

Uniwersytet Jagielloński  
Collegium Medicum  
Wydział Lekarski

Agata Kłosowicz

**Ocena komórek dendrytycznych jako markera predykcyjnego  
odpowiedzi na terapię hydroksychlorochiną u pacjentów  
z pierwotnym łysieniem bliznowaciejącym.**

Rozprawa doktorska

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Anna Wojas-Pelc

Pracę wykonano w Klinice i Katedrze Dermatologii Collegium  
Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Kierownik jednostki: Prof. dr hab. n. med. Anna Wojas-Pelc

Kraków, 2020

Pragnę złożyć serdeczne podziękowania mojemu promotorowi,  
Pani Profesor Annie Wojas-Pelc, za umożliwienie rozwoju drogi naukowej,  
w tym staży zagranicznych oraz za wartościowe uwagi  
i wszechstronną pomoc podczas realizacji niniejszej pracy.

Serdecznie dziękuję także Panu Docentowi Maciejowi Pastuszczałowi  
za cenne rady dotyczące wyboru tematu pracy i pomoc w jej powstawaniu.

Dziękuję wszystkim Pracownikom Katedry i Kliniki Dermatologii  
CM UJ w Krakowie za pomoc w praktycznym przeprowadzeniu badań.

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr 2019/32/T/NZ5/00285  
finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki – grant ETIUDA.

Pracę dedykuję mojej Rodzinie.

## Spis treści

|   |           |
|---|-----------|
| <b>WYKAZ CZĘSTO UŻYWANYCH SKRÓTÓW.....</b>                                | <b>3</b>  |
| <b>1. WPROWADZENIE .....</b>  | <b>4</b>  |
| 1.1. Budowa włosa.....  | 4         |
| 1.2. Cykl włosowy.....  | 5         |
| 1.3. Łysienie bliznowaciejące .....                                       | 6         |
| 1.4. Pierwotne łysienie bliznowaciejące .....                             | 8         |
| 1.4.1. Klasyfikacja .....   | 8         |
| 1.4.2. Epidemiologia .....  | 9         |
| 1.4.3. Patogeneza.....  | 11        |
| 1.4.3.1. Teoria immunologiczna.....                                       | 12        |
| 1.4.3.2. Teoria zaburzeń lipidowych .....                                 | 15        |
| 1.4.3.3. Teoria środowiskowa.....   | 15        |
| 1.4.3.4. Teoria genetyczna.....   | 17        |
| 1.4.4. Pierwotne łysienie bliznowaciejące z naciekiem limfocytarnym ..... | 18        |
| 1.4.4.1. Liszaj płaski mieszkowy .....                                    | 22        |
| 1.4.4.2. Łysienie czołowe bliznowaciejące .....                           | 24        |
| 1.4.4.3. Zespół Grahama-Little'a .....                                    | 26        |
| 1.4.4.4. Toczeń rumieniowaty krążkowy .....                               | 26        |
| 1.4.4.5. Łysienie rzekomo bliznowaciejące Brocqa .....                    | 28        |
| 1.4.4.6. Mucynoza mieszkowa .....   | 29        |
| 1.4.4.7. Centralne odśrodkowe łysienie bliznowaciejące .....              | 31        |
| 1.4.4.8. Kolczyste rogowacenie mieszkowe wyłysiające.....                 | 32        |
| 1.5. Komórki dendrytyczne.....  | 33        |
| 1.6. Hydroksychlorochina .....  | 37        |
| <b>2. ZAŁOŻENIA I CELE PRACY.....</b>                                     | <b>42</b> |
| <b>3. MATERIAŁ I METODY.....</b>  | <b>44</b> |
| 3.1. Materiał .....   | 44        |
| 3.1.1. Charakterystyka pacjentów .....                                    | 44        |
| 3.1.2. Wycinki tkankowe .....   | 46        |

|  |            |
|--|------------|
| 3.2. Metody .....  | 46         |
| 3.2.1. Korelacja obrazu histopatologicznego z obrazem klinicznym .....   | 47         |
| 3.2.2. Ocena skuteczności terapii hydroksychlorochiną .....  | 47         |
| 3.2.3. Bezpośrednie badanie immunohistochemiczne .....   | 48         |
| 3.3. Analiza statystyczna. ....  | 51         |
| <b>4. WYNIKI .....</b>   | <b>52</b>  |
| 4.1. Wyniki oceny skuteczności terapii leczenia hydroksychlorochiną.....   | 52         |
| 4.2. Wyniki oznaczeń ekspresji receptorów komórek dendrytycznych w wycinkach<br>skórnych w grupie badanej.. ....   | 53         |
| 4.3. Wyniki analizy porównawczej ekspresji receptorów komórek dendrytycznych w<br>wycinkach skórnych pomiędzy pacjentami z liszajem płaskim mieszkowym i toczniem<br>rumieniowatym skórny .....      | 58         |
| 4.4. Wyniki analizy porównawczej ekspresji receptorów komórek dendrytycznych w<br>wycinkach skórnych pomiędzy pacjentami odpowiadającymi i nieodpowiadającymi na<br>terapię hydroksychlorochiną..... | 62         |
| 4.5. Wyniki oceny komórek dendrytycznych w wycinkach skórnych jako markerów<br>odpowiedzi na terapię hydroksychlorochiną. ....   | 65         |
| <b>5. OMÓWIENIE WYNIKÓW I Dyskusja.....</b>  | <b>67</b>  |
| 5.1. Omówienie wyników badania przedmiotowego pacjentów z PCA z naciekiem<br>limfocytarnym.....  | 67         |
| 5.2. Omówienie wyników oceny skuteczności leczenia hydroksychlorochiną .....   | 68         |
| 5.3. Omówienie wyników analizy porównawczej ekspresji komórek dendrytycznych w<br>poszczególnych jednostkach PCA z naciekiem limfocytarnym. ....   | 74         |
| 5.4. Omówienie wyników analizy porównawczej ekspresji komórek dendrytycznych u<br>pacjentów odpowiadających oraz nieodpowiadających na terapię hydroksychlorochiną....                               | 79         |
| 5.5. Podsumowanie i omówienie najważniejszych aspektów uzyskanych wyników badań  | 83         |
| <b>6. WNIOSKI.....</b>   | <b>85</b>  |
| <b>7. PIŚMIENNICTWO .....</b>  | <b>86</b>  |
| <b>8. STRESZCZENIE.....</b>  | <b>103</b> |
| <b>9. SUMMARY .....</b>  | <b>105</b> |

## WYKAZ CZĘSTO UŻYWANYCH SKRÓTÓW

CA – łysienie bliznowaciejące (cicatricial alopecia)

CD – antygen różnicowania komórkowego (cluster of differentiation)

cDCs – konwencjonalne komórki dendrytyczne (conventional dendritic cells)

DCs – komórki dendrytyczne (dendritic cells)

DLE – toczeń rumieniowaty krążkowy (discoid lupus erythematosus)

eHFSCs – nabłonkowe komórki macierzyste mieszka włosowego (epithelial hair follicle stem cells)

FFA – łysienie czołowe bliznowaciejące (frontal fibrosing alopecia)

HCQ – hydroksychlorochina (hydroxychloroquine)

IL – interleukina (interleukin)

IP – przywilej immunologiczny (ang. immune privilege)

LCs – komórki Langerhansa (Langerhans cells)

LPP – liszaj płaski mieszkowy (lichen planopilaris)

MHC - główny układ zgodności tkankowej (major histocompatibility complex)

moDCs – komórki dendrytyczne pochodzenia monocytarnego (monocyte-derived dendritic cells)

n – liczebność grupy (numer of group)

p-value – poziom istotności statystycznej

PCA – pierwotne łysienie bliznowaciejące (primary cicatricial alopecia)

pDCs – plazmacytoidalne komórki dendrytyczne (plasmacytoid dendritic cells)

SD – odchylenie standardowe (standard deviation)

SE – błąd statystyczny (statistical error)

SLE – toczeń rumieniowaty układowy (systemic lupus erythematosus)

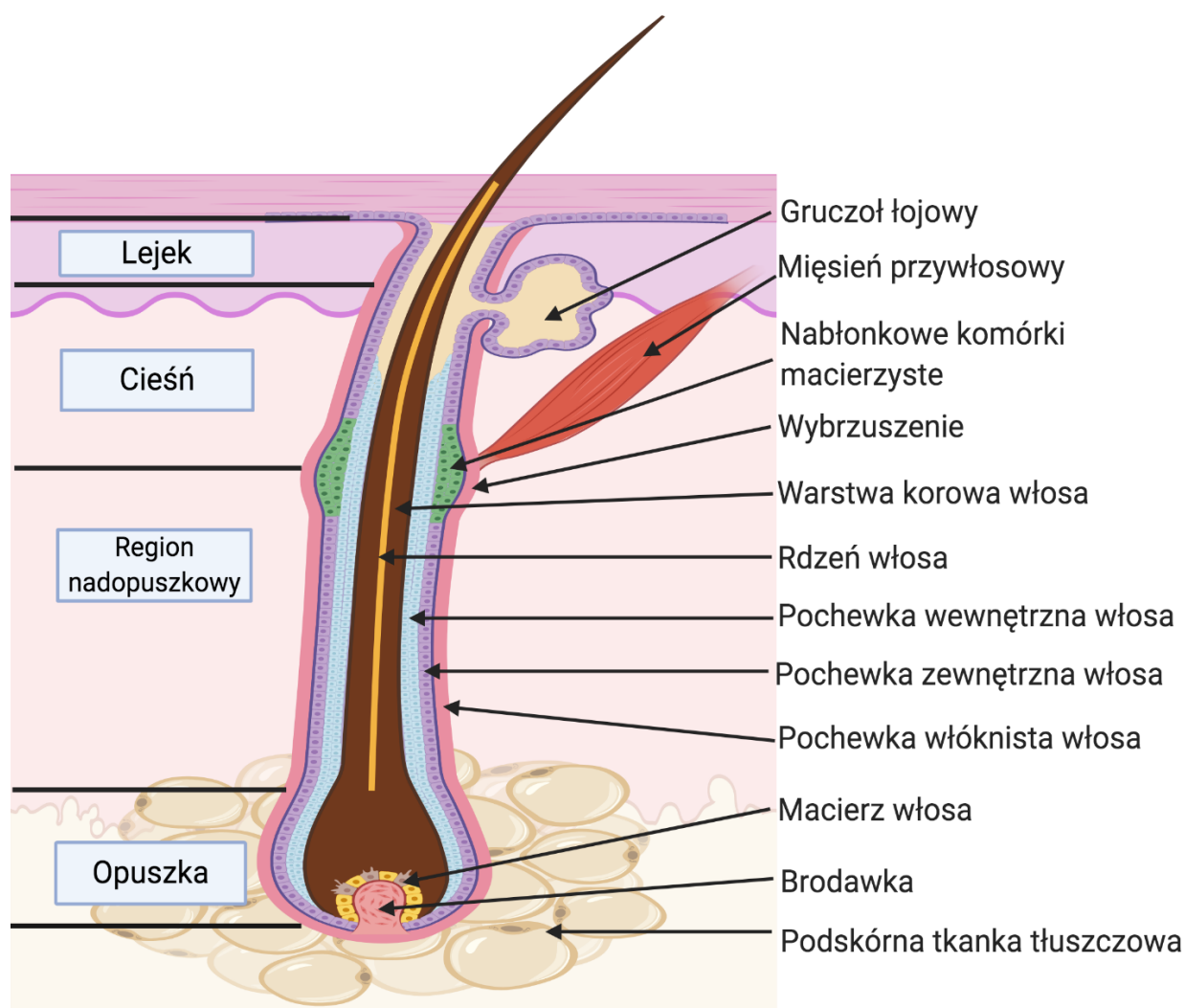
TNF $\alpha$  – czynnik martwicy nowotworów typu alfa (tumor necrosis factor  $\alpha$ )

## 1. WPROWADZENIE.

### 1.1. Budowa włosa.

Włosy są przydatkami skóry. Budowę włosa można podzielić na dwie części: łodygę stanowiącą wolną strukturę wychodzącą ponad powierzchnię naskórka oraz przebiegający ukośnie przez skórę właściwą oraz tkankę podskórną korzeń (Brzezińska-Wcisło i wsp. 2003, Buffoli i wsp. 2014). Łodyga włosa składa się z warstwy korowej, osłonki oraz, w niektórych przypadkach, z centralnie położonego rdzenia. Warstwa korowa, stanowiąca większość włosa, jest zbudowana z podłużnie ułożonych wrzecionowatych keratynocytów zawierających melanine (Burgdorf i wsp. 2010). Osłonka składa się z układających się dachówkowato łusek, które są zrogowaciałymi komórkami (Buffoli i wsp. 2014). Integralność osłonki odgrywa rolę w ochronie łodygi włosa przed czynnikami środowiskowymi.

