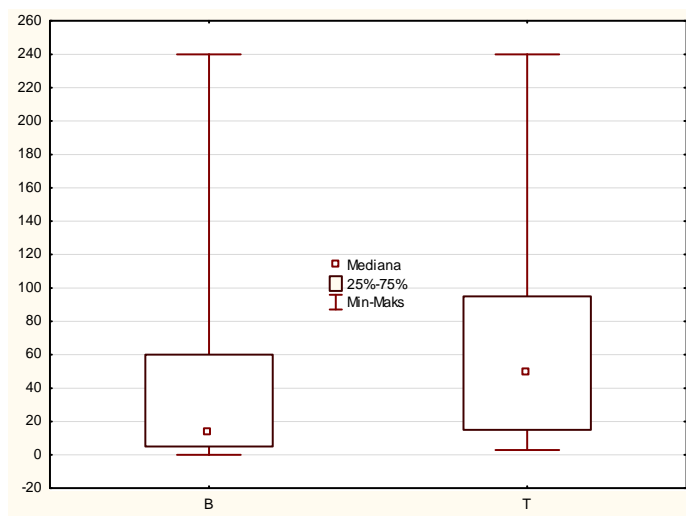
Wykazano statystycznie istotne różnice w liczebności komórek wykazujących ekspresję antygenów CD1a, CD207 (Langerin) i CD68 na terenie nacieku nowotworowego pomiędzy chłoniakami B- i T-komórkowymi (przedstawione na wykresach 10-12). Średnia liczba komórek/1mm<sup>2</sup> wykazujących ekspresję CD1a i CD207 (Langerin) była wyższa w chłoniakach T-komórkowych w porównaniu do chłoniaków B-komórkowych. Natomiast średnia liczba komórek wykazujących ekspresję antygeny CD68 na terenie nacieku nowotworowego była niższa w chłoniakach T-komórkowych w porównaniu do chłoniaków B-komórkowych.

Nie wykazano natomiast statystycznie istotnych różnic w liczebności komórek wykazujących ekspresję antygeny S100 na terenie nacieku nowotworowego pomiędzy chłoniakami B- i T-komórkowymi.

Wykres 10. Liczba komórek CD1a+ w chłoniakach B- i T-komórkowych na terenie nacieku nowotworowego.

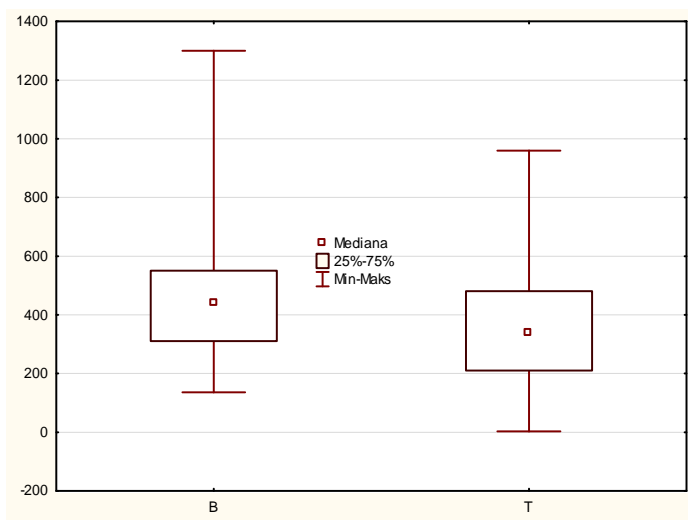


Wykres 11. Liczba komórek CD207 (Langerin)+ w chłoniakach B- i T-komórkowych na terenie nacieku nowotworowego.





Wykres 12. Liczba komórek CD68+ w chłoniakach B- i T-komórkowych na terenie nacieku nowotworowego.



Porównanie liczby komórek dendrytycznych w chłoniakach B- i T-komórkowych w obrębie naskórka przedstawia tabela 23.

Tabela 23. Liczba komórek dendrytycznych w chłoniakach B- i T-komórkowych w obrębie naskórka.

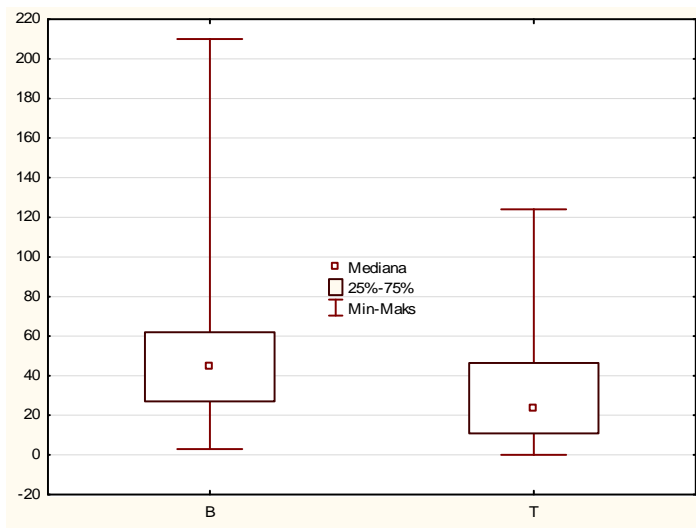
Marker	Chłoniaki B-komórkowe Średnia (zakres)	Chłoniaki T-komórkowe Średnia (zakres)	Test Manna-Whitneya
<b>S100</b>	50,54 (3-210)	33,78 (0-124)	<b>U=862,5 p=0,002885</b>
<b>CD1a</b>	87,56 (18-175)	86,29 (5-247)	U=1367,0 p=0,851302
<b>CD207 (Langerin)</b>	60,17 (16-165)	62,57 (3-165)	U=1321,0 p=0,992207
<b>CD68</b>	6,35 (0-64)	30,92 (0-560)	<b>U=583,5 p=0,007852</b>

Pogrubioną czcionką zaznaczono wyniki istotne statystycznie.

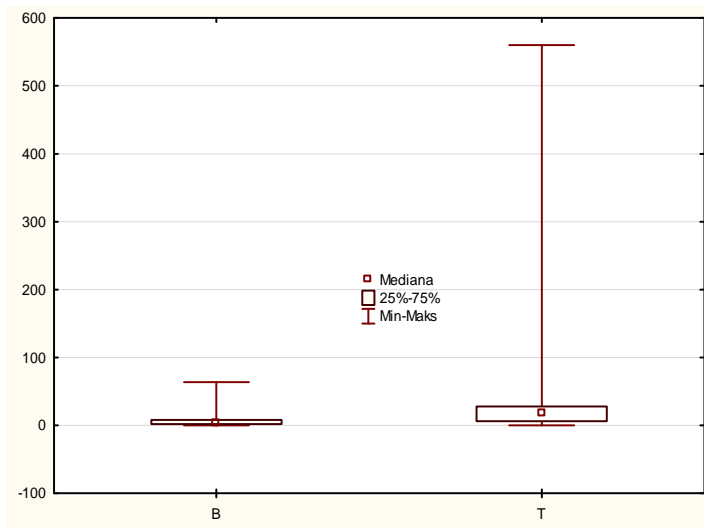
Wykazano statystycznie istotne różnice w liczebności komórek wykazujących ekspresję antygenów S100 i CD68 w obrębie naskórka pomiędzy chłoniakami B- i T-komórkowymi (przedstawione na wykresach 13-14). Średnia liczba komórek wykazujących ekspresję antygeny S100 w obrębie naskórka była niższa w chłoniakach T-komórkowych niż B-komórkowych, natomiast średnia liczba komórek wykazujących ekspresję CD68 w obrębie naskórka była wyższa w chłoniakach T-komórkowych w porównaniu do chłoniaków B-komórkowych.

Nie wykazano natomiast statystycznie istotnych różnic w liczebności komórek wykazujących ekspresję antygenów CD1a i CD207 (Langerin) w obrębie naskórka pomiędzy chłoniakami B- i T-komórkowymi.

Wykres 13. Liczba komórek S100+ w obrębie naskórka w chłoniakach B- i T-komórkowych.



Wykres 14. Liczba komórek CD68+ w obrębie naskórka w chłoniakach B- i T-komórkowych.



## 5.9. Liczba komórek dendrytycznych w podtypach histologicznych chłoniaków

Najwyższą średnią liczbę komórek/ $1\text{mm}^2$  na terenie nacieku nowotworowego wykazujących ekspresję białka S100 stwierdzono w LyP (325,33; 53-740), najniższą w T-LBL (11,67;5-16). Średnie liczby tych komórek w pozostałych jednostkach wynosiły odpowiednio: 136,17 w MF; 182,83 w C-ALCL; 127,33 w pierwotnym skórnym chłoniaku z limfocytów T  $\gamma\delta$ ; 61,33 w SS; 177,5 w pierwotnym skórnym agresywnym epidermotropowym chłoniaku z limfocytów T cytotoksycznych CD8+; 18 w ATLL, 214,44 w C-MALT, 188 w C-FL, 40,17 w C-DLBCL; 85 w LyG; 18,2 w DLBCL; 38,33 w MALT; 72 w B-LBL; 99 w HL; 51 w MCL; 38 w BL; 54,2 w PTCL, NOS; 32 w AILT.

Najwyższą średnią liczbę komórek/ $1\text{mm}^2$  na terenie nacieku nowotworowego wykazujących ekspresję CD1a stwierdzono w LyP (366,5; 52-690), najniższą w MCL (0). Średnie liczby tych komórek w pozostałych jednostkach wynosiły odpowiednio: 256,47 w MF; 152,08 w C-ALCL; 88,33 w pierwotnym skórnym chłoniaku z limfocytów T  $\gamma\delta$ ; 102,33 w SS; 45,5 w pierwotnym skórnym agresywnym epidermotropowym chłoniaku z limfocytów T cytotoksycznych CD8+; 178 w ATLL; 185,94 w C-MALT; 92,09 w C-FL; 28 w C-DLBCL; 50 w LyG; 22,8 w DLBCL; 30 w MALT; 10,5 w B-LBL; 58 w HL; 12 w BL; 97 w PTCL, NOS; 476,33 w T-LBL, 10 w AILT.

Najwyższą średnią liczbę komórek/ $1\text{mm}^2$  na terenie nacieku nowotworowego wykazujących ekspresję CD207 (Langerin) stwierdzono w MF (93,54; 4-240), najniższą w MCL (0). Średnie liczby tych komórek w pozostałych jednostkach wynosiły odpowiednio: 56,38 w C-ALCL; 89,67 w LyP; 43 w pierwotnym skórnym chłoniaku z limfocytów T  $\gamma\delta$ ; 66,67 w SS; 20 w pierwotnym skórnym agresywnym epidermotropowym chłoniaku z limfocytów T cytotoksycznych CD8+; 58 w ATLL; 66,19 w C-MALT; 33,1 w C-FL; 5,29 w C-DLBCL; 69 w LyG; 4,8 w DLBCL; 10 w MALT; 23 w B-LBL; 21 w HL; 5 w BL; 35,4 w PTCL, NOS; 4,33 w T-LBL i 12 w AILT.

Uwidocznione immunohistochemicznie komórki dendrytyczne w wybranych jednostkach przedstawiają ryciny 13-24 (strony 99-100).

Pomiędzy badanymi grupami stwierdzono statystycznie istotną różnicę w liczbie komórek wykazujących ekspresję białka S100, CD1a, CD207 (Langerin), CD68 na terenie nacieku, natomiast nie wykazano różnic w liczbie tych komórek w obrębie

naskórka (ANOVA Kruskala-Wallis). W testach wielokrotnych porównań stwierdzono, iż różnice te wynikają głównie z różnic pomiędzy C-DLBCL i MF dla CD1a oraz DLBCL i MF oraz C-DLBCL i MF dla CD207 (Langerin).

## 5.10. Liczba komórek dendrytycznych w podgrupach chłoniaków o różnym stopniu agresywności klinicznej

Porównanie liczby komórek dendrytycznych na terenie nacieku nowotworowego w chłoniakach w podziale na indolentne, pośrednie i agresywne przedstawia tabela 24.

Tabela 24. Porównanie liczby komórek dendrytycznych na terenie nacieku nowotworowego w chłoniakach w podziale na indolentne, pośrednie i agresywne.

Marker	Chłoniaki indolentne	Chłoniaki pośrednie	Chłoniaki agresywne	Test ANOVA Kruskala-Wallis
<b>S100</b>	177,36 (5-740)	40,17 (24-75)	63,52 (0-350)	<b>p=0,000</b>
<b>CD1a</b>	201,87 (4-750)	28 (6-95)	100,9 (0-1400)	<b>p=0,001</b>
<b>CD207 (Langerin)</b>	70,67 (3-240)	5,29 (0-10)	28,52 (0-126)	<b>p=0,000</b>
<b>CD68</b>	371,32 (3-950)	416,14 (163-620)	510,26 (3-1300)	p=0,4972

Pogrubioną czcionką zaznaczono wyniki istotne statystycznie.

Porównanie liczby komórek dendrytycznych w obrębie naskórka w chłoniakach w podziale na indolentne, pośrednie i agresywne przedstawia tabela 25.

Tabela 25. Porównanie liczby komórek dendrytycznych w obrębie naskórka w chłoniakach w podziale na indolentne, pośrednie i agresywne.

Marker	Chłoniaki indolentne	Chłoniaki pośrednie	Chłoniaki agresywne	Test ANOVA Kruskala-Wallis
<b>S100</b>	41,46 (0-210)	41,46 (0-210)	37,5 (2-110)	p=0,1484
<b>CD1a</b>	91,85 (7-247)	74,29 (14-145)	77,28 (5-158)	p=0,8820
<b>CD207 (Langerin)</b>	62,04 (3-165)	65,67 (13-155)	59,72 (5-154)	p=0,5556
<b>CD68</b>	20,89 (0-560)	19,29 (5-46)	22,21 (0-104)	<b>p=0,041</b>

Pogrubioną czcionką zaznaczono wyniki istotne statystycznie.

Pomiędzy chłoniakami indolentnymi, pośrednimi i agresywnymi stwierdzono statystycznie istotną różnicę w liczbie komórek wykazujących ekspresję białka S100, CD1a, CD207 (Langerin) na terenie nacieku, natomiast nie wykazano różnic w liczbie tych komórek w obrębie naskórka (ANOVA Kruskala-Wallis). W testach wielokrotnych porównań stwierdzono, iż różnice te wynikają głównie z różnic pomiędzy chłoniakami indolentnymi i agresywnymi oraz pośrednimi i indolentnymi.

Wykazano statystycznie istotną różnicę w liczebności na terenie naskórka komórek wykazujących ekspresję CD68 pomiędzy chłoniakami indolentnymi, pośrednimi i agresywnymi. W testach wielokrotnych porównań stwierdzono, iż różnice te wynikają głównie z różnic pomiędzy chłoniakami indolentnymi i pośrednimi.

## 5.11. Liczba komórek dendrytycznych a cechy morfologiczne

### 5.11.1. Epidermotropizm

Porównanie liczby komórek dendrytycznych /1mm<sup>2</sup> na terenie nacieku nowotworowego w zależności od obecności epidermotropizmu przedstawia tabela 26 i wykresy 15-17.

Tabela 26. Liczba komórek dendrytycznych /1mm<sup>2</sup> na terenie nacieku nowotworowego w zależności od obecności epidermotropizmu.

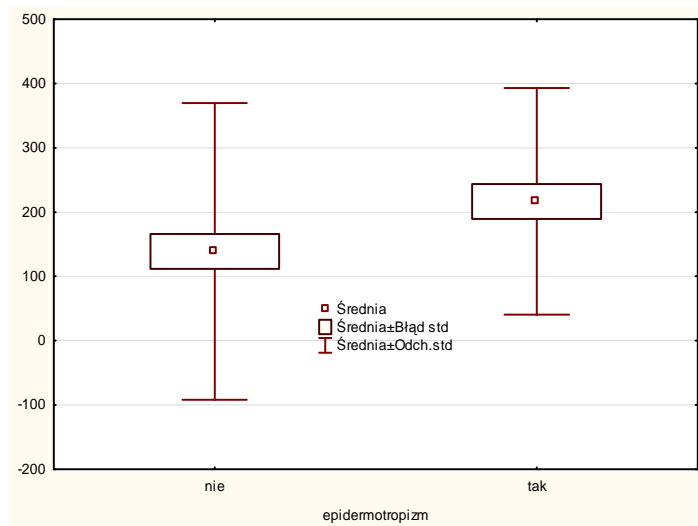
Antygen	Obecny epidermotropizm Średnia (zakres)	Brak epidermotropizmu Średnia (zakres)	Test Mann-Whitney
<b>S100</b>	132,76 (5-630)	146,31 (0-740)	U=1445,5; p=0,885304
<b>CD1a</b>	216,69 (4-640)	138,82 (0-1400)	<b>U=884; p=0,000165</b>
<b>CD207 (Langerin)</b>	83,76 (4-240)	39,18 (0-240)	<b>U=750; p=0,000020</b>
<b>CD68</b>	334,71 (3-950)	455,22 (3-1300)	<b>U=971,5; p=0,001512</b>

Pogrubioną czcionką zaznaczono wyniki istotne statystycznie.

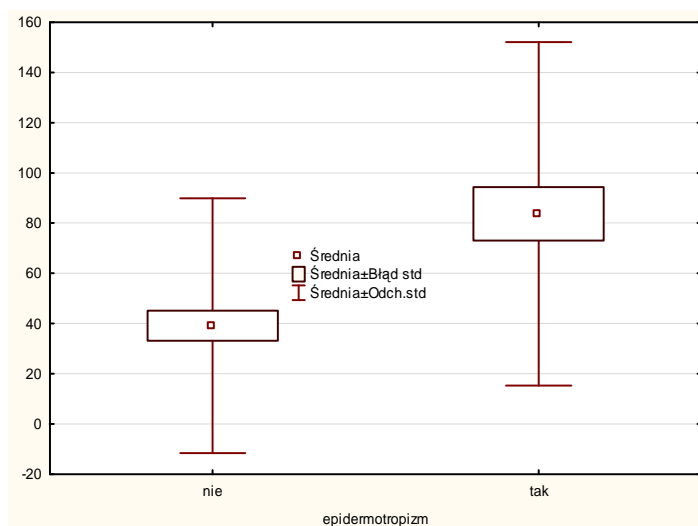
Wykazano statystycznie istotne różnice pomiędzy liczbą komórek wykazujących ekspresję antygenów CD1a, CD207 (Langerin) i CD68 na terenie nacieku nowotworowego w zależności od obecności epidermotropizmu. Średnia liczba komórek wykazujących ekspresję antygenów CD1a i CD207 (Langerin) na terenie nacieku była wyższa w chłoniakach wykazujących epidermotropizm w porównaniu do chłoniaków

niewykazujących epidermotropizmu. Natomiast średnia liczba komórek wykazujących ekspresję antygenu CD68 na terenie nacieku była niższa w chłoniakach wykazujących epidermotropizm w porównaniu do chłoniaków niewykazujących epidermotropizmu.

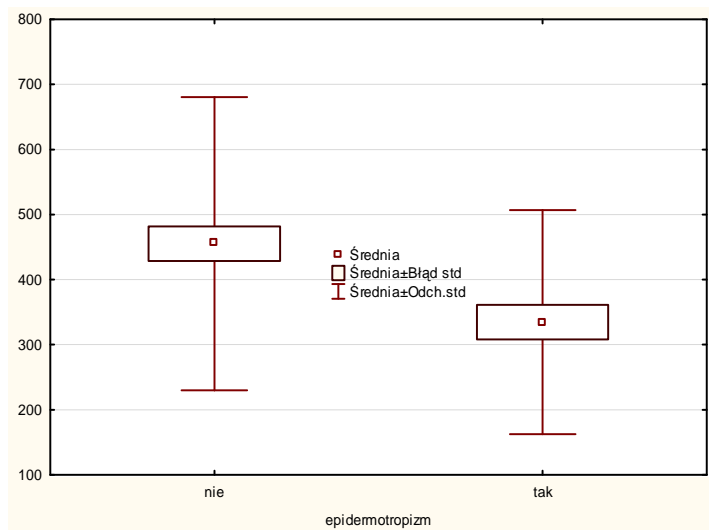
Wykres 15. Liczba komórek dendrytycznych /1mm<sup>2</sup> wykazujących ekspresję CD1a na terenie nacieku nowotworowego w zależności od obecności epidermotropizmu.



Wykres 16. Liczba komórek dendrytycznych /1mm<sup>2</sup> wykazujących ekspresję CD207 (Langerin) na terenie nacieku nowotworowego w zależności od obecności epidermotropizmu.



Wykres 17. Liczba komórek dendrytycznych /1mm<sup>2</sup> wykazujących ekspresję CD68 na terenie nacieku nowotworowego w zależności od obecności epidermotropizmu.



Porównanie liczby komórek dendrytycznych w obrębie naskórka w zależności od obecności epidermotropizmu przedstawia tabela 27 oraz wykresy 18 i 19.

Tabela 27. Liczba komórek dendrytycznych w obrębie naskórka w zależności od obecności epidermotropizmu.

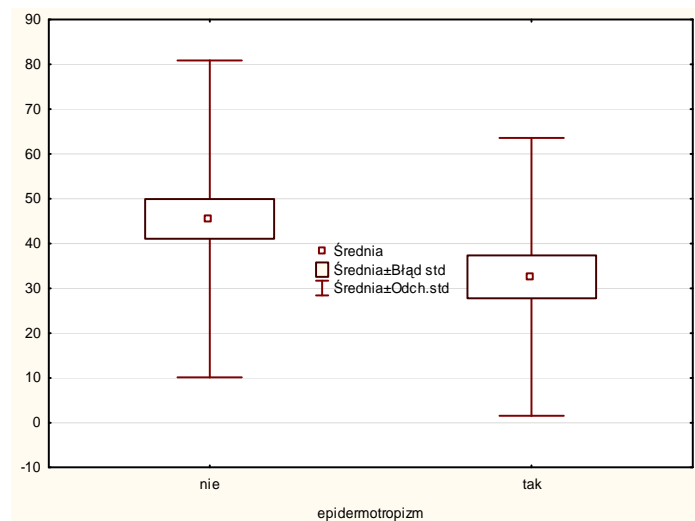
Antygen	Obecny epidermotropizm Średnia (zakres)	Brak epidermotropizmu Średnia (zakres)	Test Mann-Whitney
<b>S100</b>	32,55 (0-124)	45,51 (2-210)	<b>U=966,5; p=0,019852</b>
<b>CD1a</b>	88,55 (5-247)	85,68 (7-175)	U=1369,5; p=0,919675
<b>CD207 (Langerin)</b>	64,98 (7-165)	59,45 (3-165)	U=1269; p=0,780095
<b>CD68</b>	36,86 (0-560)	11,14 (0-98)	<b>U=669,5; p=0,000006</b>

Pogrubioną czcionką zaznaczono wyniki istotne statystycznie.

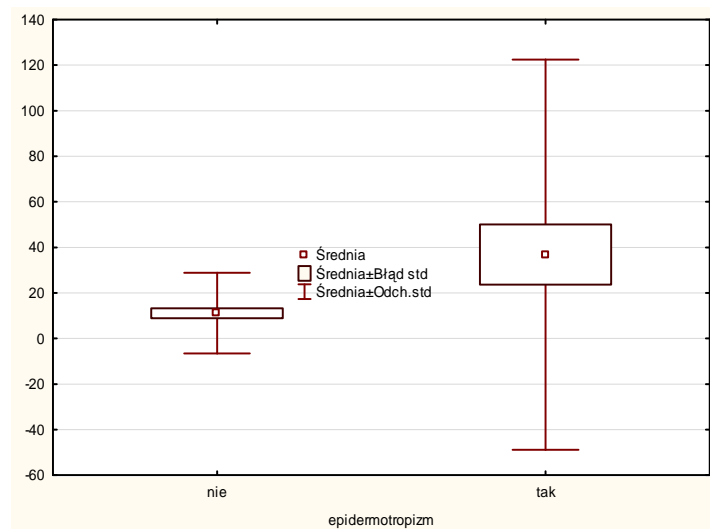
Wykazano statystycznie istotne różnice pomiędzy liczbą komórek wykazujących ekspresję antygenów S100 i CD68 w obrębie naskórka w zależności od obecności epidermotropizmu. Średnia liczba komórek wykazujących ekspresję antygeny S100 w obrębie naskórka była niższa w chłoniakach wykazujących epidermotropizm w porównaniu do chłoniaków niewykazujących epidermotropizmu. Natomiast średnia liczba komórek wykazujących ekspresję antygenów CD68 w obrębie naskórka była wyższa w chłoniakach wykazujących epidermotropizm w porównaniu do chłoniaków niewykazujących epidermotropizmu.

Wykazano korelację pomiędzy grubością naskórka a liczbą komórek wykazujących ekspresję CD1a i CD207 (Langerin) w obrębie naskórka.

Wykres 18. Liczba komórek dendrytycznych wykazujących ekspresję S100 w obrębie naskórka w zależności od obecności epidermotropizmu.



Wykres 19. Liczba komórek dendrytycznych /1mm<sup>2</sup> wykazujących ekspresję CD68 w obrębie naskórka w zależności od obecności epidermotropizmu.



### 5.11.2. Owrzodzenie

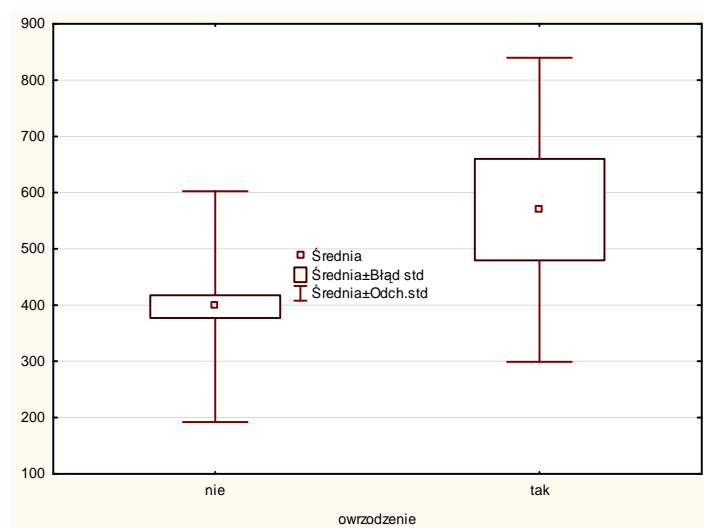
Wykazano statystycznie istotną różnicę ( $U=278,5$ ;  $p=0,041995$ ) pomiędzy liczbą komórek wykazujących ekspresję antygenu CD68 na terenie nacieku w zależności od obecności owrzodzenia. Średnia liczba komórek wykazujących ekspresję antygenu CD68



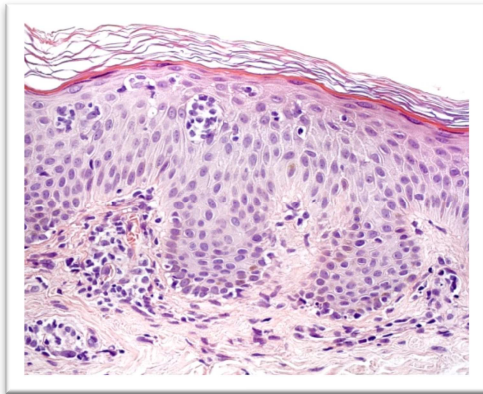
na terenie nacieku była wyższa w chłoniakach wykazujących obecność owrzodzenia (średnia 32,29, zakres: 0-65) w porównaniu do chłoniaków niewykazujących obecności owrzodzenia (średnia 20,37; zakres: 0-560) (wykres 20).

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy liczbą komórek wykazujących ekspresję pozostałych antygenów w obrębie nacieku i naskórka w zależności od obecności owrzodzenia.

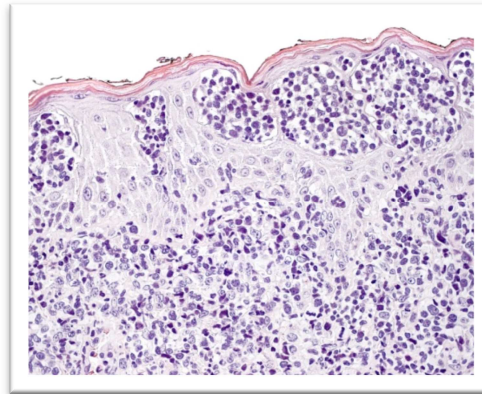
Wykres 22. Liczba komórek dendrytycznych /1mm<sup>2</sup> wykazujących ekspresję CD68 na terenie nacieku nowotworowego w zależności od obecności owrzodzenia.



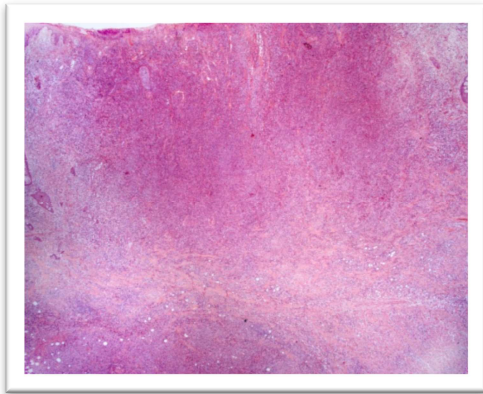
## 5.12. Ryciny



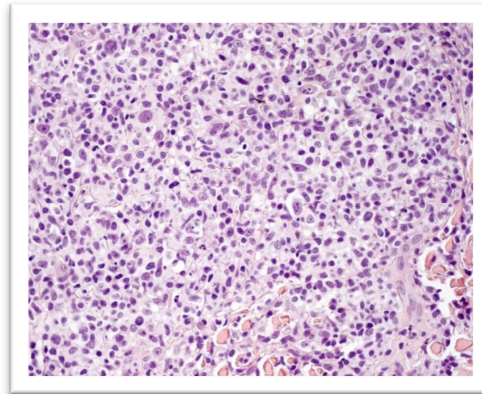
Ryc. 1. Mycosis fungoides, patch stage. Barwienie hematoksyliną i eozyną, powiększenie 400x.



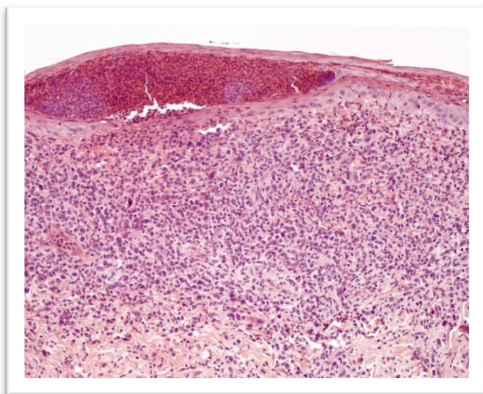
Ryc. 2. Mycosis fungoides, transformacja. Barwienie hematoksyliną i eozyną, powiększenie 400x.



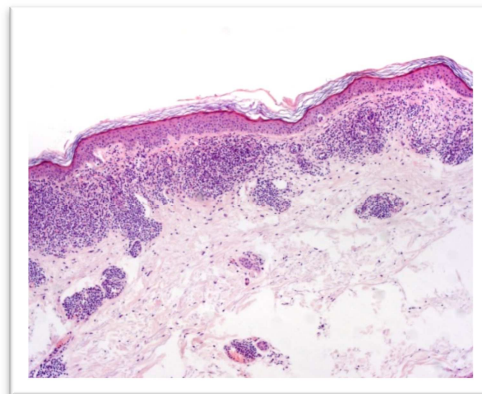
Ryc. 3. C-ALCL. Barwienie hematoksyliną i eozyną, powiększenie 20x.



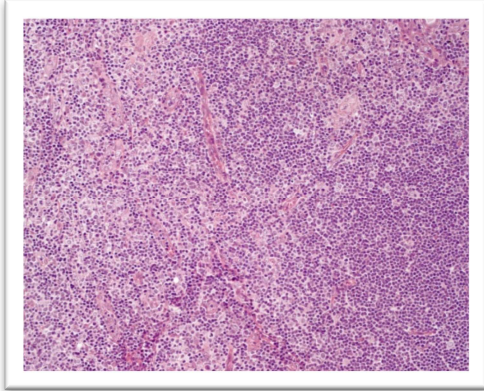
Ryc. 4. C-ALCL. Barwienie hematoksyliną i eozyną, powiększenie 400x.



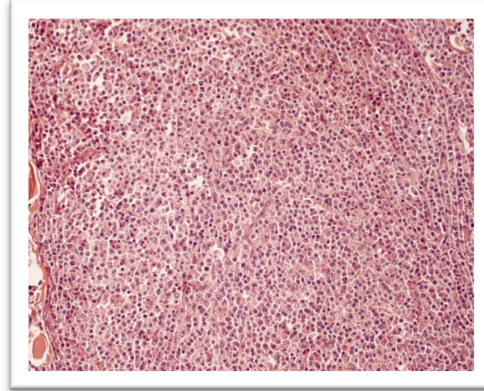
Ryc. 5. LyP typ A. Barwienie hematoksyliną i eozyną, powiększenie 200x.



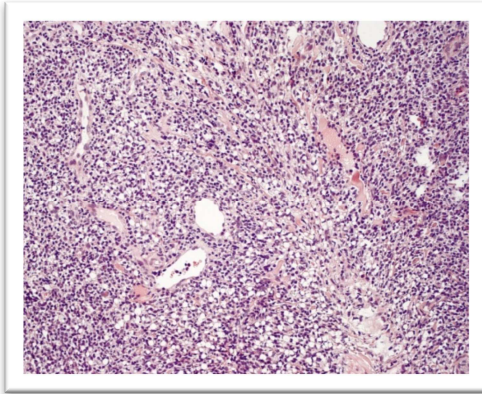
Ryc. 6. SS. Barwienie hematoksyliną i eozyną, powiększenie 100x.



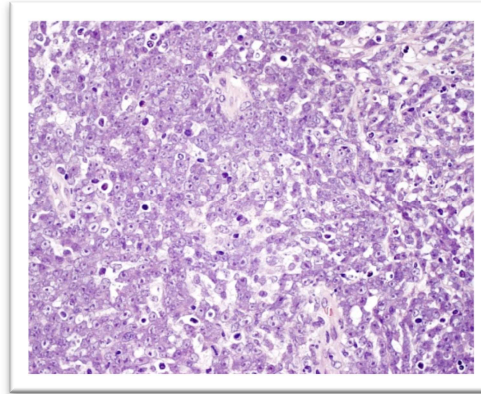
Ryc. 7. C-MALT, postać klasyczna. Barwienie hematoksyliną i eozyną, powiększenie 200x.



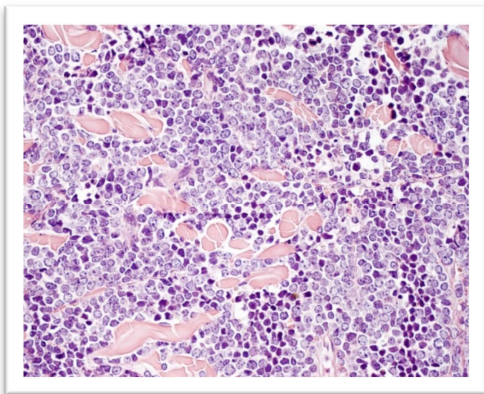
Ryc. 8. C-MALT, postać plazmatycznokomórkowa. Barwienie hematoksyliną i eozyną, powiększenie 200x.



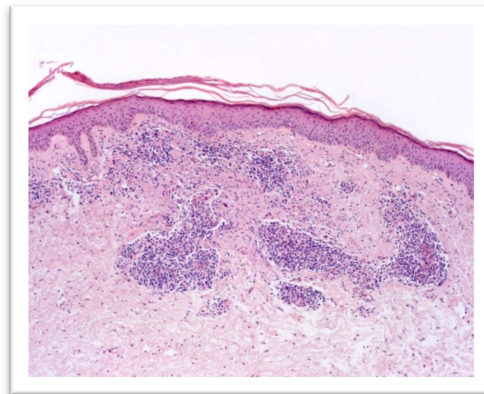
Ryc. 9. C-FL. Barwienie hematoksyliną i eozyną, powiększenie 200x.



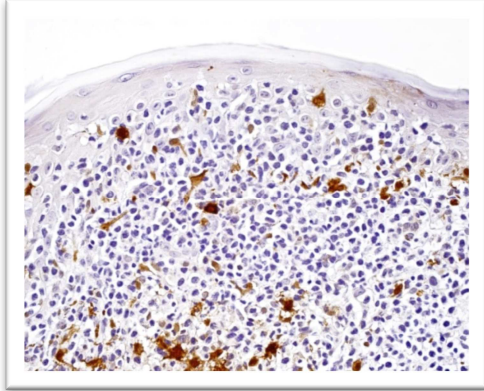
Ryc. 10. C-DLBCL. Barwienie hematoksyliną i eozyną, powiększenie 400x.



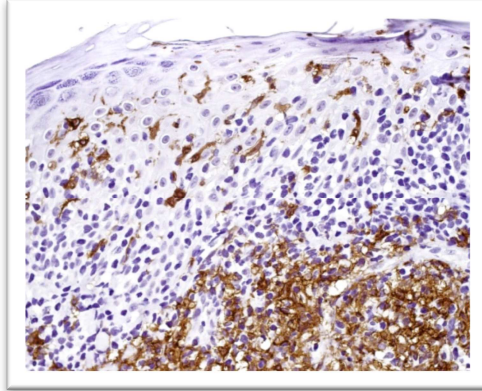
Ryc. 11. B-LBL. Barwienie hematoksyliną i eozyną, powiększenie 400x.



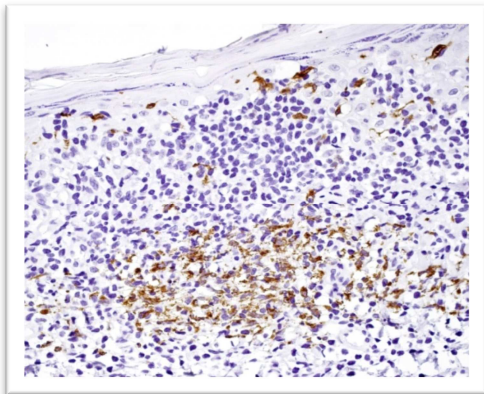
Ryc. 12. PTCL, NOS. Barwienie hematoksyliną i eozyną, powiększenie 100x.



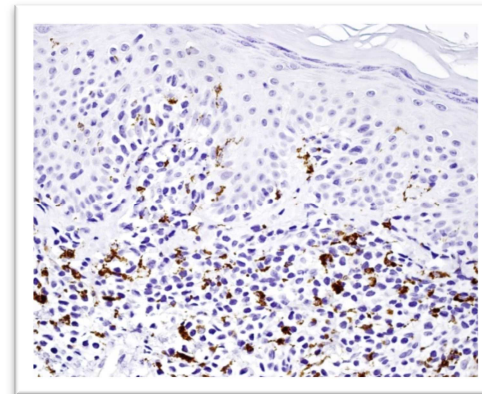
Ryc. 13. MF, S100. Powiększenie 400x.