Rycina 1. Schemat budowy włosa za Buffoli i wsp. 2014.



Mieszek włosowy (ang. Hair follicle – HF) jest kluczową strukturą gwarantującą wzrost włosa (Brzezińska-Wcisło i wsp. 2003). W budowie w pełni rozwiniętego mieszka włosowego na skórze głowy uwzględnia się trzy podstawowe części: dolną obejmującą opuszkę włosa, pośrednią inaczej zwaną cieśnią (łac. isthmus) (rozciągającą się pomiędzy przyczepem mięśnia przywłosnego, a ujściem gruczołu łojowego) oraz górną zwaną lejkiem (łac. infundibulum) (Burgdorf i wsp. 2010). Opuszka włosa składa się z części dolnej zawierającej niezróżnicowane komórki oraz górnej, w której komórki ulegają zróżnicowaniu. Linia, która rozdziela oba regiony, przebiega przez najszerszą część opuszki i nosi nazwę linii Aubera (Buffoli i wsp. 2014). Poniżej linii Aubera leży macierz włosa z aktywnymi mitotycznie komórkami oraz brodawka włosa, która jest zaopatrywana przez pętlę naczyniową odchodzącą od podskórnego spłotu naczyniowego. W macierzy włosa znajdują się także rozproszone melanocyty, które za pomocą licznych wypustek wypełnionych melanosomami przekazują barwnik do wyżej położonych komórek i determinują barwę włosa. Wzrost włosa zależy od złożonych interakcji pomiędzy macierzą, a brodawką włosa mediowanych przez cytokiny, chemokiny i czynniki wzrostu naczyń oraz nerwów (Brzezińska-Wcisło i wsp. 2003, Burgdorf i wsp. 2010).

W przekroju poprzecznym mieszka włosowego wyróżniono kilka warstw. Bezpośrednio do korzenia włosa przylega pochewka wewnętrzna zbudowana z powłoczki, warstwy Huxleya i warstwy Henlego (Buffoli i wsp. 2014). Pochewka wewnętrzna otacza macierz włosa w opuszcze i rozciąga się aż do lejka. Pochewka zewnętrzna w całości otacza mieszek włosowy, a powyżej lejka przechodzi w naskórek (Burgdorf i wsp. 2010). Wybrzuszenie pochewki zewnętrznej (ang. bulge), zlokalizowane pod gruczołem łojowym w miejscu przyczepu mięśnia przywłosowego, zawiera multipotencjalne nabłonkowe komórki macierzyste mieszków włosowych (ang. epithelial hair follicle stem cells – eHFSCs) takie jak komórki macierzyste keratynocytów i melanocytów (Burgdorf i wsp. 2010, Buffoli i wsp. 2014).

## ***1.2. Cykl włosowy.***

Wzrost ludzkich włosów nie następuje w sposób ciągły, ale cykliczny i niesynchronizowany. Cykl wzrostu każdego włosa jest niezależny od włosów sąsiednich, nawet w obrębie tej samej jednostki mieszkowej (Burgdorf i wsp. 2010). Wyróżniamy trzy okresy cyklu włosowego: anagen, czyli fazę wzrostu, katagen stanowiący fazą przejściową oraz telogen będący fazą spoczynku (Vogt i wsp. 2008). W literaturze można również spotkać wyodrębniony czwarty okres uwalniania włosa zwany egzogenem (Van Neste i wsp. 2007).



W warunkach fizjologicznych na skórze owłosionej głowy 85% włosów jest w fazie anagenu, poniżej 1% to włosy katagenowe, a pozostałe 15% jest w okresie telogenu (Burgdorf i wsp. 2010). W trakcie cyklu włosowego przejście w poszczególne etapy jest mediowane kaskadą chemokin, czynników hormonalnych oraz neurotransmiterów (Vogt i wsp. 2008).

Anagen to aktywna faza wzrostu włosa, która w zależności od okolicy trwa od kilku tygodni (kończyny dolne, twarz) do kilku lat (skóra owłosiona głowy). W trakcie anagenu komórki macierzy włosa wykazują największą aktywność mitotyczną, a mieszek włosowy osiąga maksymalną wielkość (Burgdorf i wsp. 2010). Długość włosa zależy od czasu trwania anagenu, co stanowi indywidualną cechę każdego człowieka. Faza katagenu trwa krótko (jeden do dwóch tygodni) i charakteryzuje się regresją większości mieszka włosowego na drodze apoptozy. Brodawki skórne ulegają zanikowi, a włos przybiera kształt maczugowaty. Telogen trwa od dwóch do czterech miesięcy. W tym czasie metabolicznie nieaktywny i zrogowaciały włos jest obecny w górnej części mieszka włosowego (Burgdorf i wsp. 2010). Rozpoczęcie nowego cyklu włosowego jest poprzedzone migracją nabłonkowych komórek macierzystych mieszka włosowego z regionu wybrzuszenia do miejsca, w którym była brodawka skórna. Komórki w opuszcze włosa mają ograniczoną zdolność podziałową (ang. transit amplifying cells - TACs) w porównaniu z komórkami wybrzuszenia (Hsu i wsp. 2014). Te ostatnie dzielą się wolniej, lecz mają nieograniczoną zdolność podziałową. W ostatnim czasie udowodniono, że TACs przyspieszają proliferację eHFSTs poprzez szlak sygnałowy Sonic Hedgehog (Hsu i wsp. 2014). eHFSTs dają początek zarówno keratynocytom macierzy dzielącym się do wyczerpania zdolności podziałowej jak i kolejnym komórkom pnia pozostającym w obszarze wybrzuszenia do następnego anagenu (Hsu i wsp. 2014). Nowy włos anagenowy zastępuje miejsce włosa telogenowego, który zostaje wypchnięty z mieszka.

### ***1.3. Łysienie bliznowaciejące.***

Łysienie bliznowaciejące (ang. Cicatricial alopecia – CA) obejmuje heterogeniczną grupę chorób, w której dochodzi do nieodwracalnej utraty włosów poprzez zastąpienie mieszków włosowych przez tkankę włóknistą. Biorąc pod uwagę struktury objęte procesem zapalnym oraz mechanizmy zaangażowane w procesie bliznowacenia CA można podzielić na pierwotne i wtórne (Olsen i wsp. 2003). Pierwotne łysienie bliznowaciejące (ang. Primary cicatricial alopecia – PCA) jest wynikiem bezpośredniego uszkodzenia mieszka włosowego w procesie zapalnym, podczas gdy do wtórnego CA dochodzi w przebiegu procesów chorobowych

mających miejsce w skórze właściwej takich jak: dermatozy charakteryzujące się nasilonym stanem zapalnym, zakażenia, guzy i urazy (Kanti i wsp. 2018).

Tabela 1. Charakterystyka przyczyn wtórnego łysienia bliznowaciejącego.

| Główne przyczyny   | Przykłady  |
|--|--|
| Czynniki środowiskowe (urazy mechaniczne, chemiczne, promieniowanie) | Oparzenia<br>Niedokrwienie/ucisk<br>Pociąganie, końcowy etap trichotillomanii<br>Promieniowanie jonizujące<br>Substancje toksyczne/żrące (oparzenia kwasowe, zasadowe) |
| Infekcje   | Infekcje bakteryjne<br>Infekcje wirusowe<br>Infekcje grzybicze (w szczególności grzybice skóry owłosionej głowy wywołane przez dermatofity zoofilne)                   |
| Złośliwe i łagodne guzy  | Guzy pierwotne<br>Przerzuty<br>Choroby limfoproliferacyjne<br>Znamiona pochodzenia epidermalnego   |
| Genodermatozy  | Wrodzony ubytek skóry głowy<br>Dysplazja ektodermalna<br>Rybie łuski<br>Nietrzymanie barwnika<br>Choroba Dariera<br>Pęcherzowe oddzielanie się naskórka                |
| Choroby autoimmunologiczne oraz ziarniniakowe                        | Choroba „przeszczep przeciw gospodarzowi”<br>Twardzina „cięcia szablą”<br>Liszaj twardzinowy<br>Pemphigoid pęcherzowy<br>Sarkoidoza<br>Obumieranie tłuszczowate        |
| Dermatozy zapalne oraz choroby spichrzeniowe                         | Łuszczycyca<br>Łupież azbestowy<br>Amyloidoza<br>Mucynoza  |

## ***1.4. Pierwotne łysienie bliznowaciejące***

Pierwotne łysienie bliznowaciejące stanowi dla klinicystów duże wyzwanie diagnostyczne i terapeutyczne, ponieważ wiele pytań na temat jego etiologii i patomechanizmu pozostaje bez odpowiedzi. Wynika to nie tylko ze słabego zrozumienia przyczyn poszczególnych chorób i ich naturalnej historii, ale również z niejasności obowiązującej klasyfikacji. Wobec braku markerów molekularnych charakterystycznych dla poszczególnych jednostek, diagnostyka różnicowa chorób powodujących PCA jest czasem niemożliwa ze względu na nakładające się cechy kliniczne i mikroskopowe. Trudności terapeutyczne są efektem braku badań randomizowanych, na podstawie których przygotowane zostałyby wytyczne leczenia.

### ***1.4.1. Klasyfikacja.***

Zgodnie z obowiązującą klasyfikacją *North American Hair Research Society* z 2001 roku opierającą się na rodzaju nacieku zapalnego dominującego w obrazie histopatologicznym, PCA dzieli się na łysienie z przeważającym naciekiem limfocytarnym, neutrofilowym, mieszanym oraz na grupę niesklasyfikowaną (Olsen i wsp. 2003). Do ostatniej kategorii należą przypadki PCA z niejasnym obrazem klinicznym oraz nierozstrzygającym obrazem histopatologicznym z powodu zaawansowanego bliznowacenia.

Tabela 2. Klasyfikacja PCA według North American Hair Research Society z 2001 roku (Olsen i wsp. 2003)

| Dominujący rodzaj nacieku zapalnego w obrazie histopatologicznym | Rozpoznanie  |
|--|--|
| Limfocytarny   | Liszaj płaski mieszkowy (Lichen planopilaris – LPP) <ul style="list-style-type: none"> <li>• klasyczny LPP</li> <li>• łysienie czołowe bliznowaciejące (Frontal fibrosing alopecia – FFA)</li> <li>• zespół Grahama-Little’a (Graham-Little Syndrome – GLS)</li> </ul> |
|  | Toczeń rumieniowaty krążkowy (Discoid lupus erythematosus – DLE)   |
|  | Łysienie rzekomo bliznowaciejące Brocq’a (Pseudopelade of Brocq - PPB)   |
|  | Mucynoza mieszkowa (Follicular mucinosis – FM)   |
|  | Centralne odśrodkowe łysienie bliznowaciejące (Central centrifugal cicatricial alopecia - CCA)   |
|  | Kolczyste rogowacenie mieszkowe wyłysiające (Keratitis follicularis spinulosa decalvans – KFSD)  |
| Neutrofilowy   | Wyłysiające zapalenie mieszków włosowych (Folliculitis decalvans - FD)   |
|  | Rozwarstwiające zapalenie mieszków włosowych (Perifolliculitis capitis abscedens et suffodiens – PCAS)   |
| Mieszany naciek z neutrofilów i limfocytów                       | Trądzik bliznowaciejący karku (Acne keloides nuchae)   |
|  | Trądzik martwiczy (Acne necrotica)   |
|  | Nadżerkowo krostkowe zapalenie owłosionej skóry głowy (Erosive pustular dermatosis of the scalp)   |
| Grupa nieskasyfikowana   | Idiopatyczne PCA z nierozstrzygającymi cechami klinicznymi i histopatologicznymi   |
|  | Końcowy etap chorób z kręgu PCA  |

#### **1.4.2. Epidemiologia.**

Częstość występowanie pierwotnego łysienia bliznowaciejącego w populacji ogólnej jest słabo poznana. W 10-letnim retrospektywnym badaniu w grupie liczącej blisko 6 tysięcy pacjentów zgłaszających się do kliniki dermatologii z powodu wypadania włosów częstość występowania łysienia bliznowaciejącego wyniosła 7,3% (Whiting 2001). PCA było

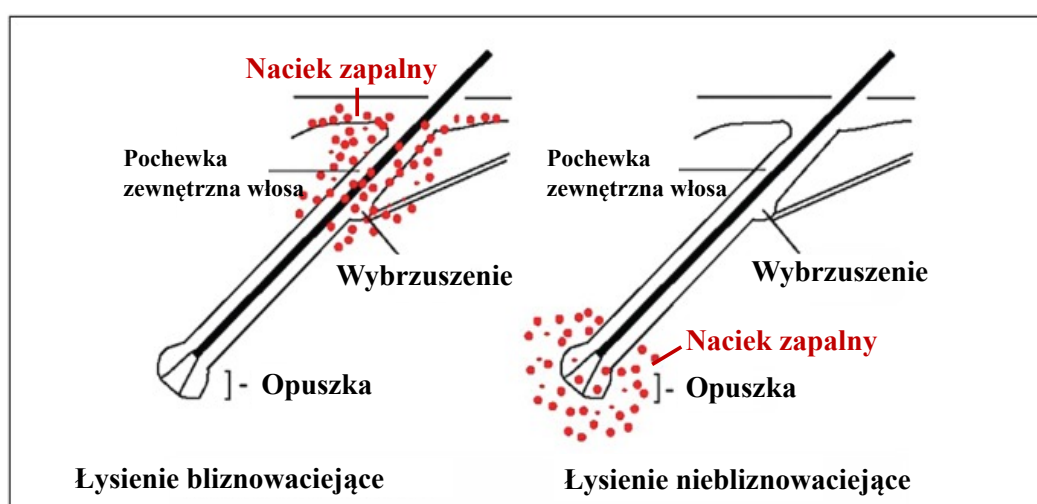
najczęściej obserwowane u kobiet w średnim wieku (średnia wieku 41 lat). U co trzeciego pacjenta z CA, po weryfikacji histopatologicznej, rozpoznano łysienie rzekomo bliznowaciejące Brocq'a (116/358), natomiast co dziesiąty chory prezentował LPP (36/358) oraz DLE (31/358). Częstość występowania pseudopelade w badaniu Whitinga może być zawyżona ze względu na kwalifikację do tej grupy przypadków CA o nierozstrzygającym obrazie histopatologicznym. Najczęstszą diagnozą PCA z naciekiem neutrofilowym było wyłysiające zapalenie mieszków włosowych (9%, 32/358). Wtórne łysienie bliznowaciejące, którego głównymi przyczynami były łysienie z pociągania oraz grzybica skóry głowy, stwierdzono u 20% pacjentów. Tan i wsp. w 5-letnim retrospektywnym badaniu kohortowym ocenili częstość występowania PCA na 3,2% pacjentów zgłaszających się do wyspecjalizowanej kliniki leczenia chorób włosów (Tan i wsp. 2004). Najczęściej obserwowanymi chorobami powodującymi łysienie bliznowaciejące były DLE (33,9%, 38/112), łysienie rzekomobliznowaciejące Brocq'a (24,1%, 27/112) oraz LPP (22,3%, 25/112). PCA z naciekiem limfocytarnym zdecydowanie częściej występowało u kobiet (kobiety: mężczyźni, 2,74:1).

Dotychczasowa próba odpowiedzi na pytanie o częstość występowania PCA w populacji ogólnej opierała się na analizie danych z pojedynczych wyspecjalizowanych ośrodków dermatologicznych. Yoon i Choi po raz pierwszy przeanalizowali dane pacjentów z łysieniem bliznowaciejącym pochodzące z Narodowego Funduszu Zdrowia w Korei Południowej (Yoon i Choi 2018). W 10-letnim badaniu retrospektywnym zapadalność na PCA w ciągu roku wyniosła 6,1 nowych przypadków, a chorobowość 21 pacjentów na 100 000 osób. W odróżnieniu od wyników wcześniejszych badań epidemiologicznych, Yoon i Choi podali, że u znaczącej większości pacjentów (80%, 504/615) obserwowano PCA z naciekiem neutrofilowym. Co ciekawe, PCA rozpoznawano głównie u mężczyzn (kobiety: mężczyźni, 1:1,4) poniżej 40 roku życia (63%). Ograniczeniem badania było nieuwzględnienie w klasyfikacji pierwotnego łysienia bliznowaciejącego toczenia rumieniowatego krążkowego, który częściej występuje w populacji kobiet w Azji (Bae i wsp. 2009). We wspomnianych pracach rozbieżności w danych epidemiologicznych (płeć, średni wiek zachorowania) prawdopodobnie wynikają z częstszego występowania PCA z naciekiem limfocytarnym w populacji kaukaskiej w porównaniu do azjatyckiej, w której częściej obserwuje się PCA z naciekiem neutrofilowym.

### 1.4.3. Patogeneza.

Etiopatogeneza pierwotnego łysienia bliznowaciejącego nie została dostatecznie poznana. W przeciwieństwie do łysienia niebliznowaciejącego, w którym naciek zapalny lokalizuje się głównie w obrębie opuszki włosa, w łysieniu bliznowaciejącym uszkodzeniu ulega region wybrzuszenia zawierający nabłonkowe komórki macierzyste (Harries i Paus 2010). Konsekwencją zniszczenia części mieszka włosowego zawierającej eHFSCs odpowiedzialnych za jego regenerację jest trwały ubytek owłosienia.

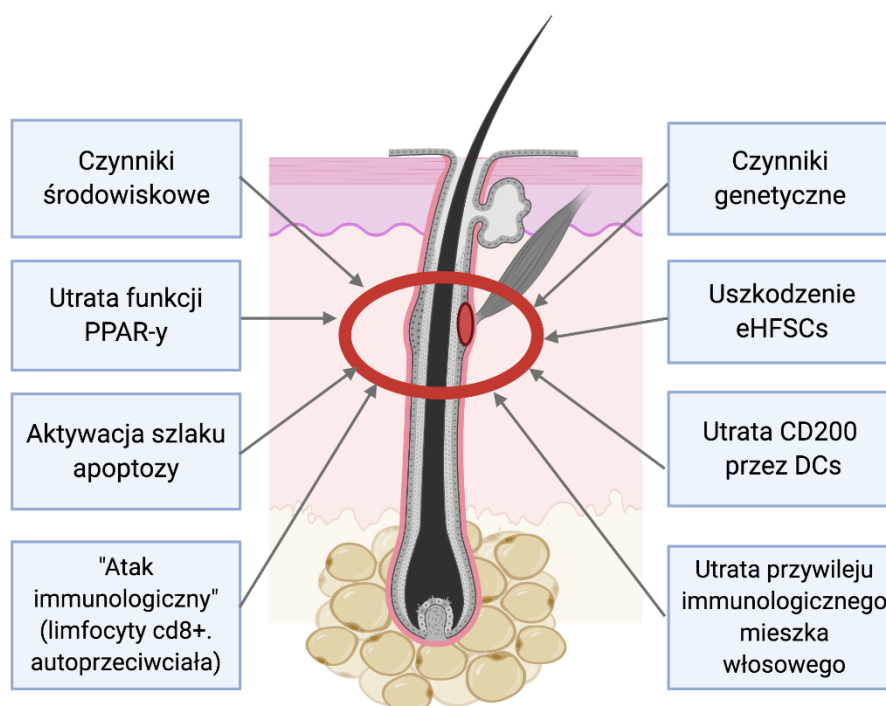
Rycina 2. Wzory nacieku zapalnego typowego dla trwałej oraz odwracalnej utraty włosów. Zaadaptowano z Cotsarelis i Millar 2001.



Z uwagi na fakt, że w łysieniu bliznowaciejącym naciek komórek zapalnych jest zlokalizowany głównie w obrębie *bulge*, uszkodzenie nabłonkowych komórek macierzystych mieszków włosowych wydaje się być kluczowym elementem patogenezy choroby. Dowodem na słuszność tej hipotezy są wyniki badań, w których wykazano obniżoną ekspresję keratyny 15, biomarkera charakterystycznego dla rejonu przewężenia mieszka włosowego, w grupie pacjentów z LPP (Pozdnyakova i Mahalingam 2008) i DLE (Al-Refu i wsp. 2009). Poziom ekspresji keratyny 15 ujemnie korelował z gęstością okołomieszkowego nacieku zapalnego, co może świadczyć o destrukcji łoża z eHFSCs lub o ich zróżnicowaniu w celu regeneracji HF. Na istotne znaczenie eHFSCs w prawidłowym funkcjonowaniu mieszka włosowego wskazują również wyniki badań przeprowadzonych na modelach zwierzęcych. Ito i wsp. wywołali ukierunkowaną destrukcję regionu *bulge* poprzez wprowadzenie do modelu mysiego genu samobójczego (ang. Suicide gene) kodującego kinazę tymidynową wirusa opryszczki (HSV-

TK) z promotorem keratyny 15 (Ito i wsp. 2005). Kiedy fragmenty skóry myszy zmodyfikowanych genetycznie zostały przeszczepione innym myszom z niedoborem odporności, w obrębie skóry przeszczepionej nastąpiła szybka i nieodwracalna utrata owłosienia bez cech zapalenia. Autorzy badania sugerują zatem, że eHFSCs odgrywają ważną rolę w aktywacji procesów zapalnych w celu ochrony mieszka włosowego przed uszkodzeniem.

Rycina 3. Potencjalne czynniki odgrywające rolę w patogenezie PCA. Zaadaptowano z Harries i Paus 2010.



PPAR- $\gamma$  – receptory aktywowane przez proliferatory peroksysomów gamma, eHFSCs – nabłonkowe komórki macierzyste mieszka włosowego, DCs – komórki dendrytyczne

#### 1.4.3.1. Teoria immunologiczna.

Pomimo że ujścia mieszków włosowych występują na skórze w liczbie ponad pięciu milionów i mogłyby stanowić łatwe i dostępne wrota infekcji dla patogenów, to jednak folliculitis o etiologii bakteryjnej i grzybiczej nie występuje często (Harries i Paus 2010). Podobne obserwacje skłoniły badaczy do poszukiwania sposobów wyciszania odpowiedzi odpornościowej w obrębie mieszka włosowego w kontekście opracowania modelu mini-organu uprzywilejowanego immunologicznie (Paus i wsp. 2005). W nabłonku HF stwierdzono liczne komórki zaangażowane w procesie odporności wrodzonej (mastocyty, makrofagi, komórki

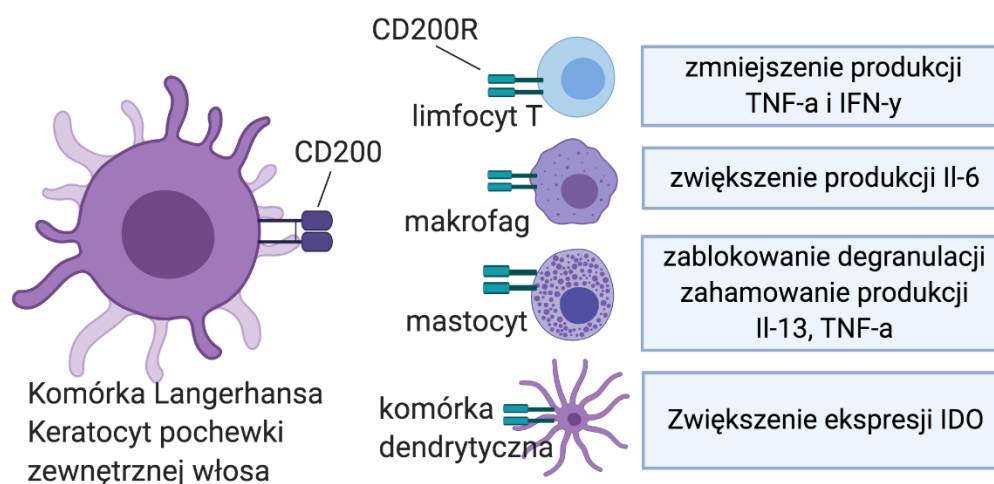
Langerhansa), a także nabytej (śródnabłonkowe limfocyty T) (Meyer i wsp. 2008). Dodatkowo w dystalnej części mieszka włosowego wykazano zwiększoną ekspresję peptydów o aktywności przeciwbakteryjnej takich jak: katelicydyna, ludzka beta-defenzyna 2, psoriazyna i RNaza (Reithmayer i wsp. 2009).