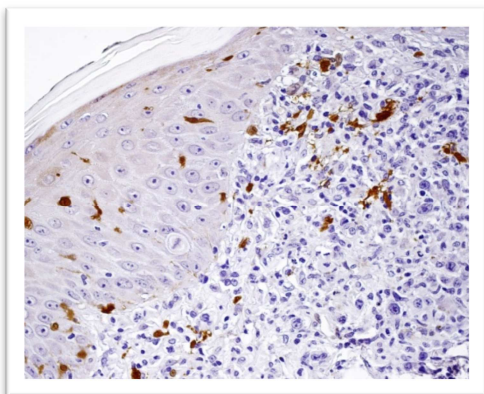
Ryc. 14. MF, CD1a. Powiększenie 400x.



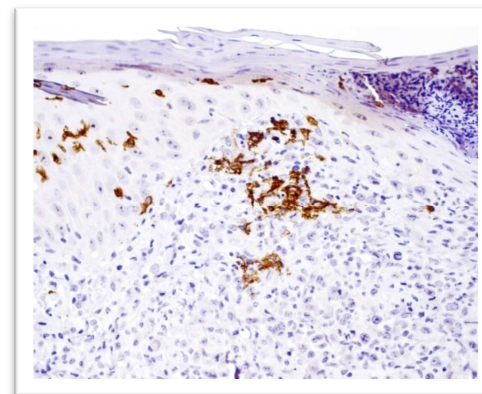
Ryc. 15. MF, CD207. Powiększenie 400x.



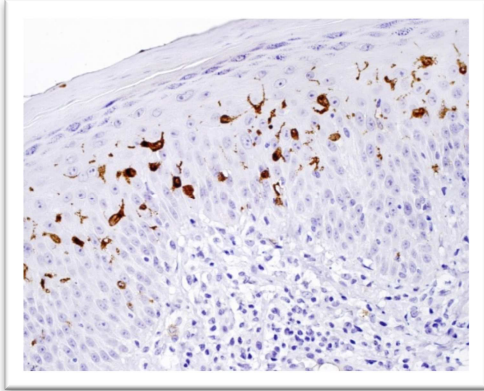
Ryc. 16. MF, CD68. Powiększenie 400x.



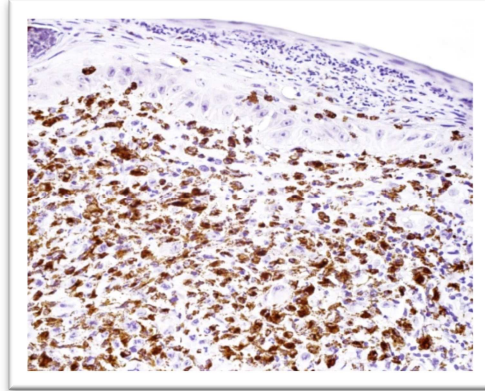
Ryc. 17. LyP A, S100. Powiększenie 400x.



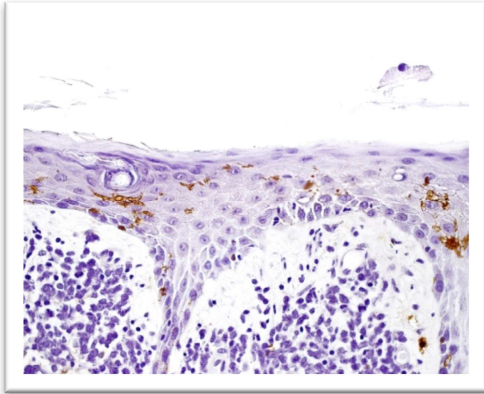
Ryc. 18. LyP A, CD1a. Powiększenie 400x.



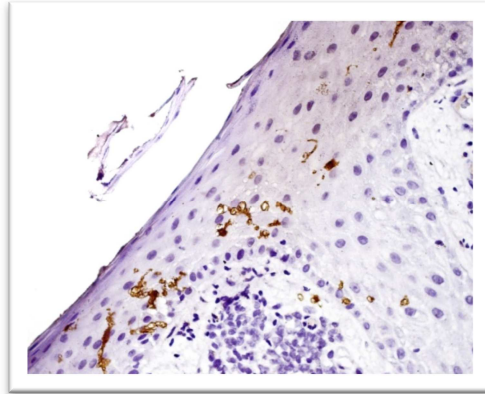
Ryc. 19. LyP A, CD207.  
Powiększenie 400x.



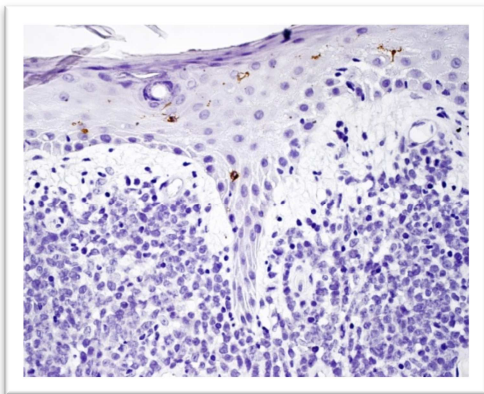
Ryc. 20. LyP A, CD68.  
Powiększenie 400x.



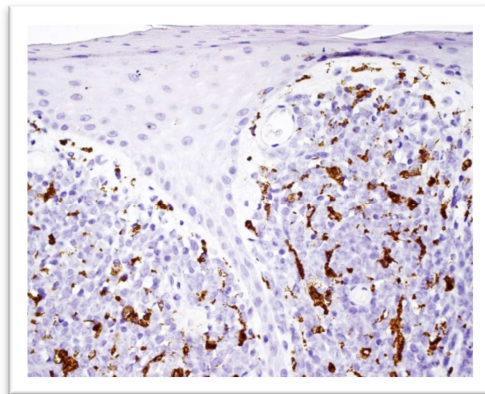
Ryc. 21. C-DLBCL, S100.  
Powiększenie 400x.



Ryc. 22. C-DLBCL, CD1a.  
Powiększenie 400x.



Ryc. 23. C-DLBCL, CD207.  
Powiększenie 400x.



Ryc. 24. C-DLBCL, CD68.  
Powiększenie 400x.



## 6. DYSKUSJA

### 6.1. Dane epidemiologiczne

Według nieopublikowanych danych ogólnopolskiego rejestru nowotworów układu chłonnego prowadzonego pod patronatem Sekcji Hematopatologicznej Polskiego Towarzystwa Patologów wraz z Polską Grupą Badawczą Chłoniaków w 2008 roku w Polsce zgłoszono do rejestru 129 chłoniaków zajmujących skórę, co stanowiło 3,13% wszystkich chłoniaków zgłoszonych w tym czasie w Polsce. Wśród pacjentów zgłoszonych do rejestru nieznacznie przeważali mężczyźni (70 przypadków, 54,3%) w stosunku do kobiet (67 przypadków, 45,7%). Średnia wieku wynosiła 59,22 (zakres: 17-88). Dla kobiet średnia wieku była wyższa (62,93) w porównaniu do mężczyzn (55,5).

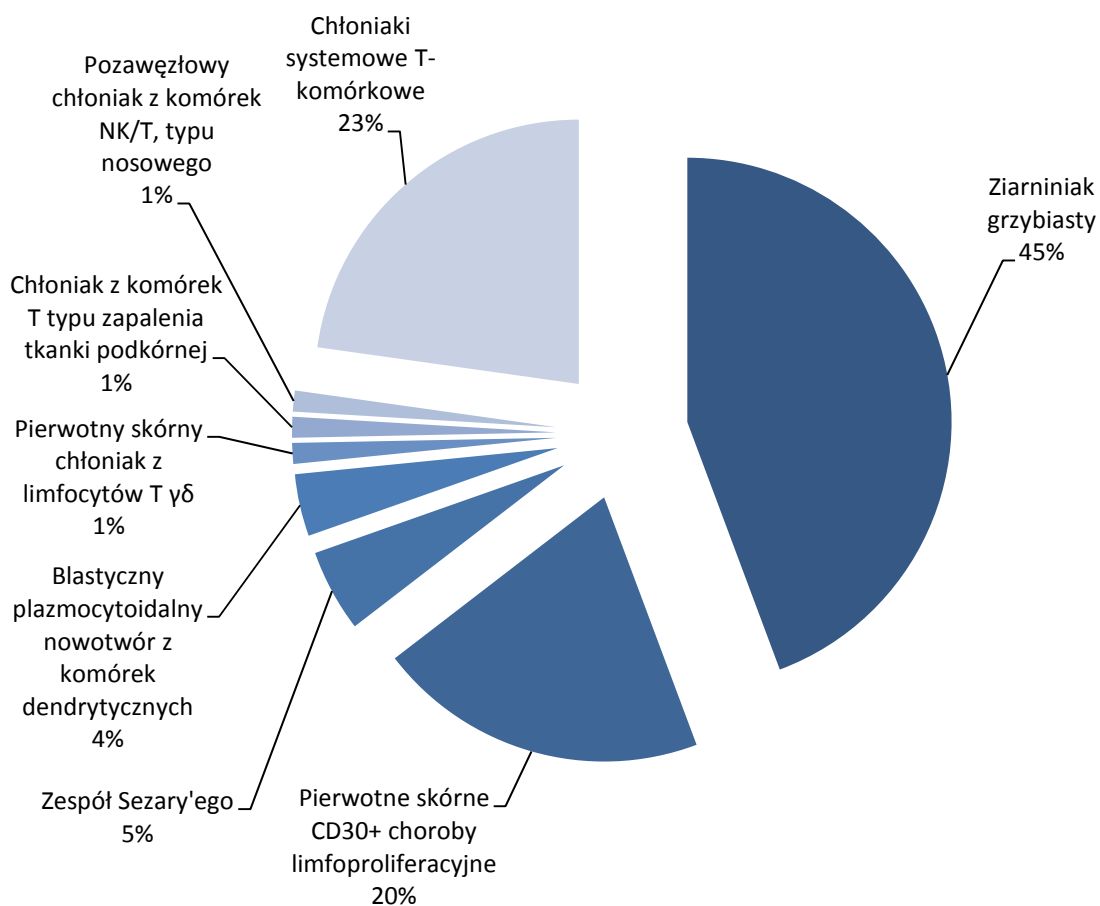
W analizowanej grupie pacjentów z chłoniakami skórnymi nieznacznie przeważali mężczyźni (51,7%), co stanowi wartość zbliżoną do danych ogólnopolskiego rejestru nowotworów układu chłonnego, natomiast nieznacznie wyższy odsetek mężczyzn (58,8%) odnotowano w Stanach Zjednoczonych [11].

Średnia wieku pacjentów w badanej grupie (59,3) zbliżona była do danych ogólnopolskiego rejestru nowotworów układu chłonnego. Rozkład wieku w badanej grupie odpowiada danym ze Stanów Zjednoczonych ze stopniowym wzrostem zapadalności wraz z wiekiem i szczytem występowania w ósmej dekadzie [11]. Odmienne natomiast w porównaniu do danych ze Stanów Zjednoczonych przedstawia się wiek kobiet i mężczyzn w momencie rozpoznania chłoniaka. W badanej grupie i według danych ogólnopolskiego rejestru nowotworów układu chłonnego średnia wieku kobiet w momencie rozpoznania była wyższa w porównaniu do mężczyzn, natomiast w populacji amerykańskiej wiek kobiet w momencie rozpoznania był niższy od mężczyzn. Wyższy odsetek mężczyzn w populacji amerykańskiej oraz różnice wieku w momencie rozpoznania w zależności od płci mogą wynikać z różnic rasowych. Najwyższy wskaźnik zapadalności na skórne chłoniaki T-komórkowe obserwowano wśród osób rasy czarnej, spośród których przewaga mężczyzn była znacząco wyższa w porównaniu do osób rasy białej w odniesieniu do MF [11]. Podobnie badania nad częstością występowania systemowych chłoniaków nieziarniczych w Ameryce Południowej i Centralnej wykazały, że mediana wieku w momencie rozpoznania DLBCL w tej populacji była niższa w porównaniu do Ameryki Północnej. Autorzy sugerują, że prawdopodobną przyczyną mogą być różnice rasowe i czynniki środowiskowe [63].

## 6.2. Porównanie częstości typów chłoniaków

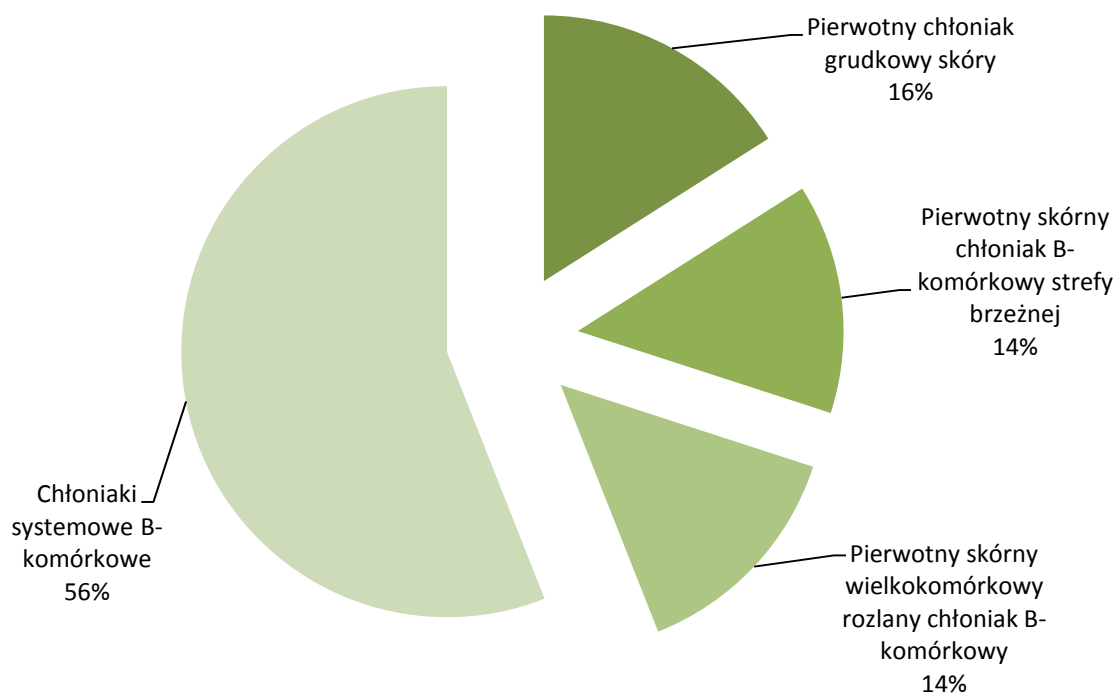
Spośród 129 chłoniaków skórnych zgłoszonych do ogólnopolskiego rejestru nowotworów układu chłonnego 83 stanowiły pierwotne chłoniaki skórne (2% wszystkich zgłoszonych chłoniaków), pozostałe stanowiły chłoniaki systemowe wtórnie zajmujące skórę. Wśród pierwotnych chłoniaków skórnych 61 stanowiły chłoniaki T-komórkowe (73,5% pierwotnych chłoniaków skórnych), pozostałe 22 stanowiły chłoniaki B-komórkowe. Dane przedstawiają wykresy 23-24.

Wykres 23. Skórne chłoniaki T-komórkowe według danych ogólnopolskiego rejestru nowotworów układu chłonnego.





Wykres 24. Skórne chłoniaki B-komórkowe według danych ogólnopolskiego rejestru nowotworów układu chłonnego.



W badanej grupie odsetek chłoniaków pierwotnych (80,5%) był znacznie niższy w porównaniu do danych amerykańskich (98,5%); ten odsetek jest zresztą jeszcze niższy według danych ogólnopolskiego rejestru nowotworów układu chłonnego (64,3%). Różnica ta wynika ze sposobu zbierania danych do rejestru amerykańskiego, który uwzględnia jedynie pierwotną lokalizację zmiany [11], natomiast w badanej grupie, jak również w ogólnopolskim rejestrze nowotworów układu chłonnego uwzględniano również biopsje ze zmian przerzutowych.

Zaobserwowano również różnice w częstości występowania pierwotnych skórnych chłoniaków B- i T-komórkowych w badanej grupie w porównaniu do danych amerykańskich. W badanej grupie odsetek chłoniaków T-komórkowych (62,1%) był nieco niższy w porównaniu do danych amerykańskich (72,35%) [11]. Natomiast porównywalną do danych amerykańskich częstość występowania chłoniaków T-komórkowych obserwowano według danych ogólnopolskiego rejestru nowotworów układu chłonnego (73,5%). Różnice obserwowane pomiędzy badaną grupą a danymi ogólnopolskiego rejestru nowotworów układu chłonnego mogą w części wynikać z konieczności wyłączenia z badanej grupy pacjentów, u których nie był dostępny wystarczający materiał archiwalny do wykonania oznaczeń immunohistochemicznych.

Częstość poszczególnych typów chłoniaków jest zbliżona w analizowanych grupach (tabela 28).

Tabela 28. Porównanie częstości typów pierwotnych chłoniaków skórnych w badanej grupie, danych ogólnopolskiego rejestru nowotworów układu chłonnego, *Dutch and Austrian Cutaneous Lymphoma Group* i danych amerykańskich.

Jednostka	Badana grupa (%)	Dane ogólnopolskiego rejestru nowotworów układu chłonnego (%)	<i>Dutch and Austrian Cutaneous Lymphoma Group (1986-2002)</i> (%) [1]	Dane ze Stanów Zjednoczonych (%) [11]
Ziarniniak grzybiasty (MF)	33,6	42,2	44	38,9
Pierwotny skórny anaplastyczny chłoniak z dużych komórek (C-ALCL)	13,7	4,8	8	10,3
<i>Lymphomatoid papulosis</i> (LyP)	6,3	7,2	12	
Pierwotny skórny chłoniak z limfocytów T $\gamma\delta$	3,2	1,2	<1	-
Zespół Sezary'ego (SS)	2,1	4,8	3	0,9
Pierwotny skórny agresywny epidermotropowy chłoniak z limfocytów T cytotoksycznych CD8+	2,1	0	<1	-
Białaczka/ chłoniak T-komórkowy dorosłych (ATLL)	1,1	0	-	-
Pierwotny skórny chłoniak B-komórkowy strefy brzeżnej (C-MALT)	16,8	8,4	7	7,2
Pierwotny chłoniak grudkowy skóry (C-FL)	11,6	9,6	11	8,6
Pierwotnie skórny rozlany chłoniak z dużych komórek B, typu kończyny dolnej (C-DLBCL)	7,4	8,4	4	2,6
<i>Lymphomatoid granulomatosis</i>	2,1	0	-	-

Różnice obserwowane pomiędzy badaną grupą a pozostałymi danymi mogą w części wynikać z konieczności wyłączenia z badanej grupy pacjentów, u których nie był dostępny wystarczający materiał archiwalny do wykonania oznaczeń immunohistochemicznych. Zwłaszcza wśród pierwotnych chłoniaków B-komórkowych w badanej grupie zwraca uwagę przewaga C-MALT w porównaniu do danych z pozostałych rejestrów, w których najczęstszym pierwotnym skórnym chłoniakiem B-komórkowym jest C-FL. Może to być spowodowane tym, że stosunkowo często C-MALT leczony jest chirurgicznym wycięciem, więc materiał archiwalny był w większości przypadków wystarczający do wykonania oznaczeń immunohistochemicznych. Natomiast w pozostałych chłoniakach wycinki skórne mają

często niewielkie rozmiary, stąd większa ich liczba została wyeliminowana z badanej grupy.

Trudniej porównać jest częstość występowania wtórnego zajęcia skóry przez chłoniaki ze względu na brak większych opracowań na ten temat. Szacuje się, że chłoniaki zajmujące skórę wtórnie mogą stanowić do 25% wszystkich chłoniaków skórnych [64] (w badanej grupie 19,5%). W przeciwieństwie do pierwotnych skórnych chłoniaków wśród chłoniaków wtórnie zajmujących skórę przeważają rozrosty B-komórkowe (65,8%) [64], porównywalnie do badanej grupy. Zestawienie odsetka chłoniaków wtórnie zajmujących skórę w badanej grupie i danych *Stanford University* przedstawia tabela 29.