Mieszek włosowy jest objęty tzw. przywilejem immunologicznym (ang. immune privilege – IP), czyli systemem mechanizmów wyciszających ewentualną reakcję immunologiczną w kierunku własnych antygenów (Paus i wsp. 2005). W nabłonku HF stwierdzono cytokiny o właściwościach immunosupresyjnych takie jak transformujący czynnik wzrostu beta 1 (ang. Transforming growth factor beta 1 – TGF- $\beta$ 1) (Waldmann 2006). W kontekście patogenezy pierwotnego łysienia bliznowaciejącego należy podkreślić, że obszar IP obejmuje również region wybrzuszenia. Meyer i wsp. wykazali w rejonie *bulge* obniżoną ekspresję białek głównego układu zgodności tkankowej klasy I i II (ang. Major histocompatibility complex I, II - MHC I, II) oraz zwiększoną ekspresję cytokin immunosupresyjnych: TGF- $\beta$ 1 oraz czynnika zahamowania migracji makrofagów (ang. Macrophage migration inhibitory factor – MMIF) (Meyer i wsp. 2008). Opisane zjawiska dotyczą odporności wrodzonej, nieswoistej, ale warto zaznaczyć, że w obrębie mieszka włosowego dochodzi również do upośledzenia mechanizmów odporności nabytej. Przykładowo, aktywność limfocytów T jest hamowana poprzez nadprodukcję indolamino-2,3-dioksygenazy (IDO) przez komórki dendrytyczne. IDO jest enzymem biorącym udział w procesie metabolizmu tryptofanu, którego katabolity działają immunosupresyjnie na limfocyty T (Meyer i wsp. 2008).

Kolejną substancją odgrywającą ważną rolę w utrzymaniu przywileju immunologicznego mieszka włosowego jest cząsteczka CD200 należąca do glikoprotein transbłonowych, która w literaturze określana jest mianem „sygnału braku zagrożenia” (Rosenblum i wsp. 2004). Specyficzną nadekspresję immunoglobuliny CD200 stwierdzono w rejonie *bulge* (Meyer i wsp. 2008). CD200 hamuje wydzielanie cytokin prozapalnych przez aktywowane limfocyty T w warunkach *in vitro* (Rosenblum i wsp. 2004). Skutkiem interakcji białka CD200 obecnego na powierzchni komórek Langerhansa z receptorem CD200R na komórkach dendrytycznych, mastocytach i makrofagach jest upośledzenie reakcji immunologicznej, co przejawia się zwiększonym wytwarzaniem interleukiny 10 (IL-10), zmniejszonym wytwarzaniem cytokin przez limfocyty T pomocnicze typu I (T helper - Th1) oraz indukcją limfocytów T regulatorowych (Kawasaki i Farrar 2008). Co więcej, dezaktywacja CD200 w modelu mysim prowadziła do powstania zapalenia okołomieszkowego, a w konsekwencji do rozwoju PCA i bliznowacenia (Rosenblum i wsp. 2004).



Rycina 4 Mechanizm działania CD200 w mieszk włosowym (Rosenblum i wsp. 2004).



Postuluje się, że uszkodzenie HF w przebiegu łysienia bliznowaciejącego jest spowodowane aktywacją autoreaktywnych limfocytów w odpowiedzi na nieznany antygen, zlokalizowany w obrębie mieszka włosowego (Harries i Paus 2010). Harries i wsp. analizowali cechy immunohistopatologiczne w biopsjach skórnych pacjentów z łysizajem płaskim mieszkowym i wykazali zwiększoną ekspresję kluczowych markerów stanu zapalnego (MHC klasy I i II,  $\beta$ 2mikroglobulina) oraz obniżoną ekspresję markerów tolerancji immunologicznej (CD200, TGF- $\beta$ 1) (Harries i wsp. 2013). Co więcej, badacze dowiedli, że interferon- $\gamma$  może zapoczątkowywać kaskadę innych cytokin zapalnych. Imanishi i wsp. dowiedli, że obecność przewlekłego stanu zapalnego w przebiegu postępującego łysienia bliznowaciejącego może doprowadzić do przejścia epitelialno-mezenchymalnego (ang. Epithelial-mesenchymal transition – EMT) w obrębie wybrzuszenia. W tym procesie nabłonkowe komórki macierzyste tracą aktywność mitotyczną i przyjmują morfologiczne cechy zbliżone do fibroblastów (Imanishi i wsp. 2018). Zastąpienie komórek pnia tkanką włóknistą jest związane z nieodwracalną postacią łysienia. Teoria utraty przywileju immunologicznego eHFSCs mogłaby zatem wyjaśniać utrzymywanie się reakcji zapalnej mediowanej przez limfocyty i neutrofile, ale do tej pory nie zidentyfikowano antygeny/czynnika wywołującego odpowiedź autoimmunologiczną.

### ***1.4.3.2. Teoria zaburzeń lipidowych.***

U pacjentów z CA w porównaniu z pacjentami z łysieniem niebliznowaciejącym częściej dochodzi do atrofii gruczołów łojowych (Al-Zaid i wsp. 2011). Atroficzne bądź nieobecne gruczoły łojowe obserwuje się już na początku rozwoju FFA (Miteva i Sabiq 2019). Ich utrata powoduje uszkodzenie pochewki wewnętrznej korzenia włosa, przerwanie cyklu włosowego, a w konsekwencji włóknienie mieszków włosowych (Sundberg i wsp. 2000). Analiza ekspresji genów u pacjentów z LPP wskazała na możliwą rolę receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksysomów gamma (ang. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ -PPAR- $\gamma$ ) w patogenezie PCA (Karnik i wsp. 2009). PPAR- $\gamma$  biorą udział w utrzymaniu homeostazy lipidów, dojrzewaniu sebocytów oraz biogenezie peroksysomów.

Nowy model patogenezy łysienia bliznowaciejącego mówi o tym, że utrata funkcji PPAR- $\gamma$  prowadzi do obniżonej produkcji peroksysomów, co wpływa na zaburzenie równowagi lipidowej w jednostce włosowo-łojowej. Badania kliniczne, w których stosowano agonistę PPAR- $\gamma$  (pioglitazon), przyniosły obiecujące rezultaty - u 73% pacjentów (16/22) obserwowano stabilizację choroby (Mesinkovska i wsp. 2015). Postuluje się, że aktywacja PPAR- $\gamma$  ma również działanie przeciwzapalne i immunosupresyjne poprzez hamowanie wytwarzania interleukiny 2 niezbędnej w procesie różnicowania limfocytów T biorących udział we wtórnej odpowiedzi immunologicznej (Clark i wsp. 2000). W modelu mysim delecja genu PPAR- $\gamma$  powodowała trwałą utratę owłosienia oraz cechy kliniczne charakterystyczne dla LPP (Karnik i wsp. 2009). Warto zaznaczyć, że istnieją badania, w których nie wykazano istotnej różnicy w ekspresji PPAR- $\gamma$  w biopsjach skórnych pobranych z obszarów aktywnych oraz wolnych od procesu chorobowego u pacjentów z LPP (Harries i wsp. 2013).

### ***1.4.3.3. Teoria środowiskowa.***

Wiele czynników środowiskowych takich jak: infekcje, leki, urazy było przedmiotem dyskusji badaczy jako potencjalne punkty wyjścia rozwoju procesów zapalnych. Przykładowo wystąpienie FD wiązano z infekcją gronkowcową, ponieważ niemal za każdym razem w posiewie bakteriologicznym ze zmian skórnych izolowano *Staphylococcus aureus*, a choroba ustępowała po celowanej antybiotykoterapii (Powell i Dawber 2001). W innym badaniu, które w obecnych czasach na pewno nie zostałoby zaakceptowane przez komisje bioetyczne, wykazano, że powstawanie nowych ognisk *acne necrotica* można wywołać wstrzykując

pacjentowi gronkowce oraz paciorkowce wyizolowane z jego aktywnych zmian (Strumia 1924).

Urazy mechaniczne są również wymieniane jako potencjalne czynniki wywołujące pierwotne łysienie bliznowaciejące. Sposób układania włosów, a w szczególności noszenie ciasnych koków i warkoczy, może predysponować do rozwoju CCCA (Kyei i wsp. 2011). Co ciekawe, pacjenci, u których rozpoznano PCA częściej korzystali z chemicznego prostowania włosów, ale inne zabiegi upiększające takie jak: trwała ondulacja lub farbowanie włosów prawdopodobnie nie miały wpływu na rozwój choroby (Marks i wsp. 2019). Coraz popularniejsze zabiegi medycyny estetycznej oraz chirurgii plastycznej mogą poprzedzać rozwój PCA. W literaturze odnotowano kilka przypadków wystąpienia LPP po przeszczepieniu włosów, a FFA po chirurgicznym liftingu twarzy (Chiang i wsp. 2012). Za powstanie ognisk wyłysienia mógł odpowiadać objaw Koebnera polegający na wystąpieniu zmian skórnych w miejscach zadziaływania bodźca mechanicznego. Nawet wiele lat po udanym przeszczepie włosów może dojść do powstania PCA. Otberg i wsp. opisali przypadek mężczyzny, u którego 20 lat po przeszczepieniu włosów z powodu łysienia androgenowego wystąpiły swędzące zmiany krostkowe zweryfikowane histopatologicznie jako FD (Otberg i wsp. 2009). Co ciekawe, zmiany w przebiegu FD występowały wyłącznie w miejscach wszczepionych graftów.

Ekspozycja na leki i kosmetyki również może stanowić czynnik ryzyka rozwoju PCA. Moreno-Arrones i wsp opisali zaskakujące obserwacje na temat możliwych czynników środowiskowych biorących udział w patogenezie FFA (Moreno-Arrones i wsp. 2019). Autorzy pracy przeprowadzili wielośrodowe badanie kliniczno-kontrolne w grupie ponad 700 pacjentów z FFA. W szczegółowych kwestionariuszach zawarto pytania na temat wywiadu środowiskowego, hormonalnego, ekspozycji na leki, statusu zawodowego, socjalnego, stylu życia oraz diety. Za pomocą analizy regresji wielu zmiennych wykazano, że stosowanie kremów anti-aging ( $OR=1,6$ ), kremów z filtrem przeciwsłonecznym ( $R=1,6$ ) oraz hormonalnej terapii zastępczej ( $OR=1,76$ ) może predysponować do rozwoju FFA. Mechanizm działania miejscowej fotoprotekcji prowadzący do bliznowacenia do tej pory nie został objaśniony.

W doświadczeniach na modelach mysich wykazano, że stres psychoemocjonalny może prowadzić do stanu zapalnego wokół mieszków włosowych (Peters i wsp. 2006). Czynniki emocjonalny wpływa na cykl włosowy poprzez wydzielanie neuropeptydów takich jak: substancja P (ang. Substance P – SP) oraz czynnik wzrostu nerwów (ang. Nerve growth factor - NGF), które biorą udział w powstaniu neurogennego zapalenia. Zwiększona produkcja SP i NGF w odpowiedzi na bodziec stresowy prowadzi do degranulacji mastocytów,

przedwczesnego katagenu oraz apoptozy keratynocytów mieszka włosowego (Peters i wsp. 2006). W kontekście patogenezy PCA należy podkreślić, że włókna nerwowe wydzielające SP są zlokalizowane głównie w obrębie *bulge*. U pacjentów z łysieniem bliznowaciejącym ekspresja SP jest większa w obrębie skóry zajętej procesem chorobowym w porównaniu ze skórą zdrową (Doche i wsp. 2015). Z uwagi na fakt, że SP jest również znanym czynnikiem wzrostu fibroblastów, procesy bliznowacenia mogą mieć również podłoże neurogenne (Nilsson i wsp. 1985).