Tabela 29. Porównanie odsetka chłoniaków wtórnie zajmujących skórę w materiale własnym i danych *Stanford University*.

Jednostka	Badana grupa (%)	Dane <i>Stanford University</i> (%) [64]
<b>Chłoniaki B-komórkowe</b>	60,9	65,8
Rozlany chłoniak z dużych komórek B (DLBCL)	21,7	26,8
Pozawęzłowy chłoniak B-komórkowy ze strefy brzeżnej typu MALT (MALT)	13,0	6,8
Białaczka/ chłoniak limfoblastyczny z komórek B (B-LBL)	8,7	-
Chłoniak Hodgkina (HL)	8,7	-
Chłoniak z komórek strefy płaszcz (MCL)	4,3	-
Chłoniak Burkitta (BL)	4,3	-
Chłoniak grudkowy (FL)	0	21,4
Przewlekła białaczka limfocytarna/ chłoniak z małych limfocytów (CLL/SLL)	0	5,5
<b>Chłoniaki T-komórkowe</b>	39,1	34,2
Obwodowy chłoniak T-komórkowy, niescharakteryzowany w inny sposób (PTCL, NOS)	21,7	14,1
Białaczka/ chłoniak limfoblastyczny z komórek T (T-LBL)	13,0	-
Angioimmunoblastyczny chłoniak z komórek T (AILT)	4,3	3,2
Anaplastyczny chłoniak z dużych komórek (ALCL)	0	9,1

W obu grupach najczęstszym chłoniakiem B-komórkowym zajmującym skórę jest DLBCL, natomiast w badanej grupie drugim pod względem częstości jest MALT, podczas gdy w populacji amerykańskiej FL. Różnica ta może wynikać z tego, że najczęstszym systemowym chłoniakiem B-komórkowym w populacji amerykańskiej jest właśnie FL [63]. Natomiast najczęstszym chłoniakiem T-komórkowym w obu grupach jest obwodowy chłoniak T-komórkowy, niescharakteryzowany w inny sposób.

### 6.3. Reklasyfikacja chłoniaków

W ocenianym materiale w 28 spośród 118 przypadków zmieniono lub uściślono pierwotne rozpoznanie.

W 10 przypadkach doprecyzowano rozpoznanie pierwotne o charakterze opisowym na podstawie kryteriów zawartych w klasyfikacjach WHO i WHO-EORTC, jak również w oparciu o wykonane odczyny immunohistochemiczne, które nie były dostępne w momencie ustalenia pierwotnego rozpoznania. Cztery chłoniaki nieziarnicze / indolentne chłoniaki nieziarnicze z komórek B zaklasyfikowano jako C-MALT na podstawie obrazu histologicznego klasycznej postaci C-MALT oraz ekspresji antygenu limfocytów B (CD20) i braku ekspresji antygenów typowych dla innych chłoniaków: markerów komórek ośrodków rozmnażania (CD10 i bcl-6), cyklinyD1 (MCL) i CD23, CD5 (CLL). Dwa chłoniaki nieziarnicze ze względu na rozlany naciek złożony z dużych limfocytów, ekspresję antygenu CD20 oraz wcześniejsze potwierdzone histologicznie zajęcie węzłów chłonnych zreklasyfikowano jako DLBCL. Ponadto rozpoznano w jednym przypadku T-LBL, ze względu na głównie okołonaczyniowy naciek złożony z komórek blastycznych, ekspresję tdt i markerów limfocytów T (CD3 i CD4); BL ze względu na obraz porównywany do rozgwieżdżonego nieba, ekspresję antygenów CD20, bcl-6, CD10 oraz aktywność proliferacyjną bliską 100%; AILT ze względu na obraz histologiczny zajętego węzła chłonnego i immunofenotyp.

W 5 przypadkach zreklasyfikowano rozpoznania pierwotne na podstawie aktualnie obowiązujących klasyfikacji. W dwóch przypadkach plasmocytoma zreklasyfikowano jako C-MALT. C-MALT (wariant plazmocyтары) wcześniej był diagnozowany jako plasmocytoma [1]. W dwóch przypadkach rozpoznano C-FL w miejsce wcześniej rozpoznanych *small cleaved follicular lymphoma* (klasyfikacja Lukes-Collins) oraz *lymphoma centrocyticum/centroblasticum* (klasyfikacja kilońska) [6]. W jednym przypadku *lymphoma malignum centrocyticum* (klasyfikacja kilońska) [6] rozpoznano MALT ze względu na wcześniejsze rozpoznanie zajęcia śledziony, ekspresję CD20 i brak ekspresji CD23, CD5, cyklinyD1, bcl-6 i CD10.

W 4 przypadkach dokonano zmiany przynależności liniowej chłoniaków. Jednego chłoniaka B-komórkowego zreklasyfikowano jako T-komórkowego- C-ALCL na podstawie immunofenotypu: CD3+, CD30+, CD20-, ALK1-. Trzy chłoniaki rozpoznane pierwotnie jako T-komórkowe zreklasyfikowano jako B-komórkowe: dwa jako C-MALT i jednego jako DLBCL. W przypadku C-MALT rozpoznanie potwierdzono



CD8+ oraz pierwotnego skórno-łoniaka z limfocytów  $\gamma\delta$ . W pierwszym przypadku stwierdzono rozlany naciek w obrębie skóry właściwej i tkanki podskórnej z wyraźnym epidermotropizmem i martwicą pojedynczych keratynocytów oraz ekspresję antygenów CD3 i CD8, przy braku ekspresji antygeny CD4. W drugim przypadku naciek w skórze właściwej z epidermotropizmem, złożony z średniej wielkości i dużych limfocytów oraz immunofenotyp: CD3+, CD4-, CD8-, CD56+ przemawiają raczej za rozpoznaniem pierwotnego skórno-łoniaka z limfocytów  $\gamma\delta$ .

W 2 przypadkach zmianę odczynową oraz zmianę rozpoznaną jako polekową lub MF zaklasyfikowano jako MF. Diagnoza we wczesnym etapie MF jest często trudna ze względu na nakładanie się cech łagodnych dermatoz lub niezgodność obrazu klinicznego i morfologicznego, jak również kontrowersje dotyczące ustalenia punktu odcięcia dla rozpoznania wczesnej fazy MF i związku z przyłuszczyką plackowatą drobno- i wielkoogniskową (*small i large patch parapsoriasis*, SPP, LPP) [66]. Rozpoznanie wczesnej postaci MF stanowi jeden z największych problemów w dermatopatologii z około 40% wyników fałszywie ujemnych i 44% wyników fałszywie dodatnich [67]. Ponieważ badania mające na celu wyodrębnienie diagnostycznych cech morfologicznych przyniosły różne, niejednokrotnie sprzeczne rezultaty [66, 67, 68, 69], pod auspicjami *International Society for Cutaneous Lymphoma* (ISCL) opracowana została propozycja algorytmu diagnostycznego dla wczesnych postaci klasycznego MF uwzględniająca nie tylko obraz morfologiczny, ale także obraz kliniczny oraz immunofenotyp i wyniki badań molekularnych. W algorytmie tym (tabela 30) rozpoznanie MF wymaga uzyskania 4 punktów za dowolną kombinację cech klinicznych, morfologicznych, immunofenotypowych lub molekularnych [15, 66]. Algorytm ten jest zalecany również przez EORTC [15].

2 lata po opublikowaniu algorytmu diagnostycznego ISCL ukazała się pierwsza praca prezentująca doświadczenia z zastosowaniem algorytmu w diagnostyce wczesnych postaci MF w oparciu o ocenę 72 pacjentów ze zmianami klinicznie podejrzanymi w kierunku przyłuszczycy (*parapsoriasis*)/ wczesnego stadium MF, spełniającymi kliniczne kryteria ISCL. Najistotniejsze sugestie autorów dotyczące zastosowania algorytmu to stwierdzenie, iż rozpoznanie wczesnej postaci MF opiera się głównie o obraz kliniczny i histologiczny. Techniki specjalne, jak immunohistochemia i badania molekularne wniosły dodatkowe informacje o znaczeniu diagnostycznym w nielicznych przypadkach. W rutynowej diagnostyce spośród technik dodatkowych w pierwszej kolejności lepiej stosować immunohistochemię. W części przypadków pomocne może być poszerzenie

panelu przeciwciał o marker limfocytów cytotoksycznych (CD56). W przypadkach z liczbą punktów poniżej 4 zaleca się wykonanie powtórnej biopsji [70]. Kolejne biopsje od tych samych pacjentów niejednokrotnie wykazują odmienne obrazy histologiczne [67, 70], co może stanowić również pewną wskazówkę diagnostyczną [70].

Tabela 30. Algorytm diagnostyczny dla wczesnych postaci klasycznego MF wg ISCL [15, 66].

KRYTERIA	SYSTEM PUNKTOWANIA
<p><b>KLINICZNE</b></p> <p><b>PODSTAWOWE</b> Przetrwałe i/lub progresywne zmiany typu <i>patch/ plaque</i></p> <p><b>DODATKOWE</b> 1/lokalizacja na skórze osłoniętej 2/różnorodność kształtu/ wielkości 3/poikiloderma</p> <p><b>HISTOPATOLOGICZNE</b></p> <p><b>PODSTAWOWE</b> Powierzchnowy naciek limfocytarny</p> <p><b>DODATKOWE</b> 1/epidermotropizm 2/atypia limfocytów</p> <p><b>MOLEKULARNE</b> 1/klonalna rearanżacja genów TCR</p> <p><b>IMMUNOFENOTYPOWE</b> 1/&lt;50% CD2+, CD3+ i/lub CD5+ komórek 2/&lt;10% CD7+ komórek 3/niezgodność ekspresji w składowych naskórkowej i dermalnej antygenów CD2, CD3, CD5 lub CD7</p>	<p><b>2 punkty</b> za podstawowe kryterium i dwa dodatkowe kryteria <b>1 punkt</b> za podstawowe kryterium i jedno dodatkowe kryterium</p> <p><b>2 punkty</b> za podstawowe kryterium i dwa dodatkowe kryteria <b>1 punkt</b> za podstawowe kryterium i jedno dodatkowe kryterium</p> <p><b>1 punkt</b> za klonalność</p> <p><b>1 punkt</b> za jedno lub więcej kryteriów</p>

W zreklasyfikowanych przypadkach posłużono się algorytmem ISCL uzyskując sumarycznie 4 punkty: 1 punkt za obraz kliniczny (przetrwałe zmiany typu *patch* zlokalizowane na skórze osłoniętej), 2 punkty za obraz histologiczny (obfity pasmowaty naciek limfocytarny z ogniskowym epidermotropizmem i atypią limfocytów) oraz 1 punkt za immunofenotyp (utrata ekspresji antygeny CD7).

## 6.4. Lokalizacja zmian

Lokalizacja zmian skórnych w pierwotnych chłoniakach skórnych w badanej grupie była zbliżona do obserwowanych w populacji amerykańskiej [11]. Pierwotne chłoniaki skórne w obu grupach najczęściej lokalizowały się w obrębie skóry kończyn, następnie na tułowiu oraz głowie i szyi. Lokalizacja zmian w pierwotnych chłoniakach T-komórkowych i B-komórkowych także była podobna w materiale własnym i w badaniach amerykańskich: dla chłoniaków T-komórkowych najczęstsze było umiejscowienie w obrębie skóry kończyn, a następnie tułowia oraz głowy i szyi, podczas gdy w chłoniakach B-komórkowych najczęstsza była lokalizacja w obrębie skóry głowy i szyi, a następnie tułowia i kończyn [11]. Porównanie lokalizacji zmian w poszczególnych jednostkach chorobowych przedstawia tabela 31.

Zaobserwowano różnice w lokalizacji chłoniaków wtórnie zajmujących skórę w badanej grupie i populacji amerykańskiej. W badanej grupie wtórne chłoniaki najczęściej lokalizowały się na skórze tułowia (6 przypadków, 50%), następnie na skórze kończyn (4 przypadki, 33,3%) oraz głowie i szyi (2 przypadki, 16,6%). Natomiast według danych amerykańskich najczęstszą lokalizacją chłoniaków wtórnie zajmujących skórę była głowa i szyja (30 przypadków, 57,5%), a następnie kończyny (16 przypadków, 30,8%) i tułów (6 przypadków, 11,5%) [11]. Różnice te mogą być w części spowodowane odmiennymi typami chłoniaków wtórnie zajmujących skórę w porównywanych grupach: w materiale własnym były to zarówno chłoniaki B- jak i T-komórkowe, podczas gdy dane amerykańskie uwzględniają jedynie chłoniaki B-komórkowe wtórnie zajmujące skórę.



Tabela 31. Porównanie częstości lokalizacji zmian w pierwotnych chłoniakach skórnych w badanej grupie i danych amerykańskich.

Jednostka	Lokalizacja zmian w badanej grupie Liczba przypadków (% *)			Lokalizacja zmian w populacji amerykańskiej [11] Liczba przypadków (%*)		
	głowa i szyja	tułów	kończyny	głowa i szyja	tułów	kończyny
Ziarniniak grzybiasty (MF)	4 (17,4)	6 (26)	<b>13 (56,5)</b>	42 (5,2)	<b>371 (45,8)</b>	357 (44,1)
Pierwotny skórny anaplastyczny chłoniak z dużych komórek (C-ALCL)	1 (11,1)	2 (22,2)	<b>6 (66,6)</b>	73 (24,3)	60 (19,9)	<b>163 (54,2)</b>
<i>Lymphomatoid papulosis</i> (LyP)		1 (20)	<b>4 (80)</b>			
Zespół Sezary'ego (SS)		1 (100)		0	<b>2 (40)</b>	1 (20)
Primary cutaneous gamma delta T-cell lymphoma	1 (100)			-	-	-
Białaczka/ chłoniak T-komórkowy dorosłych (ATLL)		1 (50)	1 (50)			2 (100)
Pierwotny skórny chłoniak B-komórkowy strefy brzeżnej (C-MALT)	5 (31,25)	<b>8 (50)</b>	3 (18,75)	<b>98 (41,7)</b>	62 (26,4)	73 (31,1)
Pierwotny chłoniak grudkowy skóry (C-FL)	<b>9 (100)</b>			<b>231 (77,5)</b>	45 (15,1)	22 (7,4)
Pierwotnie skórny rozlany chłoniak z dużych komórek B, typu kończyny dolnej (C-DLBCL)	2 (28,6)	1 (14,3)	<b>4 (57,1)</b>	<b>188 (45,3)</b>	80 (19,3)	145 (34,9)
Lymphomatoid granulomatosis	1 (50)		1 (50)	-	-	-

\*odsetek poszczególnych jednostek pierwotnych chłoniaków skórnych z dostępnymi danymi odnośnie lokalizacji zmian

Pogrubioną czcionką zaznaczono najczęstszą lokalizację dla poszczególnych typów chłoniaków.

## 6.5. Porównanie liczby komórek dendrytycznych wykazujących ekspresję poszczególnych antygenów

W badanej grupie na terenie nacieku nowotworowego najniższa była średnia liczba niedojrzałych komórek Langerhansa (CD207 /Langerin+). Średnia liczba komórek wykazujących ekspresję antygenów S100 i CD1a (komórki dendrytyczne) była zbliżona, lecz wyższa od liczby komórek wykazujących ekspresję CD207 (Langerin), co świadczy o obecności również populacji skórnych komórek dendrytycznych. Natomiast najwyższa była średnia liczba makrofagów i/lub plazmacytoidnych komórek dendrytycznych

(CD68+). Przeciwnie relacje przedstawiały się w obrębie naskórka. Najniższa była średnia liczba makrofagów i/lub plazmacytoidnych komórek dendrytycznych (CD68+), następnie średnia liczba komórek wykazujących ekspresję białka S100, kolejno liczba komórek Langerhansa (CD207/Langerin+), natomiast najwyższa była średnia liczba komórek dendrytycznych (CD1a+).

W pracy Modlin i wsp. porównując ekspresję CD1a i S100 u pacjentów z trądem wykazali, że oba przeciwciała znakują komórki dendrytyczne, ale w różnej liczbie w obrębie naskórka i skóry właściwej. Liczba komórek wykazujących ekspresję CD1a była w większości wyższa od komórek S100+ na terenie naskórka, podczas gdy w obrębie skóry obserwowali odwrotną zależność. Oba przeciwciała znakują komórki o morfologii dendrytycznej, jednak w różnej liczbie, co może świadczyć o istnieniu dwóch fenotypowo różnych populacji tych komórek [71]. W badanej grupie obserwowano podobną zależność liczby komórek w obrębie naskórka, natomiast w obrębie skóry właściwej średnia liczba komórek wykazujących ekspresję CD1a i S100 była zbliżona.

Podobny do badanej grupy wynik uzyskali w pracy Smolle i wsp. porównując m.in. ekspresję CD1a i S100 w skórnych chłoniakach B- i T-komórkowych. W chłoniakach T-komórkowych liczba komórek CD1a+ i S100+ była zbliżona, co wskazuje, że większość stanowiły komórki Langerhansa. Natomiast w 8 spośród 17 chłoniaków B-komórkowych komórki S100+ były liczniejsze od CD1a+, co sugeruje obecność drugiej populacji komórek [72].

Schlapbach i wsp. porównali ekspresję m.in. CD1a, CD207 (Langerin) i CD68 w zdrowej skórze oraz MF i SS na terenie naskórka i w obrębie skóry właściwej [62], uzyskując podobne wyniki, jak w niniejszej pracy. Udział komórek wykazujących ekspresję tych trzech antygenów w prawidłowej skórze był podobny jak w MF i SS [62]. Podobny udział komórek, jak w materiale własnym, wykazujących ekspresję CD207 (Langerin) i CD1a wykazali Luftl i wsp. w MF i zdrowej skórze [55]. Również w pracy Carbonnelle i wsp. w C-MALT i C-FL średni odsetek komórek na terenie nacieku wykazujących ekspresję CD1a był niższy niż komórek CD68+ [73]. Podobnie w pracy Christie i wsp. średnia liczba komórek wykazujących ekspresję CD1a była wyższa od komórek CD207/(Langerin) + na terenie nacieku w C-MALT [51].

Wyniki te pośrednio potwierdzają tendencję do komplementarnego rozmieszczenia w tkankach makrofagów i komórek dendrytycznych. W skórze większość komórek dendrytycznych lokalizuje się w naskórku, natomiast większość makrofagów w tkance łącznej skóry właściwej. W węzłach chłonnych makrofagi lokalizują się głównie

zatokach i tkance łącznej, a komórki dendrytyczne w strefach limfocytów B i T. Taka dystrybucja komórek wiąże się z ich rolą: makrofagi są najliczniejsze w miejscach, gdzie funkcja fagocytarna jest ważna, a komórki dendrytyczne w miejscach, gdzie mogą wchodzić w kontakt z zewnątrzpochodnymi antygenami lub uczestniczyć w promowaniu reakcji immunologicznej [54].

## **6.6. Liczba komórek dendrytycznych w chłoniakach pierwotnych i wtórnych**

W materiale własnym stwierdzono istnienie statystycznie istotnych różnic w liczebności komórek wykazujących ekspresję antygenów S100, CD1a i CD207 (Langerin) na terenie nacieku nowotworowego pomiędzy pierwotnymi a wtórnymi chłoniakami skóry. Średnia liczba komórek dendrytycznych i Langerhansa /1mm<sup>2</sup> na terenie nacieku nowotworowego była wyższa w chłoniakach pierwotnych. Wykazano również statystycznie istotne różnice w liczebności komórek wykazujących ekspresję antygeny CD68 w obrębie naskórka pomiędzy pierwotnymi a wtórnymi chłoniakami skóry. Średnia liczba komórek (makrofagów i/lub plazmacytoidnych komórek dendrytycznych) wykazujących ekspresję CD68 była wyższa w chłoniakach pierwotnych. Stwierdzona większa liczba komórek dendrytycznych na terenie nacieku nowotworowego w pierwotnych chłoniakach skórnych w porównaniu do chłoniaków wtórnie zajmujących skórę mogłaby sugerować ich udział w powstawaniu pierwotnych chłoniaków skórnych.

Dostępne w piśmiennictwie dane są skąpe, w związku z tym trudno jest odnieść wyniki uzyskane w niniejszej pracy do wyników innych autorów. Pimpinelli i wsp. wykazali obecność komórek dendrytycznych ośrodków rozmnażania zarówno immunohistochemicznie (DRC-I +/- C3br+), jak ultrastrukturalnie w B-komórkowych chłoniakach zajmujących wtórnie skórę; przebadany przez tych autorów materiał obejmował jedynie 5 przypadków. Znalezione komórki w większości przypadków tworzyły struktury przypominające pozostałości ośrodków rozmnażania, nawet w obszarach bez morfologicznie widocznych ośrodków rozmnażania. W pracy tej nie oceniano jednak liczby komórek dendrytycznych [74].

Natomiast Schmutt i wsp. oceniali półilościowo obecność komórek wykazujących ekspresję CD1a m.in. w skórnych chłoniakach B- i T-komórkowych. We wszystkich przebadanych chłoniakach T-komórkowych wykazali obecność licznych komórek

dendrytycznych. W większości chłoniaków B-komórkowych, w tym 13 chłoniaków systemowych i 10 pierwotnych chłoniaków skórnych nie stwierdzili obecności lub stwierdzili jedynie rozproszone komórki CD1a+. W cytowanej pracy brakuje bliższych danych na temat typów chłoniaków [61].

## **6.7. Liczba komórek dendrytycznych w chłoniakach B- i T-komórkowych**

W badanej grupie wykazano statystycznie istotne różnice w liczebności komórek wykazujących ekspresję antygenów CD1a, CD207 (Langerin) i CD68 na terenie nacieku nowotworowego pomiędzy chłoniakami B- i T-komórkowymi. Średnia liczba komórek dendrytycznych i Langerhansa była wyższa w chłoniakach T-komórkowych niż w chłoniakach B-komórkowych. Natomiast średnia liczba makrofagów i/lub plazmacytoidnych komórek dendrytycznych (CD68+) na terenie nacieku nowotworowego była niższa w chłoniakach T-komórkowych w porównaniu do chłoniaków B-komórkowych. Nie wykazano natomiast statystycznie istotnych różnic w liczbie komórek wykazujących ekspresję antygeny S100 na terenie nacieku nowotworowego pomiędzy chłoniakami B- i T-komórkowymi. Natomiast w obrębie naskórka stwierdzono statystycznie istotne różnice w liczbie komórek wykazujących ekspresję antygenów S100 i CD68 pomiędzy chłoniakami B- i T-komórkowymi. Średnia liczba komórek wykazujących ekspresję antygeny S100 w obrębie naskórka była niższa w chłoniakach T-komórkowych niż B-komórkowych, natomiast średnia liczba komórek wykazujących ekspresję CD68 w obrębie naskórka była wyższa w chłoniakach T-komórkowych niż w chłoniakach B-komórkowych. Nie wykazano natomiast statystycznie istotnych różnic pomiędzy chłoniakami B- i T-komórkowymi w liczbie komórek wykazujących ekspresję antygenów CD1a i CD207 (Langerin) w obrębie naskórka. Zagadnienie to było uprzednio badane przez innych badaczy.

Smolle i wsp. oceniali liczbę komórek wykazujących ekspresję antygenów CD1a, S100, anti-DRC i OKM1 (CD11b) w skórnych chłoniakach B- i T-komórkowych oraz zmianach typu *pseudolymphoma*. Praca ta oparta była na odczynach wykonywanych w preparatach mroźkowych, co mogło wpływać na otrzymane wyniki. Liczbę komórek dendrytycznych oceniano półilościowo jako: - (brak pozytywnych komórek), + (nieliczne

dotądnie komórki, ogniskowo rozmieszczone), ++ (liczne pozytywne komórki, regularnie rozmieszczone) i +++ (liczne komórki dodatnie, stanowiące znaczącą część nacieku).

W omawianej pracy stwierdzono, iż komórki Langerhansa (S100+ / CD1a+) w chłoniakach T-komórkowych były liczniejsze w porównaniu do chłoniaków B-komórkowych. Ponadto w chłoniakach B-komórkowych komórki S100+ często były liczniejsze od komórek CD1a+ (śródmiaższowe komórki dendrytyczne). Dendrytyczne komórki grudkowe były ograniczone do ośrodków rozmnażania. We wszystkich badanych w tej pracy zmianach limfoproliferacyjnych występowały makrofagi, liczniejsze w zmianach typu *pseudolymphoma* niż w chłoniakach, liczniejsze w chłoniakach B-komórkowych niż T-komórkowych. W chłoniakach B-komórkowych o wysokiej agresywności makrofagi stanowiły jedyne komórki na terenie nacieku nienależące do linii limfocyta [72]. Uzyskane we własnym materiale wyniki były zbliżone do wyników Smolle i wsp. z wyjątkiem liczby komórek S100+, która była wyższa w chłoniakach T-komórkowych. Różnice te mogą jednak wynikać z różnic metodycznych, w tym innego materiału do badania immunohistochemicznego, a także sposobu oceny liczby komórek.

Pigozzi i wsp. oceniali rozmieszczenie komórek wykazujących ekspresję CD1a i CD3 oraz pólnościowo ich liczebność ( w skali: brak, niska, umiarkowana, silna ekspresja). Materiał stanowiła prawidłowa skóra oraz skórne chłoniaki B- i T-komórkowe. Także w tej pracy posługiwano się materiałem mroźakowym. W skórze prawidłowej komórki CD1a+ tworzyły sieć w obrębie naskórka; nie wykazano natomiast ich obecności w obrębie skóry właściwej. Wśród chorób limfoproliferacyjnych wykazano wysoką ekspresję CD1a w większości chłoniaków T-komórkowych zarówno w obrębie naskórka, jak i w skórze właściwej, natomiast komórki te były nieliczne w chłoniakach B-komórkowych [60].

Uzyskane we własnym materiale wyniki były zbliżone do wyników Pigozzi i wsp. na terenie nacieku nowotworowego. Natomiast w niniejszej grupie wykazano w obrębie naskórka zbliżoną liczbę komórek CD1a+ w chłoniakach B- i T-komórkowych, podczas gdy Pigozzi i wsp. wykazali wyższą liczbę komórek CD1a w chłoniakach T-komórkowych niż B-komórkowych. Różnice te podobnie jak poprzednio mogą wynikać z różnic metodycznych.

W pracy Der-Petrossian i wsp. oceniano liczbę komórek CD207/Langerin+ w skórze właściwej i w obrębie naskórka w 55 przypadkach pierwotnych skórnych chłoniaków T-komórkowych i 10 przypadkach B-komórkowych. W pracy tej posłużono

się w materiale z kostek parafinowych. Autorzy pracy wykazali w chłoniakach T-komórkowych z cechami epidermotropizmu obecność licznych komórek CD207 (Langerin) + na terenie nacieku w skórze właściwej. Natomiast nie stwierdzili obecności komórek CD207 (Langerin) + w chłoniakach T-komórkowych, w których epidermotropizm nie występował. Nie stwierdzili również obecności komórek CD207 (Langerin) + w żadnym z chłoniaków B-komórkowych [75]. W materiale własnym stwierdziłam podobną relację, jeśli idzie o liczebność komórek CD207/Langerin+ w chłoniakach B- i T-komórkowych.

Schmuth i wsp. oceniali liczbę komórek dendrytycznych CD1a+ w skórnych chłoniakach B- i T komórkowych zarówno pierwotnych, jak i wtórnych, przy wykorzystaniu materiału mrożakowego i skali półilościowej. Wykazano obecność licznych komórek dendrytycznych we wszystkich przebadanych chłoniakach T-komórkowych i zmianach typu *pseudolymphoma*, przy braku lub jedynie rozproszonych komórkach CD1a+ w większości chłoniaków B-komórkowych (13 chłoniaków systemowych, 10 pierwotnych chłoniaków skórnych). Autorzy nie określili bliżej typów chłoniaków. Co ciekawe, autorzy stwierdzili, że w przypadku chłoniaków B-komórkowych wykazujących obecność rozproszonych komórek CD1a+ komórki te ograniczone były do obszarów zawierających liczne limfocyty T [61].

Wyniki otrzymane w pracy Schmuth i wsp. były porównywalne do otrzymanych w materiale własnym.

Stwierdzona w materiale własnym, jak również obserwowana w innych pracach [60, 61, 72, 75] większa liczba komórek dendrytycznych i/lub Langerhansa na terenie nacieku nowotworowego w skórnych chłoniakach T-komórkowych w porównaniu do chłoniaków B-komórkowych może sugerować, że w rozwoju skórnych chłoniaków T-komórkowych aktywnie uczestniczą komórki dendrytyczne; alternatywnie można uważać to zjawisko za odtworzenie prawidłowych stosunków pomiędzy limfocytami T a komórkami prezentującymi antygen.

## 6.8. Liczba komórek dendrytycznych w poszczególnych jednostkach chłoniaków

### 6.8.1. Mycosis fungoides

Najwięcej prac poświęconych jest ocenie komórek dendrytycznych w MF, co jest z pewnością podyktowane dużą częstością tej jednostki chorobowej, a także tym, że jest ona najlepiej poznana. W większości tych prac oceniano komórki dendrytyczne ilościowo.

Najwcześniejsze prace identyfikowały komórki dendrytyczne ultrastrukturalnie. Zastosowanie tej metody ogranicza możliwości uzyskania danych ilościowych, a także utrudnia przebadanie większej liczby przypadków. W badaniach mikroskopowo-elektronowych wykazano obecność licznych komórek Langerhansa oraz komórek nieokreślonych (*indeterminate*) w naskórku w SPP, LPP, zmianach prekursorowych (typu *premycoticum*) i samym MF. Komórki Langerhansa znajdowały się w bezpośrednim sąsiedztwie limfocytów, miejscami z widocznym przyleganiem błon obu typów komórek, co sugeruje związek czynnościowy. W miejscach kontaktu komórek Langerhansa z keratynocytami często obserwowano ziarnistości w cytoplazmie komórek Langerhansa. We wszystkich przypadkach stwierdzono obecność ciałek średnicy 85-150nm z rdzeniem o zmiennej gęstości elektronowej w komórkach Langerhansa i komórkach nieokreślonych oraz niektórych limfocytach. Ciała te mogą mieć charakter wirusowy, jednak mogą również stanowić inne organella o podobnej wielkości i strukturze (np. pęcherzyki czy pierwotne lizosomy) [17].

Fivenson i wsp. obserwowali w MF na terenie nacieku rozległą sieć komórek dendrytycznych (Thy-1+/ czynnik XIIIa+/ S100-/ CD1a-/MAC387-/KP-1-), przypominających skórne komórki dendrytyczne w warstwie brodawkowej skóry właściwej. Liczba komórek Thy-1+ wzrastała w późniejszych fazach choroby [76].

Fujita i wsp. oceniali liczbę komórek wykazujących ekspresję antygenów CD1a i Lag u ośmiu pacjentów z ziarniniakiem grzybiastym w porównaniu do prawidłowej skóry. Posłużyli się preparatami mroźkowymi. W zdrowej skórze, w obrębie naskórka liczba komórek wykazujących ekspresję CD1a i Lag była równa, natomiast w MF liczba komórek wykazujących ekspresję Lag stanowiła zaledwie połowę liczby komórek wykazujących ekspresję CD1a. W obrębie skóry właściwej w zdrowej skórze komórki wykazujące ekspresję CD1a i Lag były nieliczne, natomiast ich liczba była znacząco

wyższa w MF. W MF, również w skórze właściwej liczba komórek wykazujących ekspresję Lag była niższa niż wykazujących ekspresję CD1a [77].

W cytowanej powyżej pracy Smolle i wsp. wykazano obecność licznych komórek S100+, OKT6 (CD1a)+ i OKMI (CD11b)+ w MF i SS [72]. Również Pigozzi i wsp. wykazali wysoką ekspresję CD1a+ w stadium rumieniowym (*patch*)/ naciekowym (*plaque*) ziarniniaka grzybiastego oraz *parapsoriasis* [60]. Der-Petrossian i wsp. wykazali wysoką liczebność komórek CD207 (Langerin) + (porównywalną lub nieznacznie mniejszą od gęstości komórek CD207 (Langerin) + w naskórku) na terenie nacieku nowotworowego w skórze właściwej w *mycosis fungoides* (38 przypadków) [75].

Podobne rezultaty uzyskali Bani i Giannotti. Autorzy ci oceniali obecność komórek dendrytycznych w preparatach mrożakowych od 10 pacjentów z MF. Stwierdzili obecność licznych komórek wykazujących ekspresję CD11c lub CD1a w obrębie naskórka i na terenie nacieku nowotworowego. Komórki wykazujące ekspresję CD11c były liczniejsze w porównaniu do komórek CD1a+. Komórki wykazujące ekspresję CD1a zlokalizowane były głównie w górnych warstwach naskórka, podczas gdy komórki CD11c+ występowały we wszystkich jego warstwach. Oba typy komórek były liczniejsze w stadium rumieniowym (*patch*) i wczesnym naciekowym (*plaque*), a w bardziej zaawansowanych stadiach obserwowano jedynie rozproszone komórki. Liczne komórki dendrytyczne wykazano również w mikroskopie elektronowym [78].

W pracy uwzględniającej 46 pacjentów z MF Goteri i wsp. oceniali liczbę komórek CD1a+ i limfocytów T CD8+ półilościowo. Dane te zostały odniesione do gęstości nacieku limfocytarnego w skórze, stopnia epidermotropizmu, wieku, zaawansowania klinicznego, odpowiedzi na leczenie i obecności nawrotów. W 21 przypadkach komórki CD1a tworzyły drobne grupy, w 14 przypadkach większe skupienia, a w 11 były rozmieszczone pojedynczo. Autorzy wykazali związek pomiędzy liczbą komórek CD1a+ i CD8+ w skórze a gęstością nacieku nowotworowego w skórze właściwej. Gęstość tych komórek była niższa przy mniej intensywnym nacieku, wyższa przy intensywniejszym nacieku; nie obserwowali natomiast takich różnic w odniesieniu do gęstości wewnątrzskórkowych komórek dendrytycznych. Nie wykazali też związku liczby komórek CD1a+ z odpowiedzią na leczenie, ani ryzykiem nawrotu [79].

Schwingshackl i wsp. oceniali obecność komórek dendrytycznych u 19 pacjentów z MF i 6 z SS. W swej pracy posłużyli się preparatami mrożakowymi, a wyniki oceniali w skali półilościowej w porównaniu do zdrowej skóry: 0-liczba porównywalna do zdrowej skóry, - nieznacznie mniejsza liczba, +/- nieznacznie wyższa liczba, +



umiarkowanie i ++ znacznie zwiększona liczba komórek dendrytycznych w porównaniu do zdrowej skóry. Autorzy oceniali ilość i rozmieszczenie komórek plazmacytoidnych (CD303/BDCA-2+), komórek Langerhansa (CD207 /Langerin+), skórnych komórek dendrytycznych (CD209/DC-SIGN+) oraz ekspresję markerów dojrzałości: CD83 i DCD208/DC-LAMP. Stwierdzili zwiększenie liczby komórek plazmacytoidnych, komórek Langerhansa i skórnych komórek dendrytycznych w porównaniu do zdrowej skóry w MF i SS. Większość komórek dendrytycznych cechował immunofenotyp komórek niedojrzałych. Komórki plazmacytoidne były nieregularnie rozmieszczone na terenie nacieku nowotworowego, nieliczne komórki były również zlokalizowane w dolnych warstwach naskórka. Komórki Langerhansa lokalizowały się głównie w górnych warstwach naskórka, jak również w obrębie skóry właściwej, gdzie tworzyły skupienia lub leżały pojedynczo. Skórne komórki dendrytyczne lokalizowały się głównie w górnych warstwach skóry właściwej, a ich liczba stopniowo zmniejszała się w głąb skóry. Komórki te nie występowały w obrębie naskórka [58].

Zeybek i wsp. stwierdzili statystycznie istotnie zwiększoną liczbę komórek Langerhansa i skórnych komórek dendrytycznych (CD1a+) oraz makrofagów (CD68+) w SPP w porównaniu do zdrowej skóry [53].

Ze względu na półilościową ocenę komórek dendrytycznych w powyższych pracach, jak również zastosowanie różnych markerów nie jest możliwe bezpośrednie porównanie z wynikami uzyskanymi w materiale własnym.

Jedynie w czterech pracach dokonano oceny ilościowej komórek dendrytycznych w MF.

Fivenson i Nickoloff w preparatach mroźkowych porównywali ekspresję antygenów CD1a, CD1b, CD1c i czynnika XIIIa w 16 przypadkach MF, 9 przypadkach łuszczycy i 7 wycinkach ze zdrowej skóry dorosłego pacjenta. W naskórku w skórze zdrowej komórki CD1b+ i CD1c+ były nieliczne, natomiast najliczniejsze były komórki CD1a+. Liczba komórek CD1b+ i CD1c+ w skórze i naskórku była zwiększona w MF w porównaniu do łuszczycy i zdrowej skóry. W MF stwierdzono również zwiększoną liczbę komórek wykazujących ekspresję CD1a i czynnika XIIIa+. Liczba komórek dendrytycznych podana została w 5 dużych polach widzenia bez określenia typu mikroskopu czy średnicy pola widzenia, co nie pozwala przeliczyć uzyskanych wyników/1mm<sup>2</sup> [80].

Meissner i wsp. oceniali liczbę komórek dendrytycznych CD1a+ w 29 przypadkach MF i 6 przypadkach SS na terenie naskórka i skóry w przeliczeniu / 1mm<sup>2</sup>. Liczba komórek wykazujących ekspresję CD1a w obrębie naskórka wynosiła od 16 do 297/1mm<sup>2</sup>, a od 7 do 471/1mm<sup>2</sup> w obrębie skóry właściwej [25]. Uzyskane w materiale własnym wyniki były zbliżone do uzyskanych przez Meissner i wsp. Liczba komórek wykazujących ekspresję CD1a w obrębie naskórka wynosiła od 5 do 170/1mm<sup>2</sup>, a od 4 do 610/1mm<sup>2</sup> w obrębie skóry właściwej.

Luftl i wsp. oceniali rozmieszczenie i liczbę komórek dendrytycznych w polu widzenia pod dużym powiększeniem (średnicy 0.4mm) u 16 pacjentów w stadium rumieniowym (*patch*) / naciekowym (*plaque*) MF, 7 pacjentów w stadium guzowatym MF i porównano ze skórą zdrową od 8 osób, posługując się preparatami mroźkowymi [55]. Wyniki w przeliczeniu/1mm<sup>2</sup> przedstawia tabela 32.

Tabela 32. Liczba i rozmieszczenie komórek dendrytycznych w przeliczeniu/1mm<sup>2</sup> w pracy Luftl i wsp. [55].

Lokalizacja	Marker	Średnia liczba komórek					
		CD207	Lag	CD1a	CD1c	DC-lamp	CD83
Naskórek	N	47,8	47,8	55,7	23,9	0	0
	P	79,6	71,7	87,6	71,7	15,9	15,9
	T	63,7	55,7	87,6	63,7	23,9	15,9
Skóra właściwa-górna część	N	8	8	23,9	39,8	8	0
	P	63,7	71,7	111,5	111,5	79,6	71,7
	T	111,5	71,7	175,2		119,4	103,5
Skóra właściwa-dolna część	N	0	0	0	8	0	0
	P	8	8	15,9	15,9	8	8
	T	47,8	31,8	167,2	167,2	119,4	119,4

N-prawidłowa skóra, P- stadium rumieniowe (*patch*) / naciekowe (*plaque*) MF, T-stadium guzowate MF.