#### ***1.4.3.4. Teoria genetyczna.***

Na możliwe podłoże genetyczne rozwoju PCA, a w szczególności FFA, wskazują liczne opisy przypadków występowania tej samej choroby wśród rodzeństwa oraz członków rodziny. Porrino-Bustamante i wsp. opisali serię 20 przypadków łysienia czołowego bliznowaciejącego wśród dziewięciu rodzin (Porriño-Bustamante i wsp. 2019). Schorzenie najczęściej występowało u sióstr. W największym do tej pory wielośrodkowym badaniu kohortowym wykazano dodatni wywiad rodzinny w kierunku FFA u 8% pacjentów (28/355) (Vaño-Galván i wsp. 2014). Ciekawym spostrzeżeniem jest fakt, że w momencie postawienia diagnozy matki były najczęściej w wieku po-, a córki przedmenopauzalnym (Navarro-Belmonte i wsp. 2015). Prawdopodobnie wynika to z szybszych konsultacji dermatologicznych powodowanych znajomością choroby przez córki. Najważniejszą pracą dotyczącą podłoża genetycznego FFA jest badanie asocjacyjne całego genomu przeprowadzone przez Tziotziosa i wsp. (Tziotzios i wsp. 2019). W grupie 844 kobiet ze zweryfikowaną diagnozą FFA autorzy badania zidentyfikowali 4 loci, których warianty genetyczne mogą predysponować do rozwoju schorzenia. Największy związek z FFA ma locus 6p.21.1 zlokalizowany o obrębie regionu kodującego MHC. Białka głównego układu zgodności tkankowej są odpowiedzialne za prezentację antygenów limfocytom T i wyzwalanie reakcji odpornościowych (Harries i wsp. 2010). W przeciwieństwie do osób zdrowych, u których wykazano zmniejszenie ekspresji białek MHC w obrębie mieszka włosowego (Meyer i wsp. 2008), u pacjentów z PCA stwierdzono ich nadekspresję (Harries i wsp. 2013). Wyniki badania Tziotziosa i wsp. mogą zatem stanowić kolejny argument na potwierdzenie hipotezy o utracie przywileju immunologicznego w patogenezie PCA.

Rodzinne występowanie LPP i DLE zdarza się rzadko. Misiak-Galazka i wsp. (2015) udokumentowali 3 przypadki LPP wśród kobiet w wielopokoleniowej rodzinie (Misiak-Galazka i wsp. 2016). U wszystkich pacjentek początek choroby był obserwowany we


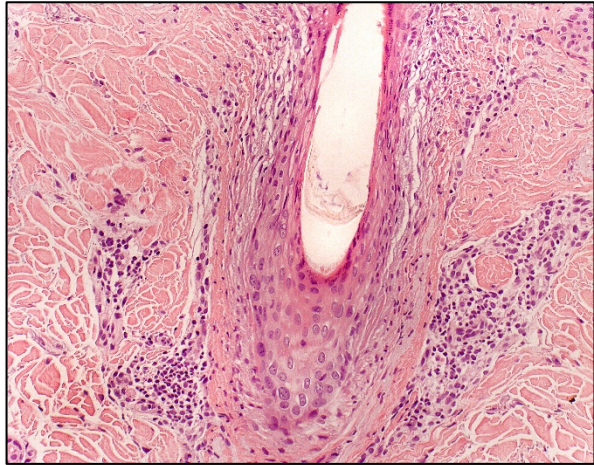

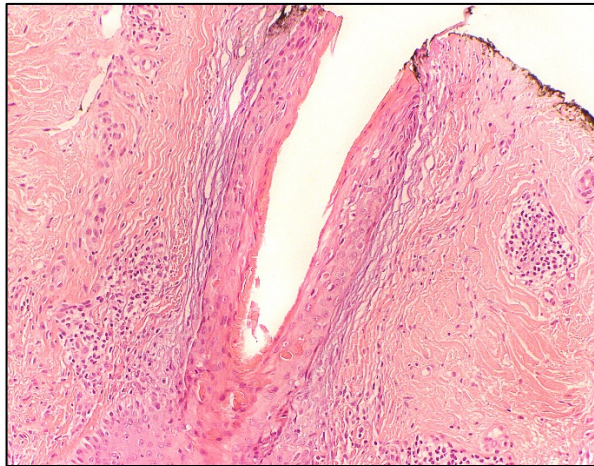
wczesnym wieku. Pavlovsky i wsp. wykazali, że LPP może mieć związek z dwoma allelami genu HLA, natomiast ważnym ograniczeniem badania była mała liczba osób badanych (40 chorych) (Pavlovsky i wsp. 2015).


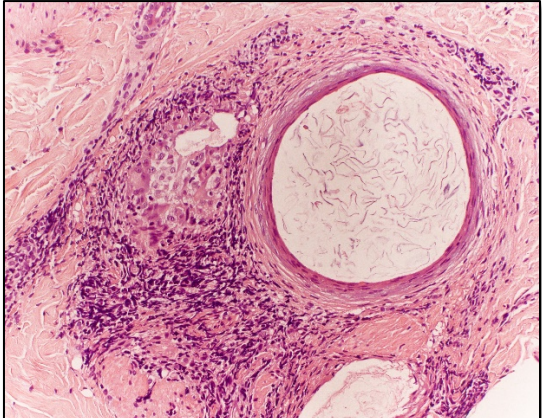

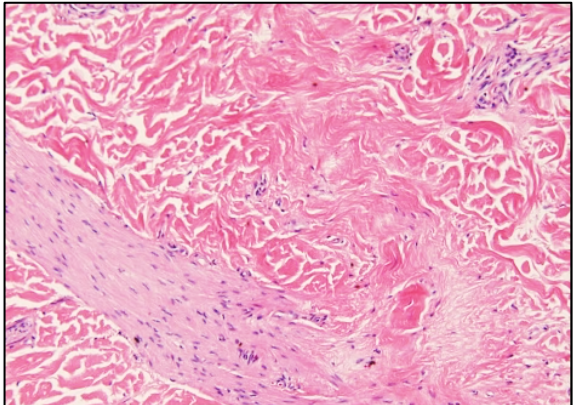
#### ***1.4.4. Pierwotne łysienie bliznowaciejące z naciekiem limfocytarnym***


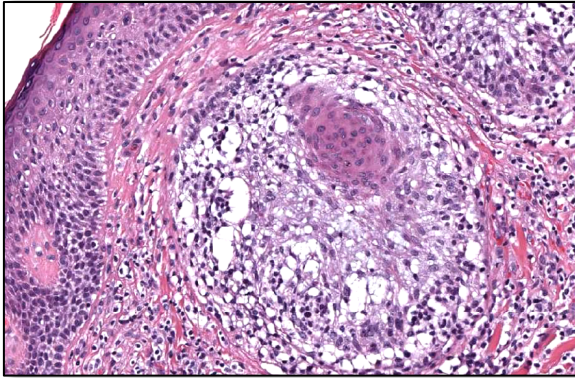

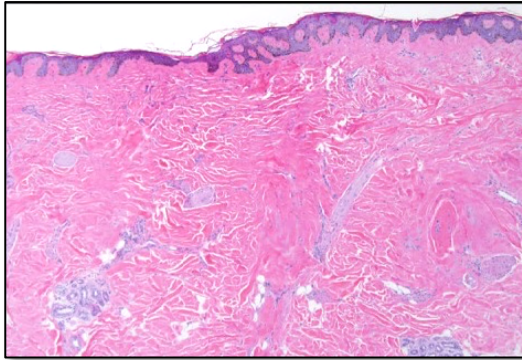
Pierwotne łysienie bliznowaciejące należy podejrzewać, gdy w badaniu klinicznym w obrębie ognisk wyłysienia nie są widoczne ujścia mieszków włosowych. Kolejną cechą większości podtypów PCA jest występowanie stanu zapalnego pod postacią rumienia oraz złuszczenia okołomieszkowego. W zależności od rodzaju PCA z naciekiem limfocytarnym w badaniu klinicznym można również zaobserwować atrofię skóry, teleangiektazje, pojedyncze włosy terminalne, a także typowe dla poszczególnych chorób zmiany skórne w innych regionach ciała (Kanti i wsp. 2018).

W badaniu mikroskopowym końcowym etapem naturalnej historii chorób z grupy PCA jest zastąpienie mieszków włosowych tkanką włóknistą. Wybór miejsca, z którego zostanie pobrana biopsja sztancowa jest kluczowy dla postawienia właściwego rozpoznania. Biopsje należy pobrać z obszaru objętego aktywnym procesem chorobowym (o którym może świadczyć dodatni wynik testu pociągania) oraz wykonać równoległe do kierunku wzrostu włosa. 4mm biopsje sztancowe mogą być analizowane w płaszczyźnie poziomej lub pionowej. Skrojenia horyzontalne umożliwiają ocenę maksymalnej liczby mieszków włosowych na różnych poziomach, ale w przeciwieństwie do skrojów wertykalnych nie obrazują całościowego wzorca nacieku zapalnego w obrębie połączenia skórno-naskórkowego (Somani i Bergfeld 2008). Okołomieszkowe oraz wewnątrz mieszkowe zapalenie może prowadzić do dwóch typów zmian w skórze właściwej: włóknienia i szkliwienia (Somani i Bergfeld 2008). Powstanie blizny wiąże się z nadmiernym włóknieniem, utratą włókien elastynowych, struktur przydatkowych oraz procesem neowaskularyzacji. Szkliwienie ma miejsce wtedy, gdy grube pęczki kolagenu ściśle sąsiadują z „hipertroficznymi” włóknami elastynowymi. Dodatkowe barwienia uwidaczniające włókna elastynowe, złogi mucyny, błonę podstawną, a także bezpośrednio badanie immunohistochemiczne (ang. direct immunofluorescence - DIF) są często niezbędne do postawienia diagnozy (Somani i Bergfeld 2008). Pomimo wykonania panelu badań immunohistochemicznych nierzadko obraz kliniczny i mikroskopowy poszczególnych chorób nie są rozstrzygające, a w badaniu histopatologicznym obserwuje się niespecyficzne cechy późnej fazy łysienia bliznowaciejącego.