W pracy Luftl i wsp. liczba komórek dendrytycznych w MF była znacznie wyższa w porównaniu do zdrowej skóry. W stadium rumieniowym (*patch*) / naciekowym (*plaque*) MF w naskórku znajduje się duża liczba komórek dendrytycznych (CD1a+), w większości niedojrzałych, z których większość stanowią komórki Langerhansa (CD207(Langerin)+ i lag+). Część z tych komórek wykazuje cechy rozpoczętego procesu dojrzewania (koekspresja CD83, DC-lamp i CD1a), a część cechy dojrzałości (CD83+, DC-lamp+). W skórze właściwej znajdowały się liczne niedojrzałe komórki Langerhansa (CD1a+, lag+) lub dojrzałe komórki dendrytyczne, inne niż komórki

Langerhansa (CD83+, DC-lamp+). W stadium guzowatym liczba komórek dendrytycznych w skórze właściwej jest wyższa niż w stadium rumieniowym (*patch*) / naciekowym (*plaque*) MF, z wyjątkiem niedojrzałych komórek dendrytycznych w dolnych warstwach skóry właściwej, które nie wykazują ekspresji CD207 (Langerin) lub lag. W cytowanej pracy oceniano również komórki apoptotyczne. Liczba komórek apoptotycznych zarówno w obrębie naskórka, jak i na terenie skóry zwiększa się wraz z zaawansowaniem choroby. Komórki apoptotyczne znajdowano w bezpośrednim sąsiedztwie niedojrzałych komórek dendrytycznych, a obecność sfagocytowanych ciałek apoptotycznych wykazano jedynie w niedojrzałych komórkach dendrytycznych. Wraz z zaawansowaniem choroby stwierdzono zwiększoną liczbę komórek wykazujących silną ekspresję IL-10 [ 55].

Uzyskane we własnym materiale wyniki najbliższe były uzyskanym przez Luftl i wsp [55].

Schlapbach i wsp. analizowali 12 pacjentów z rozpoznaniem *mycosis fungoides* lub zespołu Sezary'ego; posłużyli się materiałem mrożakowym i wykorzystali szeroki wachlarz przeciwciał znakujących komórki dendrytyczne: marker niedojrzałych komórek dendrytycznych (CD1a), szpikowych komórek dendrytycznych (CD11c), skórnych komórek dendrytycznych (CD206), niedojrzałych komórek Langerhansa (CD207/Langerin), dojrzałych komórek dendrytycznych (CD208/DC-LAMP), niedojrzałych szpikowych komórek dendrytycznych, zwłaszcza skórnych komórek dendrytycznych (CD209/DC-SIGN) i plazmacytoidnych komórek dendrytycznych (CD303/BDCA-2) oraz marker makrofagów (CD68) i regulatorowych limfocytów T (FoxP3, CD25). Komórki wykazujące ekspresję poszczególnych markerów były liczone/1mm<sup>2</sup> w naskórku i skórze właściwej w wycinkach ze zmiany oraz skóry niezmięnionej przy użyciu automatycznego systemu analizy obrazu, jednak w pracy nie podano uzyskanych wartości liczbowych, co istotnie obniża wartość cytowanej pracy i uniemożliwia przeprowadzenie porównania.

W obrębie naskórka autorzy stwierdzili, w porównaniu do skóry niezmięnionej statystycznie istotne zwiększenie liczby jedynie makrofagów (CD68+). Obserwowali również względnie zwiększoną liczbę komórek wykazujących ekspresję CD11c, CD206, CD207 i CD209 w obrębie naskórka. Porównując bezwzględną liczbę komórek stwierdzono, że najwięcej komórek uwidoczniionych na terenie naskórka wykazywało ekspresję CD1a i CD207. Liczba tych komórek była porównywalna do naskórka skóry niezmięnionej.

W skórze właściwej w porównaniu do skóry niezmienionej wykazano istotne statystycznie zwiększenie liczby komórek wykazujących ekspresję wszystkich markerów komórek dendrytycznych i makrofagów. Spośród komórek dendrytycznych najliczniejsze były komórki wykazujące ekspresję CD209 i CD206. Na terenie zmian dominowały więc niedojrzałe skórne komórki dendrytyczne [62].

Z przedstawionych czterech prac, w których oceniano ilościowo komórki dendrytyczne, jedynie dwie pozwalają na porównanie z wynikami uzyskanymi w badanej grupie. Niemniej jednak dla wiarygodnego porównania konieczne byłoby wystandaryzowanie metodyki oznaczenia komórek dendrytycznych, jak również ich zliczania.

### **6.8.2. Inne niż *mycosis fungoides* skórne chłoniaki T-komórkowe**

Pigozzi i wsp. wykazali wysoką ekspresję CD1a w skórnym rozroście limfocytów T, *lymphomatoid papulosis*, dwóch z trzech przypadków C-ALCL zarówno w obrębie naskórka, jak i w skórze właściwej. Niską ekspresję CD1a wykazano w zespole Sezary'ego. W skórnym chłoniaku B-komórkowym i jednym przypadku C-ALCL komórki CD1a+ były nieliczne zarówno w skórze właściwej, jak i w obrębie naskórka [60].

Der-Petrossian i wsp. wykazali wysoką częstość występowania komórek CD207 (Langerin) + w pierwotnym skórnym chłoniaku pleomorficznym z małych i średniej wielkości limfocytów T CD4+ (3 przypadki), pierwotnych skórnym chłoniakach obwodowych T-komórkowych, nieokreślonych (3 przypadki) oraz 1 przypadku C-ALCL, cechującym się epidermotropizmem. W pozostałych przypadkach C-ALCL (5 przypadków) autorzy nie stwierdzili obecności komórek CD207 (Langerin) + w skórze właściwej. Komórek CD207 (Langerin) + nie stwierdzono również w LyP (3 przypadki), SPTL (2 przypadki), ani w żadnym z chłoniaków B-komórkowych [75].

Także w tym wypadku, ze względu na półilościową ocenę komórek dendrytycznych w powyższych pracach, jak również zastosowanie różnych markerów nie jest możliwe porównanie z wynikami uzyskanymi w materiale własnym.

### 6.8.3. Chłoniaki B-komórkowe

We wspomnianej już pracy Smolle i wsp. w przebadanych chłoniakach B-komórkowych komórki wykazujące ekspresję S100 i OKT6 (CD1a) były nieobecne lub nieliczne, natomiast liczne lub bardzo liczne komórki wykazujące ekspresję OKMI [72].

Der-Petrossian i wsp. nie stwierdzili obecności komórek dendrytycznych CD207 (Langerin) + na terenie skóry właściwej w żadnym z chłoniaków B-komórkowych (5 przypadków C-FL, 2 przypadki C-MALT, 2 przypadki C-DLBCL) [75].

Carbonelle i wsp. oceniali immunohistochemicznie komórki dendrytyczne w pierwotnych chłoniakach B-komórkowych skóry (19 C-FL i 10 C-MALT) oraz *pseudolymphoma* (16 przypadków) przy użyciu przeciwciał: CD1a, FXIIIa i CD68. Odsetek komórek wykazujących pozytywną reakcję oceniano metodą automatycznej analizy morfometrycznej. Wykazano porównywalny odsetek komórek CD1a+ i CD68+ w obu grupach, natomiast wyższy odsetek komórek FXIIIa+ w *pseudolymphoma* w porównaniu do chłoniaków B-komórkowych [73]. Podanie odsetka komórek zamiast bezwzględnej liczby nie pozwala na porównanie uzyskanych wyników z badaną grupą.

Praca Kutner i wsp. jest pierwszą publikacją, w której oceniano obecność skupień komórek plazmacytoidnych (CD123+) w skali półilościowej (jako - brak skupień komórek plazmacytoidnych, + 1 skupienie w polu widzenia do 50 komórek, ++ 2-5 skupień w polu widzenia, przynajmniej dwa z nich złożone z 50-100 komórek, +++ powyżej 5 skupień w polu widzenia lub przynajmniej trzy skupienia złożone z powyżej 100 komórek) w skórnych chłoniakach B-komórkowych (C-MALT, C-FL, C-DLBCL) i skórnych *B-pseudolymphoma*.

Skupienia komórek plazmacytoidnych autorzy stwierdzili we wszystkich analizowanych przypadkach C-MALT i 64% skórnych *B-pseudolymphoma*. Natomiast w C-FL skupienia komórek plazmacytoidnych stwierdzono jedynie w 13% przypadków, a w pozostałych przypadkach C-FL widoczne były nieliczne rozproszone komórki plazmacytoidne. W żadnym przypadku C-DLBCL nie stwierdzono obecności skupień komórek plazmacytoidnych. Różnice liczby skupień komórek plazmacytoidnych były istotne statystycznie pomiędzy wszystkimi badanymi grupami. Skupienia komórek plazmacytoidnych obserwowano zawsze w sąsiedztwie żyłek, często na obwodzie nacieku w sąsiedztwie plazmacytów i limfocytów T.

Komórki plazmacytoidne CD123+ wykazywały również ekspresję CD2AP, czułego i specyficznego markera plazmacytoidnych komórek dendrytycznych. W C-

MALT komórki plazmacytoidne CD123+ nie wykazywały ekspresji CD68. Brak koekspresji CD123 i CD68, która jest również obserwowana w nowotworowych proliferacjach komórek plazmacytoidnych (blastyczny plazmacytoidalny nowotwór z komórek dendrytycznych), a która prawidłowo występuje poza chłoniakami skórnymi mogłoby świadczyć o nieprawidłowym (a nawet nowotworowym) charakterze komórek plazmacytoidnych na terenie C-MALT. Ekspresję CD123 i CD2AP wykazywały również komórki śródbłonna żyłek na terenie lub w sąsiedztwie skupień komórek plazmacytoidnych. Komórki plazmacytoidne obserwowano w pobliżu skupień monoklonalnych plazmacytów i limfocytów T. Ich rozmieszczenie przypomina obserwowane w węzłach chłonnych i migdałkach, w których lokalizują się w sąsiedztwie limfocytów B i T, makrofagów i plazmacytów. Uważa się, że skupienia komórek plazmacytoidnych występujące w chorobie Kikuchi-Fujimoto, typie naczyńiowoszklistym choroby Castlemana i toczeniu mogą odgrywać rolę w patogenezie tych chorób. Poprzez produkcję IFN- $\alpha$  pobudzają limfocyty Th1 i cytotoksyczne. Z tego względu obecność komórek plazmacytoidnych w C-MALT może tłumaczyć wysoką liczbę limfocytów T na terenie nacieku (do 60% komórek) [57].

Praca Christie i wsp. jest pierwszą oceniającą ilościowo (jako liczba/1mm<sup>2</sup>) komórki wykazujące ekspresję CD207 (Langerin), DC-SIGN, BDCA-2, CD123, CD1a, CD83, DC-LAMP i czynnika XIIIa w C-MALT i *B-cell cutaneous lymphoid hyperplasia* w materiale parafinowym. Zarówno w C-MALT, jak i *B-cell cutaneous lymphoid hyperplasia* wykazano nieliczne komórki Langerhansa na terenie nacieku, natomiast liczne były skórne i plazmacytoidne komórki dendrytyczne, przy czym znacząco większą ich ilość stwierdzono w *B-cell cutaneous lymphoid hyperplasia*. Spośród tych dwóch grup komórek w obu zmianach liczniejsze były plazmacytoidne komórki dendrytyczne. W pracy wykazano również, że liczba dojrzałych komórek dendrytycznych (CD83+, DC-LAMP+) była wyższa w *B-cell cutaneous lymphoid hyperplasia* w porównaniu do C-MALT. Wyniki uzyskane w pracy Christie i wsp. przedstawia tabela 33 [51].

W materiale własnym uzyskano porównywalną średnią liczbę komórek w C-MALT na terenie nacieku CD1a+ (185,94 vs 178,4), jednak znacznie wyższą liczbę komórek CD207 (Langerin)+ (66,19 vs 17,39).

Tabela 33. Mediana (średnia) liczby komórek/1mm<sup>2</sup> w C-MALT i *B-cell cutaneous lymphoid hyperplasia* w pracy Christie i wsp. [51].

Marker	C-MALT	<i>B-cell cutaneous lymphoid hyperplasia</i>
<b>CD207 (Langerin)</b>	9,0 (17,39)	26,5 (28,86)
<b>DC-SIGN</b>	<b>1,0 (31,8)</b>	<b>97,0 (156,9)</b>
<b>BDCA-2</b>	<b>255,0 (257,3)</b>	<b>385,5 (462,6)</b>
<b>CD123</b>	147,0	349,0
<b>CD1a</b>	<b>128,0 (178,4)</b>	<b>298,0 (387,8)</b>
<b>DC-LAMP</b>	<b>55,0</b>	<b>110,5</b>
<b>CD83</b>	39,5	80,5
<b>FXIIIa</b>	145,5	212,5

Pogrubioną czcionką zaznaczono wyniki istotne statystycznie.

W materiale własnym, jak również w pracy Christie i wsp., w większości pierwotnych skórnych chłoniaków B-komórkowych (C-MALT, C-FL i C-DLBCL w materiale własnym, C-MALT u Christie i wsp.) wykazano obecność komórek CD207(Langerin)+ na terenie nacieku nowotworowego [51]. Natomiast w pracy Der-Petrossian i wsp. autorzy w żadnym z chłoniaków B-komórkowych nie stwierdzili obecności komórek dendrytycznych CD207 (Langerin) + na terenie skóry właściwej. Analizowany przez nich materiał obejmował 5 przypadków C-FL, 2 przypadki C-MALT, 2 przypadki C-DLBCL [75]. We wszystkich pracach wykorzystano najprawdopodobniej ten sam klon przeciwciała (Novocastra), w rozcieńczeniu 1:50 w pracy Der-Petrossian i wsp., a w rozcieńczeniu 1:100 w badanej grupie oraz Christie i wsp. Rozcieńczenie nie powinno mieć wpływu na wynik przy prawidłowej kontroli dodatniej. Istotne może być natomiast, że Der-Petrossian i wsp. wykorzystali do oceny mikroskop konfokalny, natomiast w badanej grupie i Christie i wsp. mikroskop świetlny [51, 75].

#### **6.8.4. Rokownicze znaczenie komórek dendrytycznych w chłoniakach skórnych**

Meissner i wsp. jako jedyni wykazali prognostyczne znaczenie liczby wewnątrzskórkowych komórek Langerhansa (CD1a+) w MF. Zgon pacjentów był statystycznie istotnie rzadszy u pacjentów z gęstością komórek Langerhansa w naskórku powyżej 90/1mm<sup>2</sup> [25].

W materiale własnym nie była możliwa ocena znaczenia rokowniczego liczby komórek dendrytycznych, jednak wykazano statystycznie istotne różnice w liczbie komórek dendrytycznych i Langerhansa na terenie nacieku pomiędzy chłoniakami indolentnymi i agresywnymi oraz chłoniakami indolentnymi i pośrednimi. Średnie liczby komórek wykazujących ekspresję S100, CD1a i CD207 (Langerin) były wyższe w chłoniakach indolentnych w porównaniu do chłoniaków agresywnych oraz indolentnych. Natomiast na terenie naskórka wykazano jedynie różnice w liczbie komórek wykazujących ekspresję CD68 pomiędzy chłoniakami indolentnymi i pośrednimi. Uzyskane wyniki świadczą o wpływie liczby komórek dendrytycznych w chłoniakach skórnych na ich zachowanie biologiczne, a pośrednio mogą również świadczyć o znaczeniu rokowniczym.

Również w chłoniakach systemowych wykazano znaczenie prognostyczne komórek dendrytycznych/ makrofagów. Obecność zwiększonej liczby komórek z linii monocytu/makrofaga w systemowych chłoniakach (w chłoniaku grudkowym, chłoniaku Hodgkina, angioimmunoblastycznym chłoniaku T-komórkowym) wiąże się z gorszą prognozą. Natomiast obecność licznych epitelioidnych histiocyty w rozlanym chłoniaku z dużych komórek B i chłoniakach T-komórkowych wiąże się z nieznacznie lepszą prognozą [21].

## **6.9. Liczba komórek dendrytycznych a cechy morfologiczne**

Spośród cech morfologicznych w piśmiennictwie porównywano z liczbą komórek dendrytycznych gęstość nacieku nowotworowego i/lub fazę choroby w MF, obecność epidermotropizmu i obecność folikulotropizmu.

### **6.9.1. Gęstość nacieku nowotworowego a komórki dendrytyczne**

We wspomnianych wcześniej pracach [55, 60, 76, 79] obserwowano zwiększenie gęstości nacieku komórek dendrytycznych wraz z gęstością nacieku nowotworowego i/lub fazy choroby w MF. Spostrzeżenia te potwierdza opis przypadku Tzu-Chun i wsp, w którym w stadium guzowatym MF zaobserwowano rozrost komórek Langerhansa symulujący histiocytozę z komórek Langerhansa. Natomiast w zmianach w stadium rumieniowym (*patch*) / naciekowym (*plaque*) tego samego pacjenta komórki CD1a+ ograniczone były głównie do naskórka i nieliczne w obrębie skóry właściwej [81].



Odmienne rezultaty uzyskali Bani i Giannotti, którzy wykazali, że wraz z zaawansowaniem choroby zmniejsza się liczba komórek dendrytycznych w MF [78]. W niniejszej pracy nie oceniano gęstości nacieku nowotworowego ani zaawansowania choroby, więc nie jest możliwe odniesienie się do tych rezultatów.

### **6.9.2. Epidermotropizm a komórki dendrytyczne**

W materiale własnym stwierdzono, że w zależności od obecności epidermotropizm występują statystycznie istotne różnice w liczbie komórek wykazujących ekspresję antygenów CD1a, CD207 (Langerin) i CD68 na terenie nacieku nowotworowego. Średnia liczba komórek wykazujących ekspresję antygenów CD1a i CD207 (Langerin) na terenie nacieku była znamienne wyższa w chłoniakach wykazujących epidermotropizm w porównaniu do chłoniaków niewykazujących epidermotropizmu. Natomiast średnia liczba komórek wykazujących ekspresję antygeny CD68 na terenie nacieku była niższa w chłoniakach wykazujących epidermotropizm w porównaniu do chłoniaków niewykazujących epidermotropizmu.

Dostępne w piśmiennictwie wyniki badań odnośnie związku epidermotropizmu z liczbą komórek dendrytycznych w chłoniakach skórnych są sprzeczne.

W pracy Pigozzi i wsp. nie wykazano w skórnych chłoniakach T-(MF, SS, C-ALCL, LyP) i B-komórkowych związku gęstości komórek CD1a+ w obrębie naskórka i nacieku nowotworowego z epidermotropizmem [60], co stoi w sprzeczności z wynikami uzyskanymi z materiału własnego.

Natomiast Der-Petrossian i wsp. wykazali wysoką częstość występowania komórek CD207 (Langerin) + na terenie nacieku nowotworowego w skórze właściwej skórnych chłoniaków T-komórkowych, cechujących się epidermotropizmem. Liczebność tych komórek była porównywalna lub nieznacznie mniejsza od gęstości komórek CD207 (Langerin) + w naskórku. W pozostałych przypadkach chłoniaków T-komórkowych i w żadnym z B-komórkowych nie stwierdzono obecności komórek CD207 (Langerin)+ na terenie nacieku nowotworowego [75].

### **6.9.3. Folikulotropizm**

Spośród 19 folikulotropowych MF gęstość komórek CD1a w nabłonku mieszków w stosunku do naskórka przekraczała w relacji 10:1 w 16 przypadkach, w trzech

pozostałych przypadkach stosunek ten był niższy; przypadki te obejmowały zmiany torbielowate. W pięciu przypadkach klasycznego MF komórki CD1α w nabłonku mieszków włosowych były nieliczne. Tak więc w przypadkach potwierdzonego rozpoznania MF, CD1α może być przydatne dla oceny obecności folikulotropizmu [28].