Tabela 3. Obraz kliniczny i histopatologiczny różnych rodzajów PCA z naciekiem limfocytarnym (Harries i Paus 2010, Kanti i wsp. 2018).

| Rodzaj PCA | Obraz kliniczny   | Obraz histopatologiczny   |
|------------|---|---|
| LPP        |  <p data-bbox="323 857 770 1220">           Okolica ciemieniowa i wierzchołkowa<br/>           Okołamieszkowy rumień i hiperkeratoza, często pod postacią „kołnierzy okołamieszkowych”<br/>           Aktywność choroby na obrzeżu ognisk wyłysienia<br/>           Nierzadko zmiany o charakterze liszaja płaskiego w innych częściach ciała         </p> |  <p data-bbox="802 864 1409 1339">           Naciek limfocytarny w okolicy lejka i cieśni<br/>           Liszajopodobny naciek limfocytarny na granicy skórno-naskórkowej (<i>interface dermatitis</i>)<br/>           Utrata gruczołów łojowych<br/>           Naciek zapalny wokół powierzchniowego splotu naczyniowego<br/>           Brak włókien elastynowych, blizna w kształcie klina<br/>           Brak złogów mucyny<br/>           Brak okołogruczołowego nacieku zapalnego<br/>           DIF: ciała koloidowe w klasie IgM (Somani i Bergfeld 2008)         </p> |
| FFA        |  <p data-bbox="323 1827 770 2040">           Okolica czołowo-ciemieniowa<br/>           Cofnięcie linii włosów w kształcie obręczy<br/>           Rumieniowe grudki okołamieszkowe z hiperkeratozą<br/>           Objaw „osamotnionego włosa”         </p>   |  <p data-bbox="802 1827 1393 2011">           Mniejszy liszajopodobny naciek limfocytarny w porównaniu do LPP, więcej komórek ulegających apoptozie<br/>           Proces zapalny obejmuje również obszar poniżej cieśni (Poblet i wsp. 2006)         </p>  |

|     |  |  |
|-----|--|--|
|     | <p>Częsta utrata brwi<br/>         Niezapalne grudki na twarzy (ang. facial papules)</p>   | <p>Obecność hipertroficzných gruczołów łojowych (Pedrosa i wsp. 2017)<br/>         Okołamieszkowe oraz wewnątrz mieszkowe nacieki komórek Langerhansa (Ma i wsp. 2017)</p>   |
| DLE |  <p>Okolice wierzchołkowa<br/>         Mnogie ogniska<br/>         Wyraźny rumień, hiperkeratoza mieszkowa, atrofia skóry, teleangiektazje, zaczerwienione ujścia mieszków włosowych<br/>         Aktywność choroby w centrum ognisk wyłysienia<br/>         Często zmiany o typie DLE na małżowinach usznych i na twarzy</p> |  <p>Okołamieszkowy i wewnątrz mieszkowy naciek limfocytarny w okolicy lejka i cieśni<br/>         Hiperkeratoza mieszkowa<br/>         Atrofia naskórka<br/>         Pogrubienie błony podstawnej<br/>         Zwyrodnienie wodniczki komórek warstwy podstawnej w obrębie połączenia skórno-naskórkowego.<br/>         Powierzchnowe i głębokie nacieki limfocytarne oraz plazmocytarne wokół przydatków oraz naczyń<br/>         Złogi mucyny w warstwie brodawkowatej skóry właściwej<br/>         Utrata włókien elastynowych<br/>         DIF: złogi C3 i IgG w obrębie połączenia skórno-naskórkowego (Somani i Bergfeld 2008)</p> |
| PPB |  <p>Okolice ciemieniowa i wierzchołkowa</p>   |  <p>Niewielki naciek komórek zapalnych<br/>         Gęste pęczki włókien kolagenowych</p>  |

|      |   |   |
|------|---|---|
|      | <p>Brak cech zapalenia i hiperkeratozy<br/>Lśniące, gładkie, porcelanowo białe ogniska – „ślady stóp na śniegu”</p>   | <p>Brak nadmiernego bliznowacenia<br/>Brak zaczopowania mieszków włosowych<br/>Utrata gruczołów łojowych<br/>Prawidłowy lub atroficzny naskórek (Braun-Falco i wsp. 1986)<br/>W odróżnieniu od LPP i DLE zachowana sieć włókien elastynowych (Elston i wsp. 2000)</p>   |
| FM   |  <p>Okolice głowy i szyi<br/>Rumieniowe grudki przymieszkowe często z ułamanym włosom<br/>Może współwystępować z chorobami hematologicznymi</p>                                |  <p>Złogi mucyny w obrębie mieszka włosowego<br/>Obecność eozynofili<br/>Niewielki naciek limfocytarny wokół powierzchniowego i głębokiego splotu naczyniowego – idiopatyczna mucynoza<br/>Gęsty naciek atypowych limfocytów wykazujących epidermotropizm – wtórna mucynoza (Rongioletti i wsp. 2010)</p>                     |
| CCCA |  <p>Typowo u Afroamerykanek<br/>Okolice wierzchołkowa i ciemieniowa<br/>Brak cech zapalenia<br/>Ognisko wyłysienia szerzy się odśrodkowo<br/>Politrychia i włosy ułamane</p> |  <p>Niewielki naciek zapalny na poziomie cieśni i lejka<br/>Hialinizacja kolagenu w skórze właściwej z rozgałęziającymi się kolumnami włóknienia (ang. <i>fibrous tracts</i>)<br/>Przedwczesne złuszczenie wewnętrznej pochewki włosa<br/>Pogrubione włókna elastynowe otaczają obszary włóknienia (Elston i wsp. 2013)</p> |



|             |   |  |
|-------------|---|--|
| <p>KFSD</p> |  <p>Występuje u dzieci<br/>Hiperkeratoza przymieszkowa<br/>Poza skórą głowy, częste zajęcie brwi, rzęs, rogowacenie przymieszkowe na tułowiu</p> |  <p>Obraz mikroskopowy z pracy Malvankar i Sacchidanand 2015.<br/>Hiperkeratoza, hipergranuloza i parakeratoza mieszkowa<br/>Niewielki okołomieszkowy oraz okołonaczyniowy naciek limfocytarny<br/>Okołomieszkowy i wewnątrz mieszkowy stan gąbczasty<br/>Krosty neutrofilowe we wczesnej fazie choroby (Somani i Bergfeld 2008)<br/>Utrata wewnętrznej i zewnętrznej pochewki włosa (Maroon 1992)</p> |
|-------------|---|--|

LPP – liszaj płaski mieszkowy; FFA – łysienie czołowe bliznowaciejące; DLE – toczeń rumieniowaty krążkowy; PPB – łysienie rzekomo bliznowaciejące Brocq’a; FM – mucynoza mieszkowa; CCCA – centralne odśrodkowe łysienie bliznowaciejące; KFSD – kolczyste rogowacenie mieszkowe wyłysiające

#### ***1.4.4.1. Liszaj płaski mieszkowy.***

Liszaj płaski mieszkowy jest mieszkową postacią liszaja płaskiego charakteryzującą się występowaniem mnogich, zlewających się ognisk wyłysienia z umiarkowanym rumieniem i złuszczeniem okołomieszkowym (Bolduc i wsp. 2016). Wyróżnia się trzy warianty LPP o podobnym obrazie klinicznym oraz histopatologicznym: postać klasyczną, łysienie czołowe bliznowaciejące oraz zespół Grahama-Little’a (Ross i wsp. 2005). Postać klasyczna LPP występuje głównie u kobiet rasy kaukaskiej w wieku okołomenopauzalnym (kobiety:mężczyźni - 1,8:1). U mężczyzn obserwuje się wcześniejszy początek choroby. Bardzo rzadko LPP jest diagnozowany u dzieci (Ross i wsp. 2008). Zazwyczaj zmiany lokalizują się na skórze owłosionej głowy w okolicy ciemieniowej i wierzchołkowej, ale LPP może również występować na twarzy oraz w innych okolicach ciała. Początkowo niewielkie i nieliczne ogniska mają tendencję do zajmowania rozległych obszarów skóry owłosionej. Zmiany paznokciowe oraz zajęcie śluzówki jamy ustnej występuje u mniej niż 10 procent pacjentów (Chierigato i wsp. 2003). Charakterystyczne czerwone lub fioletowe zlewne grudki

w przebiegu liszaja płaskiego stwierdza się u 20 procent pacjentów z LPP (Babahosseini i wsp. 2019). W grupie chorych na LPP obserwowano częstsze występowanie niedoczynności tarczycy, trądziku różowatego oraz raków skóry (Manatis-Lornell i wsp. 2020).

Wykwitem pierwotnym dla LPP jest drobna rumieniowa grudka z towarzyszącą hiperkeratozą wokół mieszka włosowego. W aktywnej fazie choroby test lekkiego pociągania jest dodatni zarówno wobec włosów anagenowych jak i telogenowych (Kowalska-Olędzka i wsp. 2012). Aktywność choroby, wyrażona utrzymywaniem się rumienia i złuszczenia okołomieszkowego, jest widoczna na granicy ognisk chorobowych oraz skóry pozornie niezmienionej. W późnych stadiach choroby dochodzi do całkowitego zaniku mieszków włosowych oraz zastąpienia aktywnych obszarów choroby przez porcelanowe, atroficzne ogniska bliznowacenia (Kowalska-Olędzka i wsp. 2012). LPP ma przebieg wolno postępujący, niekiedy samoograniczający. Nagły początek choroby występuje częściej wśród pacjentów, u których zmiany w przebiegu LPP lokalizują się pierwotnie poza skórą owłosioną głowy (Kowalska-Olędzka i wsp. 2012). Utrata włosów w większości przypadków jest procesem nieodwracalnym, ale wczesna interwencja terapeutyczna może zatrzymać postęp choroby. W początkowym stadium LPP stosuje się glikokortykosteroidy (miejscowo oraz doogniskowo), a także miejscowe inhibitory kalcyneuryny. Wśród opcji terapii systemowej wymienia się hydroksychlorochinę, doustne retinoidy, leki immunosupresyjne oraz inhibitory 5-a-reduktazy (Spencer i wsp. 2009, Babahosseini i wsp. 2019).

Wśród objawów subiektywnych pacjenci zgłaszają uczucie bólu, pieczenia, napięcia oraz przeczulicy skóry objętej procesem chorobowym. Powyższe dolegliwości mogą się nasilać po wysiłku, drażnieniu, ekspozycji na słońce oraz w sytuacjach stresowych (Babahosseini i wsp. 2019).

W trichoskopii obserwuje się: brak ujść mieszków włosowych, złuszczenie okołomieszkowe, obecność białych, bezstrukturalnych obszarów oraz rumień okołomieszkowy (Waśkiel i wsp. 2018).

W badaniu histopatologicznym we wczesnych zmianach występują typowe nacieki limfocytarne wzdłuż mieszków włosowych. Na granicy skóry właściwej i naskórka nacieki limfocytarne z hipergranulozą przybiera kształt zębów piły. W późniejszych stadiach choroby dominuje włóknienie mogące obejmować gruczoły łojowe oraz całe mieszki włosowe, które są zastępowane poprzez kolumny stwardniałego kolagenu (Bolduc i wsp. 2016).

Różnicowanie LPP dotyczy łysienia plackowatego, łojotokowego zapalenia skóry oraz innych chorób z grupy PCA, w szczególności DLE oraz PPB. Klinicznie cechą różnicującą LPP i DLE jest miejsce występowania stanu zapalnego wyrażającego aktywność choroby. W

przypadku LPP zajęty jest obwód zmiany, podczas gdy DLE charakteryzuje się występowaniem rumienia w centrum ogniska wyłysienia.

#### ***1.4.4.2. Łysienie czołowe bliznowaciejące.***

Zdjęcia pochodzą z bazy danych pacjentów leczonych w Klinice Dermatologii CM UJ.



Łysienie czołowe bliznowaciejące jest odmianą LPP pierwszy raz opisaną przez Kossarda w 1994 roku (Kossard 1994). Od tego czasu częstość występowania FFA stale rośnie, a w opinii niektórych autorów przyjmuje nawet postać epidemii (Mirmirani i wsp. 2019).

Choroba występuje najczęściej u kobiet w okresie post-menopauzalnym (Heppt i wsp. 2018). Miteva i Tosti postulują, że wczesne rozpoznanie FFA powinno opierać się na stwierdzeniu tzw. „triady mieszkowej” w badaniu histopatologicznym, czyli limfocytarnego nacieku liszajowatego oraz włóknienia wokół mieszków zarówno włosów terminalnych, pośrednich jak i mieszkowych znajdujących się we wszystkich fazach wzrostu (Miteva i Tosti 2012).

Klinicznie FFA charakteryzuje się wolnym i stopniowym cofaniem naturalnej linii włosów w obszarze czołowo-skroniowym (Tan i Messenger 2009). We wczesnej fazie choroby obserwuje się występowanie rumieniowych grudek okołomieszkowych z hiperkeratozą. Wraz z postępem FFA układ zmian przyjmuje kształt obręczy. Lśniący jasny pas pozbawiony włosów o szerokości niejednokrotnie dochodzącej do 10 cm często sąsiaduje z uszkodzoną postłonecznie skórą czoła (Tan i Messenger 2009). W obrębie ognisk wyłysienia można stwierdzić pojedyncze włosy terminalne, co bywa określane w literaturze „objawem

osamotnionego włosa” (ang. Lonely hair sign) (Tosti i wsp. 2011). Rzadziej zmiany mogą być zlokalizowane w okolicy zausznej, ciemieniowej lub potylicznej. Częstym objawem klinicznym występującym w ponad 80 procent przypadków jest utrata brwi, rzadziej rzęs (MacDonald i wsp. 2012, Vañó-Galván i wsp. 2014). U co czwartego pacjenta z FFA utrata owłosienia może również występować w obrębie pach, pachwin i w okolicy łonowej (Vañó-Galván i wsp. 2014) prawdopodobnie w wyniku fizjologicznych zmian w okresie postmenopauzalnym. Wśród cech klinicznych związanych z szybszym postępem choroby wymienia się utratę rzęs oraz owłosienia skóry gładkiej, a także występowanie niezapalnych grudek na twarzy. Utrata brwi poprzedzająca występowanie zmian na skórze owłosionej głowy może świadczyć o lepszym rokowaniu i stacjonarnym przebiegu choroby (Vañó-Galván i wsp. 2014).

Pacjentki z FFA często podają objawy subiektywne takie jak: świąd, uczucie napięcia skóry, pieczenie oraz ból nasilony przez dotyk włosów (trichodynia) (Vañó-Galván i wsp. 2014).

W badaniu dermoskopowym do najczęściej obserwowanych cech trichoskopowych należą złuszczenie okołomieszkowe, brak ujść mieszków włosowych, rumień okołomieszkowy oraz białe bezstrukturalne obszary. W FFA nie stwierdza się mlecznoczerwonych obszarów charakterystycznych dla klasycznej odmiany LPP. W obrazie dermoskopowym brwi w przebiegu FFA obserwuje się brak ujść mieszków włosowych, obecność czerwonych mieszkowych kropek, rozlanego rumienia, ułamanych włosów oraz odrastających krótkich włosów (Wański i wsp. 2018).

W leczeniu systemowym stosuje się hydroksychlorochinę, inhibitory 5-alfa-reduktazy, doustne retinoidy oraz pioglitazon (To i Beecker 2018).

Zinkernagel i Trüeb opisali współwystępowanie łysienia androgenowego (ang. Androgenic alopecia – AGA) z towarzyszącym włóknieniem jako fibrosing alopecia in pattern distribution (FAPD) (Zinkernagel i Trüeb, 2000). Autorzy badania uważają, że wystąpienie reakcji liszajopodobnej zajmującej wybiórczo zminiaturyzowane włosy może być związane z patomechanizmem rozwoju łysienia androgenowego. FAPD, który według autorów powinien stanowić nowy wariant PCA, częściej występował u kobiet (kobiety : mężczyźni – 15 : 4). W innym badaniu łysienie androgenowe obserwowano aż u 37 procent pacjentek z FFA (Katoulis i wsp. 2018). W świetle powyższych wyników badań łysienie czołowe bliznowaciejące mogłoby stanowić u kobiet końcowe stadium rozwoju AGA.

### **1.4.4.3. Zespół Grahama-Little'a.**

Zdjęcia pochodzą z bazy danych pacjentów leczonych w Klinice Dermatologii CM UJ.



Zespół Grahama-Little'a jest rzadkim wariantem LPP u osób dorosłych. Schorzenie jest częstsze wśród kobiet w okresie post-menopauzalnym (Vashi 2011). GLS charakteryzuje się triadą objawów, które nie muszą występować w tym samym czasie, do których należą ogniska w przebiegu LPP na skórze owłosionej głowy, niebliznowaciejąca utrata owłosienia w obrębie pach oraz wznórka łonowego, a także obecność kolczystych przymieszkowych grudek na tułowiu i kończynach (Tan i wsp 2004, Whiting 2001). Zespół Grahama-Little'a może współwystępować z FFA (Saha i wsp. 2016).

### **1.4.4.4. Toczeń rumieniowaty krążkowy.**

Pacjenci z toczniem rumieniowatym prezentują różne wzorce utraty włosów zarówno pod postacią łysienia niebliznowaciejącego, jak i bliznowaciejącego. Przy braku obecności innych przyczyn, łysienie niebliznowaciejące zostało uznane za jedno z kryteriów rozpoznania toczenia rumieniowatego układowego (ang. Systemic lupus erythematosus – SLE) według klasyfikacji Systemic Lupus International Collaborative Clinics (SLICC) z 2012 roku (Petri i wsp. 2012). Rozsiane przerzedzenie i kruszenie włosów oraz obecność włosów połamanych występuje u ponad połowy osób z SLE w trakcie trwania choroby (Concha i Werth 2018).

Toczeń rumieniowaty krążkowy wykazuje predylekcję do zajmowania obszaru skóry owłosionej głowy i występuje u 30-50% pacjentów, w szczególności w populacji

afroamerykańskiej (Hordinsky 2008, Wilson i wsp. 1992). Skóra głowy w 20% przypadków może pozostać jedyną lokalizacją DLE (Wilson i wsp. 1992, Callen 1982). Początkowo ogniska DLE charakteryzują się niewielkim stanem zapalnym bez cech bliznowacenia. Niestety u ponad połowy pacjentów choroba ma charakter postępujący, a utrata włosów staje się nieodwracalna (Chung i Goldberg 2017). Toczeń rumieniowaty krążkowy dotyczy głównie kobiet w trzeciej i czwartej dekadzie życia (kobiety : mężczyźni 3:1) (Ross i wsp. 2005). Nie zaobserwowano różnic pomiędzy grupą kobiet i mężczyzn w częstości występowania bliznowacenia ognisk objętych procesem chorobowym (Wilson i wsp. 1992). Obecność zmian skórnych o charakterze DLE na skórze owłosionej głowy może świadczyć o przewlekłości choroby (Wilson i wsp. 1992).

Etiologia i patogenezę choroby pozostają niewyjaśnione. Podobnie do innych chorób z grupy PCA, nabłonek mieszkła włosowego zostaje zastąpiony przez tkankę włóknistą, czemu towarzyszy zanik gruczołów łojowych (Sellheyer i Bergfeld 2006). W przypadku DLE naciek zapalny zlokalizowany w górnej części mieszkła włosowego może być wynikiem aktywacji komórek Langerhansa w odpowiedzi na nieznaną antygen powstały na skutek apoptozy keratynocytów indukowanej przez promieniowanie ultrafioletowe (Moghadam-Kia i Franks 2013). Rola promieniowania ultrafioletowego pozostaje dyskusyjna, gdyż w grupie pacjentów z DLE i łysieniem androgenowym ogniska bliznowacenia nie występowały na obszarze pozbawionym włosów, a zatem eksponowanym na światło słoneczne (Wilson i wsp. 1992). Co ciekawe, czynnikiem wyzwalającym nowe zmiany skórne w przebiegu DLE może być uraz, co zaobserwowano u australijskich Aborygenów, którzy rytualnie znakowali skórę owłosioną głowy mimowolnie wywołując objaw Koebnera (Green 1995).

W obrazie mikroskopowym do typowych cech histopatologicznych należą hiperkeratoza mieszkowa, atrofia naskórka, okołogruczołowy naciek limfocytarny, pogrubienie błony podstawnej, zwyrodnienie wodniczkowe komórek warstwy podstawnej oraz obecność złogów mucyny i włóknienia w warstwie brodawkowatej skóry właściwej. Do postawienia właściwego rozpoznania nierzadko konieczne jest wykonanie bezpośredniego badania immunohistochemicznego, które ukazuje ziarniste depozyty składowej dopełniacza C3 oraz immunoglobuliny G w obrębie połączenia skórno-naskórkowego (Fabbri i wsp. 2004).

Wśród typowych cech obrazu klinicznym DLE skóry owłosionej głowy wymienia się rumień z zaznaczoną hiperkeratozą mieszkową, zaczopowane ujścia mieszków włosowych, ogniska atrofii i teleangiektazje. We wczesnych stadiach choroby można zaobserwować rumieniowo-naciekowe blaszki pokryte łuską. W odróżnieniu od innych typów PCA z naciekiem limfocytarnym, aktywne zmiany obserwuje się w centrum obszarów wyłysiałych, a

nie na ich obwodzie (Hordinsky 2008). Zmiany skórne są najczęściej mnogie i występują w okolicy wierzchołkowej. U osób o ciemnym fototypie skóry obserwuje się zaburzenia pigmentacji pod postacią centralnej hipopigmentacji oraz obwodowego przebarwienia (Hordinsky 2008). Nierzadko zanikowe zmiany o charakterze DLE występują również w innych okolicach ciała, najczęściej na małżowinach usznych (Moghadam-Kia i Franks 2013). Wśród objawów podmiotowych pacjenci zgłaszają uczucie pieczenia, napięcia oraz świąd skóry głowy (Hordinsky 2008).

W badaniu trichoskopowym poza brakiem ujść mieszków włosowych często obserwuje się grube drzewkowate naczynia, duże żółte kropki, czerwone, niebiesko-szare kropki, zaburzenia pigmentacji, a także białe i mleczno-rumieniowe obszary (Rudnicka i wsp. 2012).

W naturalnym przebiegu choroby występują okresy samoistnych remisji i nawrotów szczególnie w centrum starych ognisk chorobowych (Ross i wsp. 2005). Szybka diagnoza i wczesnie wdrożone leczenie może doprowadzić do odrostu włosów, o czym świadczy badanie Igari i Yamamoto, którzy udokumentowali całkowitą remisję choroby u pacjenta przyjmującego hydroksychlorochinę przez trzy miesiące (Igari i Yamamoto 2018). Najniebezpieczniejszym powikłaniem DLE jest rozwój raka kolczystokomórkowego, który nawet u co trzeciego pacjenta może dawać przerzuty (Sulica i Kao 1988).

#### ***1.4.4.5. Łysienie rzekomo bliznowaciejące Brocq.***

Do chwili obecnej istnieją kontrowersje, czy łysienie rzekomo bliznowaciejące Brocq stanowi niezależną jednostkę nozologiczną, czy też stadium końcowe innych chorób z grupy PCA (Alzolibani i wsp. 2008). W 1905 roku Brocq i wsp. opisali charakterystykę kliniczną „pseudo-pelade”, czyli łysienia bliznowaciejącego wykazującego podobieństwo do łysienia plackowatego (Brocq i wsp. 1905). W następnych latach próby zdefiniowania typowych cech klinicznych i mikroskopowych PPB często kończyły się niepowodzeniem (Amato i wsp. 2002). Co więcej, w niektórych doniesieniach naukowych wykazano, że kliniczna diagnoza PPB była najczęściej weryfikowana histopatologicznie jako zejściowe stadium innych typów PCA, w szczególności LPP oraz DLE (Amato i wsp. 2002, Braun-Falco i wsp. 1986).

Częstość występowania schorzenia wynosi 10-24% osób zgłaszających się do dermatologa z powodu wypadania włosów (Tan i wsp. 2004, Whiting 2001). PPB głównie dotyczy populacji kaukaskiej, w szczególności kobiet w średnim wieku (Ronchese 1960, Tan i wsp. 2004). Sporadycznie PPB może występować u dzieci oraz wśród członków jednej rodziny (Collier i James 1994).

Klinicznie PPB charakteryzuje się obecnością lśniących, gładkich ognisk wyłysienia bez cech zapalenia i hiperkeratozy (Ross i wsp. 2005). Liczne, oddzielone od siebie porcelanowo białe ogniska z zanikiem w części centralnej są malowniczo określane w literaturze jako „odciski stóp na śniegu” (Photinos 1930). Typowo obszar objęty procesem chorobowym jest lekko wklęsnięty ze względu na atrofię skóry. Pseudopelade najczęściej zajmuje okolice ciemieniowe oraz wierzchołkową. PPB może obejmować również brodę oraz brwi (Madani i wsp. 2000). Na obrzeżu zmiany można zaobserwować grupę skręconych włosów, a pull test nierzadko jest dodatni względem włosów anagenowych (Whiting 2001). Schorzenie ma charakter idiopatyczny, a jego przebieg jest przewlekły i wolno postępujący z okresami remisji i zaostrzeń. Pacjenci zazwyczaj nie zgłaszają objawów subiektywnych (Alzolibani i wsp. 2008).