## **6.10. Możliwa rola komórek dendrytycznych w patogenezie chłoniaków skórnych**

Hipoteza immunoedycji nowotworowej opisuje trzy fazy rozwoju nowotworu. W pierwszej fazie eliminacji układ immunologiczny kontroluje nowotwór, komórki zarówno układu nieswoistej i swoistej odpowiedzi immunologicznej rozpoznają i eliminują komórki nowotworowe. W drugiej fazie równowagi wytwarza się stan równowagi pomiędzy układem immunologicznym, a nowotworem. W trzeciej fazie ucieczki powstaje guz w procesie selekcji immunologicznej. Komórki dendrytyczne odrywają główną rolę we wszystkich trzech etapach [44]. Chłoniaki skórne stanowią złożone nowotwory rozwijające się w specyficznym mikrośrodowisku skóry. Większość z nich pozostaje zależna od komórek towarzyszących (komórek dendrytycznych, fibroblastów i prawidłowych limfocytów B i T) [82].

### **6.10.1. Skórne chłoniaki T-komórkowe**

Uważa się, że skórne chłoniaki T-komórkowe, zwłaszcza MF mogą powstawać na podłożu przewlekłego zapalenia lub w odpowiedzi na przewlekłą stymulację antygenową [14, 83, 84]. Stopniowa akumulacja zaburzeń genetycznych, uwalniających komórki nowotworowe spod wpływu mechanizmów kontrolujących prawidłową proliferację komórek odpowiada za stopniową progresję [14, 33, 82, 84]. Koncepcję tę potwierdza występowanie u części pacjentów w okresie poprzedzającym rozpoznanie MF, nierzadko trwającym lata, różnego rodzaju dermatoz o niejasnej etiologii. W części z tych jednostek stwierdzono obecność klonalnej populacji limfocytów T. Jednostki te określa się wówczas mianem: skórnej dyskrazji limfocytów T (*cutaneous T-cell lymphoid dyscrasia*) [33] lub *clonal dermatitis* [85]. Obejmują one: przyłuszczycę, *pityriasis lichenoides*, *idiopathic follicular mucinosis*, *folliculotropic T-cell lymphocytosis/ pilotropic T-cell dyscrasia*, *syringolymphoid hyperplasia with alopecia*, *pigmented purpuric dermatoses*,

*atypical lymphocytic lobular panniculitis, clonal erythroderma* oraz przypadki *hypopigmented MF*, niespełniające kryteriów histologicznych dla rozpoznania MF [33].

Obecność komórek dendrytycznych na terenie skórnych chłoniaków T-komórkowych jest faktem znanym od lat i choć postulowano ich rolę w patogenezie, jednak ich rola w immunobiologii skórnych chłoniaków długo pozostawała niewyjaśniona [53, 60, 86].

Komórki Langerhansa znajdowano zwykle w bezpośrednim sąsiedztwie limfocytów nowotworowych zarówno w naskórku, jak i w skórze [25, 87]. Mikroropnie Pautriera składają się w większości z komórek Langerhansa otoczonych nowotworowymi limfocytami T [28, 87].

Proponowano różne hipotezy związane z udziałem komórek Langerhansa, jak przetrwała stymulacja antygenowa czy zaburzenie interakcji komórek nowotworowych i komórek Langerhansa [25].

W latach 80- i 90-tych uważano, że początkowym etapem rozwoju MF jest stymulacja komórek Langerhansa prowadząca do zaburzenia interakcji między komórkami Langerhansa a limfocytami. Uważano, że stymulacja ta może być spowodowana zewnątrzpochodnymi czynnikami środowiskowymi; takim czynnikiem mogłaby być infekcja wirusowa [17, 82, 87]. Taka hipoteza była podyktowana tym, że w badaniach ultrastrukturalnych wykazano obecność wewnątrzkomórkowych wirusopodobnych cząstek w zmianach skórnych i węzłach chłonnych w MF [17]. Jednakże wirusowy charakter tych struktur nie został jednoznacznie potwierdzony w późniejszych badaniach [25].

Do chwili obecnej nie jest jasne, dlaczego *mycosis fungoides* zwykle długo pozostaje ograniczony do skóry i brak wiarygodnego modelu tłumaczącego wolną progresję tego nowotworu. Jednym z możliwych wyjaśnień jest kontrola wzrostu guza przez układ immunologiczny we wczesnych etapach choroby. Komórki dendrytyczne pełnią podwójną rolę w odpowiedzi immunologicznej w nowotworach. W zależności od warunków mikrośrodowiska mogą indukować i utrzymywać reakcję immunologiczną skierowaną przeciw komórkom nowotworowym; w innych warunkach mogą indukować tolerancję dla antygenów nowotworu [55].

Źródłem antygenów nowotworowych aktywujących komórki dendrytyczne w MF mogą być apoptotyczne komórki guza. Niedojrzałe komórki dendrytyczne skóry i komórki Langerhansa wychwytyją ciała apoptotyczne, przetwarzają antygeny nowotworowe i po migracji do węzłów chłonnych prezentują je limfocytom T, aktywując

reakcję immunologiczną. Dojrzewające lub dojrzałe komórki dendrytyczne na terenie nacieku mogą stymulować limfocyty T do zabijania komórek nowotworowych. Rodzaj reakcji indukowanej przez komórki dendrytyczne zależy od warunków mikrośrodowiska. Pod wpływem IL-10 komórki dendrytyczne indukują reakcję tolerancji nowotworu. Produkcja tej cytokiny przez komórki MF zwiększa się wraz ze stopniem zaawansowania nowotworu, co w części mogłoby wyjaśniać występowanie progresji chłoniaka [55].

Dalszych informacji na temat roli komórek dendrytycznych mogą dostarczyć badania prowadzone *in vitro*. Przez długi czas nie udawało się stworzyć odpowiednich warunków dla hodowli komórek skórnych chłoniaków T-komórkowych, w których mogłyby przeżyć dłużej niż kilka tygodni. Pierwszy raz dłuższe przeżycia komórek nowotworowych *in vitro* uzyskano poprzez hodowlę z niedojrzałymi komórkami dendrytycznymi. Wzrost i przeżycie komórek nowotworowych w takiej hodowli zależały od bezpośredniego kontaktu błon komórkowych komórek nowotworowych i dendrytycznych. Równocześnie w takich warunkach komórki dendrytyczne również przeżywały dłużej i utrzymywały stan niedojrzałości [86]. Wyniki te dowodzą patogenetycznej roli interakcji pomiędzy komórkami dendrytycznymi a nowotworowymi limfocytami.

Wyniki tych badań pozwalają na stworzenie intrygującego modelu teoretycznego wzrostu skórnych chłoniaków T-komórkowych: wzrost komórek nowotworowych byłby stymulowany przez rozpoznanie własnych peptydów w kontekście antygenów MHC klasy II przez TCR. Jedynie niedojrzałe komórki dendrytyczne utrzymują replikację komórek nowotworowych, a produkowana przez komórki nowotworowe IL-10 utrzymuje komórki dendrytyczne w stanie niedojrzałym [86, 88]. W odpowiedzi na prezentację własnych antygenów przez niedojrzałe komórki dendrytyczne, komórki nowotworowe proliferują i nabywają immunofenotypu limfocytów T regulatorowych (wykazują ekspresję CTLA-4, FoxP3, CD25) i produkują IL-10 oraz TGF- $\beta$ . TGF- $\beta$  stymuluje różnicowanie komórek prekursorowych w komórki Langerhansa, stanowiąc stałe źródło niedojrzałych komórek dendrytycznych. Nowotworowe komórki regulatorowe hamują odpowiedź immunologiczną, a ich właściwości tłumaczą kliniczne cechy skórnych chłoniaków. Progresji choroby zwykle towarzyszy także immunosupresja, w związku z czym przyczyną śmierci w chłoniakach skórnych są często infekcje oportunistyczne [88].

W związku z tym sugeruje się, że fotochemioterapia z doustnym podaniem psolarenów i fototerapia promieniowaniem ultrafioletowym typu A mogą działać leczniczo zarówno poprzez bezpośredni wpływ na proliferację komórek nowotworowych,

jak również poprzez wpływ na zmniejszenie liczby niedojrzałych komórek dendrytycznych [86, 87].

Zachowanie nowotworowych limfocytów można tłumaczyć ich pochodzeniem. Limfocyty w MF mają wywodzić się ze stacjonarnych efektorowych limfocytów pamięci, które w normalnych warunkach produkują cytokiny zapalne i pozostają w określonej lokalizacji w skórze. Podobnie zachowują się ich nowotworowe odpowiedniki, stąd klinicznie zmiany w MF zwykle długo pozostają ograniczone do skóry. Natomiast komórki nowotworowe w SS mają wywodzić się z centralnych limfocytów pamięci. Limfocyty te cechuje ekspresja CCR7, L-selektyny i CD27. W prawidłowych warunkach charakteryzują się wysokim potencjałem proliferacyjnym i krążą we krwi patrolując skórę i węzły chłonne. Te same lokalizacje zajmuje nowotworowy rozrost tych komórek (SS) [89].

W zespole Sezary'ego wykazano zmniejszenie odpowiedzi komórkowej mediowanej przez limfocyty Th1; komórki te cechują się w tej jednostce chorobowej defektem produkcji IFN- $\gamma$  i IL-2. Zwiększona jest natomiast produkcja IL-4 (typ Th2), co koreluje z liczbą krążących komórek nowotworowych; ta ostatnia korelacja dowodzi istotnego znaczenia typu odpowiedzi immunologicznej dla rozwoju chłoniaka. Monocyty krwi obwodowej pacjentów z SS produkują znacząco mniejszą ilość IL-12, kluczowej w indukcji odpowiedzi typu Th1, przy prawidłowej liczbie krążących monocytów. Obserwowano także zmniejszoną liczbę komórek dendrytycznych CD11c<sup>+</sup> i CD123<sup>+</sup> we krwi obwodowej, co może być przyczyną upośledzonej odpowiedzi komórkowej. Mechanizm zmniejszonej liczby komórek dendrytycznych we krwi obwodowej pozostaje niewyjaśniony. Podanie egzogennej IL-12 poprawia odpowiedź komórkową w SS; w badaniach próbuje się też stworzyć metody powodujące zwiększenie produkcji endogennej IL-12. I tak pozaustrojowa fotoforeza indukuje różnicowanie monocytów do czynnych komórek dendrytycznych. W efekcie zwiększa się przetwarzanie apoptotycznych komórek nowotworowych i reakcja immunologiczna przeciw nowotworowi staje się bardziej skuteczna [90].

### **6.10.2. Skórne chłoniaki B-komórkowe**

Wyniki uzyskane przez Christie i wsp, podobnie jak w pracy Kutner i wsp. sugerują kluczową rolę komórek dendrytycznych w patogenezie B-komórkowych zmian limfoproliferacyjnych skóry. Skórne komórki dendrytyczne mogą odpowiadać za

inicjację proliferacji limfocytów B zależną od limfocytów T, natomiast plazmacytoidne komórki dendrytyczne mogą wpływać na wielkość, czas trwania i kierunek tej odpowiedzi [51].

Stwierdzona w pracy Kutner i wsp. wysoka liczba komórek plazmacytoidnych w C-MALT może wskazywać na czynnik infekcyjny lub reagujące krzyżowo autoantygeny jako przyczynę pierwotną C-MALT, ponieważ komórki plazmacytoidne migrują do tkanek nielimfatycznych w odpowiedzi na zapalenie lub czynniki infekcyjne. Skupienia komórek plazmacytoidnych obserwowano już na wczesnych etapach rozwoju C-MALT i nawrotach, co może sugerować, że odgrywają wręcz kluczową rolę w inicjacji i podtrzymaniu wzrostu C-MALT. Prawdopodobnie komórki plazmacytoidne wraz z limfocytami T nie stanowią elementu przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej, lecz przeciwnie przyczyniają się do rozwoju chłoniaka poprzez stymulację limfocytów B. Komórki plazmacytoidne, limfocyty T i B mogą wszystkie stanowić integralne składowe nowotworu lub alternatywnie jego mikrośrodowisko [57].

Stwierdzona w badanej grupie w pierwotnych chłoniakach skórnych statystycznie istotna wyższa liczba komórek dendrytycznych i Langerhansa na terenie nacieku nowotworowego oraz makrofagów i/lub plazmacytoidnych komórek dendrytycznych w obrębie naskórka w porównaniu do chłoniaków wtórnie zajmujących skórę sugeruje rolę komórek dendrytycznych w patogenezie pierwotnych chłoniaków skórnych. Natomiast wykazana w chłoniakach T-komórkowych znacząco wyższa liczba komórek dendrytycznych i Langerhansa, a mniejsza makrofagów i/lub plazmacytoidnych komórek dendrytycznych na terenie nacieku nowotworowego w porównaniu do chłoniaków B-komórkowych sugeruje, iż komórki te mogą odgrywać różną rolę w tych grupach chłoniaków.

## 7. WNIOSKI

- 1- Dokonana w badanej grupie rekლasyfikacja 28 spośród 118 przypadków (23,73%) była spowodowana pojawieniem się nowych metod diagnostycznych, zwłaszcza immunohistochemii oraz opublikowaniem nowych klasyfikacji, precyzyjnie określających kryteria diagnostyczne poszczególnych chłoniaków.
- 2- W pierwotnych chłoniakach skórnych stwierdzono statystycznie istotną wyższą średnią liczbę komórek dendrytycznych i Langerhansa na terenie nacieku nowotworowego oraz makrofagów i/lub plazmacytoidnych komórek dendrytycznych w obrębie naskórka w porównaniu do chłoniaków wtórnie zajmujących skórę, co potwierdza rolę komórek dendrytycznych w patogenezie pierwotnych chłoniaków skórnych.
- 3- W chłoniakach T-komórkowych stwierdzono znacząco większą średnią liczbę komórek dendrytycznych i Langerhansa, a mniejszą makrofagów i/lub plazmacytoidnych komórek dendrytycznych na terenie nacieku nowotworowego w porównaniu do chłoniaków B-komórkowych.
- 4- W chłoniakach indolentnych stwierdzono statystycznie istotną wyższą liczbę komórek dendrytycznych i Langerhansa na terenie nacieku nowotworowego w porównaniu do chłoniaków agresywnych oraz pośrednich, co świadczy o wpływie liczby komórek dendrytycznych w chłoniakach skórnych na ich zachowanie biologiczne, a pośrednio może również świadczyć o znaczeniu rokowniczym.
- 5- Stwierdzona w badanej grupie statystycznie istotna przewaga komórek dendrytycznych w obrębie naskórka, a makrofagów na terenie nacieku nowotworowego świadczy pośrednio o tendencji do komplementarnego rozmieszczenia w tkankach makrofagów i komórek dendrytycznych.





## 8. STRESZCZENIE

### Wstęp

Pierwotne chłoniaki skórne cechuje często odmienny przebieg kliniczny i rokowanie w porównaniu do chłoniaków systemowych. Komórki dendrytyczne mogą odgrywać rolę w patogenezie chłoniaków skórnych.

### Cel pracy

Celem pracy była analiza i reklasyfikacja chłoniaków skórnych w materiale archiwalnym Katedry Patomorfologii oraz zbadanie w nich występowania i liczebności komórek dendrytycznych.

### Materiał i metody

W analizie uwzględniono 118 przypadków chłoniaków skórnych. Przeprowadzono ich reklasyfikację zgodnie z obowiązującymi klasyfikacjami. Komórki dendrytyczne wykazujące ekspresję: S-100, CD1a, CD207 i CD68 oceniano na terenie nacieku nowotworowego oraz w obrębie naskórka.

### Wyniki

W pierwotnych chłoniakach skórnych stwierdzono statystycznie istotną wyższą liczbę komórek dendrytycznych i Langerhansa na terenie nacieku nowotworowego oraz makrofagów i/lub plazmacytoidnych komórek dendrytycznych w obrębie naskórka w porównaniu do chłoniaków wtórnie zajmujących skórę. W chłoniakach T-komórkowych stwierdzono znaczącą wyższą liczbę komórek dendrytycznych i Langerhansa, a mniejszą makrofagów i/lub plazmacytoidnych komórek dendrytycznych na terenie nacieku nowotworowego w porównaniu do chłoniaków B-komórkowych. W chłoniakach indolentnych stwierdzono statystycznie istotną wyższą liczbę komórek dendrytycznych i Langerhansa na terenie nacieku nowotworowego w porównaniu do chłoniaków agresywnych oraz pośrednich.

### Najistotniejszy wniosek z pracy

Uzyskane wyniki potwierdzają rolę komórek dendrytycznych w patogenezie chłoniaków skórnych.

## 9. STRESZCZENIE W JEZYKU ANGIELSKIM

### Introduction

Primary cutaneous lymphomas often feature different clinical course and prognosis compared to systemic lymphomas. Dendritic cells may play a role in the pathogenesis of cutaneous lymphomas.

### Aim of study

The aim of this work was analysis and reclassification of cutaneous lymphomas retrieved from archive of Chair of Pathomorphology and investigation the occurrence and number of dendritic cells in these neoplasms.

### Material and methods

The analysis included 118 cases of cutaneous lymphomas. Reclassification was conducted in accordance with current classifications. Dendritic cells demonstrating expression of S-100, CD1a, CD207 and CD68 were evaluated within tumors' infiltrate and epidermis.

### Results

This study demonstrated in primary cutaneous lymphomas a statistically significant higher number of dendritic cells and Langerhans cells within tumors' infiltrate as well as macrophages and / or plasmacytoid dendritic cells within the epidermis compared to lymphomas secondarily involving skin. In T-cell lymphomas was found a significant higher number of dendritic cells and Langerhans and lower number of macrophages and / or plasmacytoid dendritic cells within tumors' infiltrate compared to B-cell lymphomas. Indolent lymphoma has shown a statistically significant higher number of dendritic cells and Langerhans cells within tumors' infiltrate compared to the intermediate and aggressive lymphomas.

### The most important conclusion

The results obtained from this work confirm the role of dendritic cells in the pathogenesis of cutaneous lymphomas.

## 10. PIŚMIENICTWO

1. Willemze R., Jaffe S. E, Burg G., Cerroni L., Berti E et al.: WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood*, 2005; 105: 3768-3785.
2. Kempf W., Sander C.A.: Classification of cutaneous lymphomas - an update. *Histopathology*, 2010; 56(1): 57-70.
3. Cerroni L., Gatter K., Kerl H.: *Skin lymphoma: the illustrated guide*. Wiley-Blackwell 2009, third edition.
4. R. Maryniak, Jankowska-Konsur A.: Zasady diagnostyki histoklinicznej i immunohistochemicznej chłoniaków pierwotnie skórnych. *Pol J Pathol* 2011; 62 (suppl 3).
5. Lennert K., Stein H., Kaiserling E.: Cytological and functional criteria for the classification of malignant lymphoma. *Br J Cancer*, 1975; 31 (Suppl. II), 29.
6. Harris N.L., Jaffe E.S., Stein H., Banks P.M., Chan J.K., Cleary M.L., Delsol G., De Wolf-Peeters C., Falini B., Gatter K.C., et al.: A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood*: 1994; 84(5): 1361-92.
7. Willemze R., Kerl H., Sterry W., Berti E., Cerroni L., Chimenti S., Diaz-Peréz J.L., Geerts M.L., Goos M., Knobler R., Ralfkiaer E., Santucci M., Smith N., Wechsler J., van Vloten W.A., Meijer C.J.L.M.: EORTC Classification for Primary Cutaneous Lymphomas: A Proposal From the Cutaneous Lymphoma Study Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer. *Blood*: 1997; 90(1): 354-371.
8. Jaffe E.S., Harris N.L., Stein H., Vardiman J.W. (Eds). *WHO Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon, France: IARC Press; 2001.
9. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H., Thiele J., Vardiman J.W (Eds.): *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. IARC: Lyon 2008.
10. Groves F.D., Linet M.S., Travis L.B., Devesa S.S.: Cancer Surveillance Series: Non-Hodgkin's Lymphoma Incidence by Histologic Subtype in the United States From 1978 Through 1995. *J Natl Cancer Inst*, 2000; 92(15): 1240-51.

11. Bradford P.T., Devesa S.S., Anderson W.F., Toro J.R.: Cutaneous lymphoma incidence patterns in the United States: a population-based study of 3884 cases. *Blood* 2009; 113(21): 5064-73.
12. Siegel R.S., Pandolfino T., Guitart J., Rosen S., Kuzel T.M.: Primary cutaneous T-cell lymphoma: review and current concepts. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2908-2925.
13. Weinstock M.A., Horm J.W.: Mycosis fungoides in the United States. *JAMA* 1988; 260(1): 42-46.
14. Kazakov D.V, Burg G., Kempf W.: Clinicopathological spectrum of mycosis fungoides. *JEADV*: 2004; 18: 397-415.
15. Olsen E., Vonderheid E., Pimpinelli N., Willemze R., Kim Y., Knobler R., Zackheim H., Duvic M., Estrach T., Lamberg S., Wood G., Dummer R., Ranki A., Burg G., Heald P., Pittelkow M., Bernengo M., Sterry W., Laroche L., Trautinger F., Whittaker S.: Revisions to the staging and classification of mycosis fungoides and Sezary syndrome: a proposal of the International Society for Cutaneous Lymphomas (ISCL) and the cutaneous lymphoma task force of the European Organization of Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Blood* 2007; 110(6): 1713-22.
16. Magro C., Crowson A., Mihm M.: The cutaneous lymphoid proliferations. A comprehensive textbook of lymphocytic infiltrates of the skin. Wiley-Liss 2007.
17. Fullbrandt U., Meisner K., Lonig T., Janner M.: A second look at intraepithelial Langerhans cells in mycosis fungoides and related disorders. *Virchows Arch* 1983; 402: 47-60.
18. Zackheim H.S., Kashani-Sabet M., Amin S.: Topical corticosteroids for mycosis fungoides. Experience in 79 patients. *Arch Dermatol* 1998; 134(8): 949-54.
19. Kashani-Sabet M., McMillan A., Zackheim H.: A modified staging for cutaneous T-cell lymphoma. *J Am Acad Dermatol* 2001; 45: 700-706.
20. Benner M.F., Jansen P.M., Vermeer M.H., Willemze R.: Prognostic factors in transformed mycosis fungoides: a retrospective analysis of 100 cases. *Blood* 2012; 119(7): 1643-1649.
21. Gorczyca W.: Prognostic and predictive markers in hematologic neoplasms. A review. *Pol J Pathol* 2011; 4: 189-205.
22. Sokołowska-Wojdyło M., Lech-Marańda E., Placek W., Mader J., Zaucha J., Walewski J.: Leczenie pierwotnych chłoniaków skóry. Rekomendacje Sekcji Chłoniaków Skóry Polskiej Grupy Badawczej Chłoniaków (PLRG). *Przegl Dermatol* 2010; 97: 225-242.

23. Kim Y.H., Jensen R.A., Watanabe G.L., Varghese A., Hoppe R.T.: Clinical stage IA (limited patch and plaque) mycosis fungoides. *Arch Dermatol* 1996; 132: 1309-1313.
24. Edinger J.T., Clark B.Z., Pucevich B.E., Geskin L.J., Swerdlow S.H.: CD30 expression and proliferative fraction in nontransformed mycosis fungoides. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 1860-1868.
25. Meissner K., Michaelis K., Rehenning W., Lonig T.: Epidermal Langerhans' cell densities influence survival in mycosis fungoides and Sezary syndrome. *Cancer* 1990; 65: 2069-2073.
26. Grzanka A., Grzanka D., Gagat M., Tadrowski T., Sokołowska-Wojdyło M., Marszałek A., Placek W.: Correlation of SATB1 expression with clinical course of cutaneous T-cell lymphomas. *Pol J Pathol* 2012; 2: 101-105.
27. Doorn R., Scheffer E., Willemze R.: Follicular mycosis fungoides, a distinct disease entity with or without associated follicular mucinosis. A clinicopathologic and follow-up study of 51 patient. *Arch Dermatol*: 2002; 138: 191-198.
28. Gerami P., Guitart J.: The spectrum of histopathologic and immunohistochemical findings in folliculotropic mycosis fungoides. *Am J Surg Pathol*: 2007; 31: 1430-1438.
29. Gerami P., Rosen S., Kuzel T., Boone S.L., Guitart J.: Folliculotropic mycosis fungoides. An aggressive variant of cutaneous T-cell lymphoma. *Arch Dermatol*: 2008; 144(6): 738-746.
30. Scarabello A., Leinweber B., Ardigo M., Rutten A., Feller A.C., Kerl H., Cerroni L.: Cutaneous lymphomas with prominent granulomatous reaction. *Am J Surg Pathol* 2002; 26(10): 1259-1268.
31. Cerroni L.: Cutaneous granulomas and malignant lymphomas. *Dermatology* 2003; 206: 78-80.
32. Gallardo F., Garcia-Muret M.P., Servitje O., Estrach T., Bielsa I., Salar A., Abella E., Barranco C., Pujol RM.: Cutaneous lymphomas showing prominent granulomatous component: clinicopathological features in series of 16 cases. *JEADV* 2009; 23: 639-647.
33. Guitart J., Magro C.: Cutaneous T-cell lymphoid dyscrasia. A unifying term for idiopathic chronic dermatoses with persistent T-cell clones. *Arch Dermatol* 2007; 143(7): 921-932.
34. Willemze R., Dreyling M.: Primary cutaneous lymphoma: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* 2009; 20 (Suppl 4): iv115-iv118.

35. Stachura J., Domagała W.: *Patologia znaczy słowo o chorobie*. Polska Akademia Umiejętności Wydział Lekarski, Kraków 2009.
36. Benner M., Jansen P., Meijer C., Willemze R.: Diagnostic and prognostic evaluation of phenotypic markers TRAF1, MUM1, BCL2 and CD15 in cutaneous CD30-positive lymphoproliferative disorders. *British Journal of Dermatology* 2009; 161: 121-127.
37. Kim Y., Willemze R., Pimpinelli N., Whittaker S., Olsen E., Ranki A., Dummer R., Hoppe R.: TNM classification system for primary cutaneous lymphomas other than mycosis fungoides and Sezary syndrome: a proposal of the International Society for Cutaneous Lymphomas (ISCL) and the Cutaneous Lymphoma Task Force of the European Organization of Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Blood* 2007; 110(2): 479-84.
38. Beltraminelli H., Mullegger R., Cerroni L.: Indolent CD8+ lymphoid proliferation of the ear: a phenotypic variant of the small medium pleomorphic cutaneous T-cell lymphoma? *J Cutan Pathol* 2010; 37: 81-84.
39. Garaud C., Goerdts S., Klemke C.D.: Primary cutaneous CD8+ small/medium-sized pleomorphic T-cell lymphoma, ear-type: a unique cutaneous T-cell lymphoma with a favourable prognosis. *BJD* 2011; 164: 456-458.
40. Petrella T., Maubec E., Cornillet-Lefebvre P., Willemze R. et al.: Indolent CD8-positive lymphoid proliferation of the ear. A distinct primary cutaneous lymphoma? *Am J Surg Pathol* 2007; 31: 1887-1892.
41. Edinger J., Kant J., Swerdlow S.: Cutaneous marginal zone lymphomas have distinctive features and include 2 subsets. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 1830-1841.
42. Beaty M., Toro J., Sorbara L., Stern J., Pittaluga S., Raffeld M.: Cutaneous lymphomatoid granulomatosis. Correlation of clinical and biologic features. *Am J Surg Pathol* 2001; 25 (9): 1111-1120.
43. Zaba L.C., Krueger J.G., Lowes M.A.: Resident and “inflammatory” dendritic cells in human skin. *J Invest Dermatol* 2009; 129(2): 302-308.
44. Ueno H., Klechevsky E., Morita R., Asford C., Cao T., Matsui T., Di Pucchio T., Connolly J., Fay J.W., Pascual V., Palucka A.K, Banchereau J.: Dendritic cell subsets in health and disease. *Immunological Reviews* 2007; 219: 118-142.
45. Toebak M., Gibbs S., Bruynzeel D., Scheper R., Rustemeyer T.: Dendritic cells: biology of the skin. *Contact dermatitis* 2009; 60: 2-20.
46. Banchereau J., Briere F., Caux C., Davoust J., Lebecque S., Liu Y., Pulendran B., Palucka K.: Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 2000; 18: 767-811.

47. Zaba L.C., Fuentes-Duculan J., Steinman R.M., Krueger J.G., Lowes M.A.: Normal human dermis contains distinct populations of CD11c+BDCA-1+ dendritic cells and CD163+FXIIIa+ macrophages. *The Journal of Clinical Investigation* 2007; 117 (9): 2517-2525.
48. Lappin M.B., Kimber I., Norval M.: The role of the dendritic cells in cutaneous immunity. *Arch Dermatol Res* 1996; 288: 109-121.
49. Kanitakis J.: Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *European Journal of Dermatology* 2002; 12(4): 390-401.
50. Weitzman S., Jaffe R.: Uncommon histiocytic disorders: the non-Langerhans cell histiocytoses. *Pediatr Blood Cancer* 2005; 45: 256-264.
51. Christie L., MacKenzie C., Palmer T., Baker L., Goodlad J.: Type and maturational status of dendritic cells in cutaneous B cell lymphoproliferative disorders. *Histopathology* 2011; 59: 421-432.
52. Palucka K., Ueno H., Roberts L., Fay J., Banchereau J.: Dendritic cells are they clinically relevant? *Cancer J* 2010; 16: 318-324.
53. Zeybek N., Asan E., Erbil A., Dagdeviren A.: Immunohistochemical analysis of small plaque parapsoriasis: involvement of dendritic cells. *Acta histochemica* 2008; 110: 380-387.
54. Wood G., Turner R., Shiurba R., Eng L., Warnke R.: Human dendritic cells and macrophages. In situ immunophenotypic definition of subsets that exhibit specific morphologic and microenvironmental characteristics. *Am J Pathol* 1985; 119: 73-82.
55. Luftl M., Feng A., Licha E., Schuler G.: Dendritic cells and apoptosis in mycosis fungoides. *British Journal of Dermatology* 2002; 147: 1171-1179.
56. Ochoa M., Loncaric A., Krutzik S., Becker S., Modlin R.: "Dermal dendritic cells" comprise two distinct populations: CD1+dendritic cells and CD209+ macrophages. *Journal of Investigative Dermatology* 2008; 128: 2225-2231.
57. Kutzner H., Kerl H., Pfaltz M., Kempf W.: CD123-positive plasmacytoid dendritic cells in primary cutaneous marginal zone B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 1307-1313.
58. Schwingshackl P., Obermoser G., Nguyen V., Fritsch P., Sepp N., Romani N.: Distribution and maturation of skin dendritic cell subsets in two forms of cutaneous T-cell lymphoma: mycosis fungoides and Sezary syndrome. *Acta Derm Venereol* 2012; 92: 269-275.

59. Dabbs D.: Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications. Saunders Elsevier 2010, third edition.
60. Pigozzi B., Bordignon M., Fortina A. B., Michelotto G., Alaibac M.: Expression of the CD1 $\alpha$  molecule in B- and T-lymphoproliferative skin condition. *Oncology Reports* 2006; 15: 347-351.
61. Schmuth M., Sidoroff A., Danner B., Topar G., Sepp N.: Reduced number of CD1 $\alpha$ + cells in cutaneous B-cell lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2001; 116:72-78.
62. Schlapbach C., Ochsenbein A., Kaelin U., Hassan A., Hunger R., Yawalkar N.: High numbers of DC-SIGN+dendritic cells in lesional skin of cutaneous T-cell lymphoma. *J Am Acad Dermatol* 2010; 62: 995-1004.
63. Laurini J., Perry A., Boilesen E., Diebold J., MacLennan K., Müller-Hermelink H., Nathwani B., Armitage J., Weisenburger D.: Classification of non-Hodgkin lymphoma in Central and South America: a review of 1028 cases. *Blood* 2012; 120(24): 4795-801.
64. Arber D.A.: Secondary lymphomas of the skin. Companion Meetings Handouts Society for Hematopathology- Pathology of Cutaneous Lymphoproliferative Disorders Feb 12 2006: [www.pathologyportal.org/95th/pdf/companion21h5.pdf](http://www.pathologyportal.org/95th/pdf/companion21h5.pdf). Data dostępu: 2012.07.05.
65. Guitart J., Weisenburger D., Subtil A., Kim E., Wood G., Duvic M., Olsen E., Junkins-Hopkins J., Rosen S., Sundram U., Ivan D., Selim M., Pincus L., Deonizio J., Kwasny M., Kim Y.: Cutaneous  $\gamma\delta$  T-cell lymphomas: a spectrum of presentations with overlap with other cytotoxic lymphomas. *Am J Surg Pathol* 2012; 36(11): 1656-1665.
66. Pimpinelli N., Olsen E.A., Santucci M., Vonderheid E., Haeffner A.C. et al.: Defining early mycosis fungoides. *J Am Acad Dermatol*: 2005; 53:1053-63.
67. Massone C., Kodama K., Kerl H., Cerroni L.: Histopathologic features of early (patch) lesions of mycosis fungoides. A morphologic study on 745 biopsy specimens from 427 patients. *Am J Surg Pathol* 2005; 29(4): 550-560.
68. Guitart J., Kennedy J., Ronan S., Chmiel J.S., Hsiegh Y., Variakojis D.: Histologic criteria for the diagnosis of mycosis fungoides: proposal for a grading system to standardize pathology reporting. *J Cutan Pathol* 2001; 28: 174-183.
69. Santucci M., Biggeri A., Feller A., Massi D., Burg G.: Efficacy of histologic criteria for diagnosing early mycosis fungoides. An EORTC Cutaneous Lymphoma Study Group Investigation. *Am J Surg Pathol* 2000; 24(1): 40-50.
70. Ferrara G., Blasi A., Zalaudek I., Argenziano G., Cerroni L.: Regarding the algorithm for the diagnosis of early mycosis fungoides proposed by the International Society for



Cutaneous Lymphomas: suggestions from routine histopathology practice. *J Cutan Pathol* 2008; 35: 549-553.

71. Modlin R., Rowden G., Taylor C., Rea T.: Comparison of S-100 and OKT6 antisera in human skin. *J Invest Dermatol* 1984; 83(3): 206-9.

72. Smolle J., Kaudewitz P., Burg G., Kresbach H., Kerl H.: Significance of non-lymphoid (“accessory”) cells in malignant lymphomas and pseudolymphomas of the skin. *British Journal of Dermatology* 1985; 113: 677-685.

73. Carbonnelle A., Martin-Garcia N., Ortonne N., Laroche L., Bagot M., Molinier-Frenkel V., Wechsler J.: Study of the reactive dendritic cells in small B-cell lymphoproliferations of the skin. *Virchows Arch* 2007; 450: 441-447.

74. Pimpinelli N., Romagnoli P., Moretti S., Giannotti B.: Non-lymphoid accessory cells in the cutaneous infiltrate of B-cell lymphomas. An immunohistochemical and ultrastructural study. *British Journal of Dermatology* 1988; 118: 353-362.

75. Der-Petrossian M., Valencak J., Jonak C., Klosner G., Dani T., Mullauer L., Pehamberger H., Knobler R., Trautinger F.: Dermal infiltrates of cutaneous T-cell lymphomas with epidermotropism but not other cutaneous lymphomas are abundant with langerin+ dendritic cells. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2011; 25(8): 922-7.

76. Fivenson D., Douglass M., Nickoloff B.: Cutaneous expression of Thy-1 in mycosis fungoides. *Am J Pathol* 1992; 141: 1373-1380.

77. Fujita M., Horiguchi Y., Miyachi Y., Furukawa F., Kashihara-Sawami M., Imamura S.: A subpopulation of Langerhans cells (CD1a+Lag-) increased in the dermis of plaque lesions of mycosis fungoides. *Acad Dermatol* 1991; 25: 491-499.

78. Bani D., Giannotti B.: Differentiation of interdigitating reticulum cells and Langerhans cells in the human skin with T-lymphoid infiltrate. An immunocytochemical and ultrastructural study. *Arch Histol Cytol* 1989; 52(4): 361-372.

79. Goteri G., Filosa A., Mannello B., Stramazotti D., Rupoli S., Leoni P., Fabris G.: Density of neoplastic lymphoid infiltrate, CD8+ T cells and CD1a+ dendritic cells in mycosis fungoides. *J Clin Pathol* 2003; 56: 453-459.

80. Fivenson D., Nickoloff B.: Distinctive dendritic cell subsets expressing factor XIIIa, CD1a, CD1b I CD1c in mycosis fungoides and psoriasis. *J Cutan Pathol* 1995; 22: 223-228.

81. Tzu-Chun Lin , Po-Yuan Wu , Tze-Yi Lin , Su-Peng Yeh , Shyh-chang Chen , Tsong-Liang Lee: Langerhans cell hyperplasia in the tumor stage of mycosis fungoides: a mimic of Langerhans cell histiocytosis. *Dermatologica Sinica* 2011; 29: 101-105.

82. Dummer R., Willers J., Kamarashev J., Urosevic M., Dobbeling U., Burg G.: Pathogenesis of cutaneous lymphomas. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery* 2000; 19(2): 78-86.
83. Burg G., Dummer R., Nestle F.O., Doebbeling U., Haeffner A.: Cutaneous lymphomas consist of a spectrum of nosologically different entities including mycosis fungoides and small plaque parapsoriasis. *Arch Dermatol* 1996; 132: 567-571.
84. Burg G., Dummer R., Haeffner A., Kempf W., Kadin M.: From inflammation to neoplasia. Mycosis fungoides evolves from reactive inflammatory conditions (lymphoid infiltrates) transforming into neoplastic plaques and tumors. *Arch Dermatol*; 2001; 137: 949-952.
85. Siddiqui J., Hardman D.L., Misra M., Wood G.S.: Clonal dermatitis: a potential precursor of CTCL with varied clinical manifestation. *J Invest Dermatol* 1997; 108: 584 (abstract).
86. Berger C., Hanlon D., Kanada D., Dhodapkar M., Lombillo V., Wang N., Christensen I., Howe G., Crouch J., El-Fishawy P., Edelson R.: The growth of cutaneous T-cell lymphoma is stimulated by immature dendritic cells. *Blood* 2002; 99: 2929-2939.
87. Edelson R.: Cutaneous T cell lymphoma. The helping hand of dendritic cells. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 941: 1-11.
88. Berger C., Tigelaar R., Cohen J., Mariwalla K., Trinh J., Wang N., Edelson R.: Cutaneous T-cell lymphoma: malignant proliferation of T-regulatory cells. *Blood* 2005; 105: 1640-1647.
89. Campbell J., Clark R., Watanabe R., Kupper T.: Sézary syndrome and mycosis fungoides arise from distinct T-cell subsets: a biologic rationale for their distinct clinical behaviors. *Blood* 2010; 116 (5): 767-777.
90. Wysocka M., Zaki M., French L., Chehimi J., Shapiro M., Everetts S., McGinnis K., Montaner L., Rook A.: Sezary syndrome patients demonstrate a defect in dendritic cell populations: effects of CD40 ligand and treatment with GM-CSF on dendritic cell numbers and the production of cytokines. *Blood* 2002; 100: 3287-3294.