Często obserwowanymi cechami histopatologicznymi są: niewielki naciek komórek zapalnych, brak nadmiernego bliznowacenia, brak zaczopowania mieszków włosowych, brak lub obniżona liczba gruczołów łojowych oraz prawidłowy lub atroficzny naskórek (Braun-Falco i wsp. 1986). Dodatkowo, Moretti i wsp. wykazali, że pierwotne idiopatyczne łysienie rzekomo-bliznowaciejące Brocq'a charakteryzuje się zwiększoną liczbą makrofagów, komórek tucznych i fibroblastów (Moretti i wsp. 2004).

W diagnostyce różnicowej należy uwzględnić: łysienie plackowate, łysienie androgenowe, inne typy PCA, łysienie w przebiegu kiły, sarkoidozę oraz twardzinę ograniczoną. Cechą różnicującą względem łysienia plackowatego jest brak ujść mieszków włosowych.

#### **1.4.4.6. Mucynoza mieszkowa.**

Pinker i wsp. w 1957 roku po raz pierwszy opisali typ łysienia zwany *alopecia mucinosa*, dla którego charakterystyczną cechą histopatologiczną były wewnątrzmięzkowe złogi mucyny (Pinkus i wsp. 1957). Mucynoza mieszkowa nierzadko współwystępuje z chorobami hematologicznymi, rozrostami limforetykularnymi, w tym pierwotnie skórnymi chłoniakami T-komórkowymi oraz chorobami zapalnymi (Mir-Bonafé i wsp. 2014, Geller i wsp. 2019). FM stwierdzono również w otoczeniu raków skóry, brodawek łojotokowych, wykwitów trądzikowych oraz miejsc ugryzień stawonogów u pacjentów bez chorób limfoproliferacyjnych (Mir-Bonafé i wsp. 2014). Obecnie uważa się, że FM nie jest patognomonicznym objawem żadnej choroby systemowej, natomiast stanowi wzorzec odpowiedzi tkankowej na nieznany antygen (Mir-Bonafé i wsp. 2014). W patogenezie FM



najprawdopodobniej bierze udział odpowiedź immunologiczna mediowana przez limfocyty T-komórkowe, makrofagi oraz komórki Langerhansa. Potencjalnym czynnikiem wyzwalającym odpowiedź komórkową może być infekcja gronkowcem złocistym (Rongioletti i wsp. 2010).

Mucynoza mieszkowa może dotyczyć zarówno dzieci jak i dorosłych. U pacjentów pediatrycznych najczęściej obserwuje się łagodną, idiopatyczną formę FM pod postacią pojedynczych zmian skórnych w obrębie głowy i szyi, które ustępują samoistnie. W rzadkich przypadkach współwystępowania choroby systemowej w populacji pediatrycznej, najczęściej diagnozowany jest chłoniak Hodgkina (Akinsanya i Tschen 2019). Wtórny wariant FM występujący u osób starszych (średnia wieku 54 lata) obliguje do ścisłego monitorowania pacjentów w kierunku rozwoju chorób limforetykularnych (Rongioletti i wsp. 2010). Rongioletti i wsp. wskazali charakterystyczne cechy obu postaci mucynozy mieszkowej w badaniu mikroskopowym. Dla idiopatycznego wariantu FM do typowych cech histopatologicznych należą: duże przestrzenie wypełnione mucyną, niewielki okołonaczyniowy oraz okołogruczołowy poliklonalny naciek limfocytarny bez epidermotropizmu. Wtórna mucynoza mieszkowa charakteryzuje się gęstym naciekiem złożonym z monoklonalnych limfocytów z cechami atypii oraz zaznaczonym epidermotropizmem. Nie obserwowano różnic w składzie mucyny (Rongioletti i wsp. 2010).

Klinicznie FM zajmuje głównie okolice głowy i szyi, ale może występować również na tułowiu i proksymalnych częściach kończyn. Wykwitem pierwotnym jest cielisto lub rumieniowa grudka przymieszkowa, nierzadko z ułamanym włosem, który w badaniu dermoskopowym może imitować „czarny punkt” w przebiegu grzybicy skóry owłosionej głowy (Kowalska-Olędzka i wsp. 2012). Zlewające się grudki niejednokrotnie tworzą nacieczone blaszki. We wczesnej fazie choroby pacjenci zgłaszają nasilone wypadanie włosów, a pull test może być dodatni. Przed wystąpieniem bliznowacenia całkowity odrost włosów jest możliwy (Kowalska-Olędzka i wsp. 2012).

W diagnostyce różnicowej należy uwzględnić: łysienie plackowate, łysienie telogenowe, grzybicę skóry owłosionej głowy, twardzinę ograniczoną, a nawet pierwotnie skórne chłoniaki T-komórkowe.

#### ***1.4.4.7. Centralne odśrodkowe łysienie bliznowaciejące.***

Zdjęcie pochodzi z bazy danych pacjentów leczonych w Klinice Dermatologii CM UJ.



Centralne łysienie bliznowaciejące odśrodkowe prowadzi do nieodwracalnej utraty włosów w okolicy wierzchołkowej oraz ciemieniowej głównie u kobiet afroamerykańskich (Ogunleye i wsp. 2014). Częstość występowania CCA jest nieznana. W przeciwieństwie do innych schorzeń z grupy pierwotnego łysienia bliznowaciejącego, CCA obserwuje się u młodych kobiet w trzeciej dekadzie życia (Khumalo i wsp. 2007). Etiopatogeneza schorzenia pozostaje niejasna, ale postuluje się rolę czynników genetycznych oraz środowiskowych takich jak sposób czesania i układania włosów (Lawson i wsp. 2015, Dlova i wsp. 2014). Postępująca utrata włosów w przebiegu CCA rozpoczyna się w linii pośrodkowej w okolicy wierzchołkowej, a następnie ognisko wyłysienia szerzy się odśrodkowo. Skóra objęta procesem chorobowym jest lśniąca, elastyczna oraz bez cech stanu zapalnego. Czasami można zaobserwować politrychię oraz włosy ułamane (Herskovitz i Miteva 2016). CCA najczęściej przebiega asymptotycznie, ale niektóre pacjentki zgłaszają świąd, uczucie pieczenia oraz trichodynię (Ogunleye i wsp. 2014).

#### 1.4.4.8. *Kolczyste rogowacenie mieszkowe wyłysiające.*

Zdjęcie pochodzi z bazy danych pacjentów leczonych w Klinice Dermatologii CM UJ.



Kolczyste rogowacenie mieszkowe wyłysiające to rzadka odmiana PCA ujawniająca się we wczesnym dzieciństwie. KFSD jest chorobą uwarunkowaną genetycznie, która najczęściej występuje u chłopców, a jej dziedziczenie jest przeważnie sprzężone z chromosomem X (Malvankar i Sacchidanand 2015). Schorzenie charakteryzuje się hiperkeratozą mieszkową z następującym włóknieniem. W początkowym okresie choroby zmiany skórne są typowe dla rogowacenia przymieszkowego na tułowi. W okresie dojrzewania następuje zaostrzenie przebiegu choroby pod postacią łysienia bliznowaciejącego obejmującego skórę głowy, brwi i rzęs (Bolduc i wsp. 2016). W diagnostyce różnicowej należy uwzględnić inną rzadką chorobę z kręgu genodermatoz genotypowo oraz fototypowo zbliżoną do KFSD – Syndrom IFAP (ang. Ichthiosis follicularis, alopecia, photophobia) (Bains i wsp. 2019). W przebiegu IFAP łysienie ma charakter niebliznowaciejący. Obie jednostki chorobowe są wywołane mutacją w genie MBTPS2 na chromosomie Xp22. Do rozpoznania IFAP konieczne jest współwystępowanie fotofobii w wyniku uszkodzenia rogówki, która może towarzyszyć również KFSD (Malvankar i Sacchidanand 2015). Dotychczas opisano 2 przypadki występowania upośledzenia umysłowego u pacjentów z KFSD (Masood i wsp. 2000, Sanke i wsp. 2017).

### ***1.5. Komórki dendrytyczne.***

Komórki dendrytyczne (ang. Dendritic cells - DCs) jako komórki biorące udział w procesach odpornościowych od wielu lat znajdują się w centrum zainteresowania różnych dziedzin medycyny. DCs, pierwszy raz zidentyfikowane przez studenta medycyny - Paula Langerhansa - w 1868 r., zawdzięczają swoją nazwę morfologicznemu podobieństwu do komórek nerwowych z charakterystycznymi dendrytami. Dopiero w latach 70. XX wieku Silberberg i wsp. opisali możliwe interakcje DCs z limfocytami w reakcjach odpornościowych (Silberberg i wsp. 1976). Obok makrofagów i limfocytów B, komórki dendrytyczne należą do grupy wyspecjalizowanych komórek prezentujących antygen (ang. Antygen presenting cells – APCs). DCs uważane są za najistotniejszą subpopulację komórek APCs, ponieważ jako jedyne mają zdolność prezentacji antygenów zarówno limfocytom T pomocniczym (ang. T helper typu 1 i 2– Th1, Th2) jak i cytotoksycznym poprzez ekspresję MHC klasy I oraz II (McGovern i wsp. 2015). DCs wywodzą się z hematopoetycznych komórek macierzystych w szpiku kostnym i różnicują się z progenitorów granulocytów i makrofagów. Występują nie tylko w centralnych oraz obwodowych narządach limfatycznych, ale również w większości tkanek organizmu (McGovern i wsp. 2014).

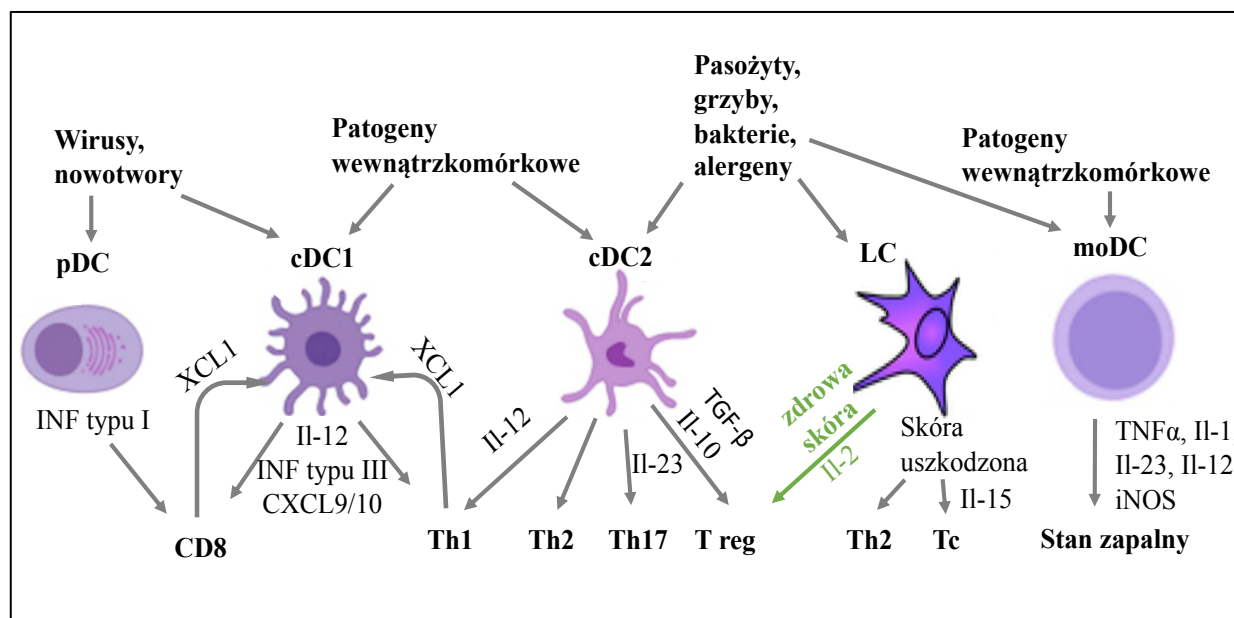
Komórki dendrytyczne stanowią pomost pomiędzy odpornością wrodzoną i nabytą. W przypadku odpowiedzi wrodzonej rozpoznawanie patogenu odbywa się w sposób niespecyficzny poprzez wykrywanie powszechnie występujących wzorców molekularnych dla całych grup antygenów. Zadaniem wrodzonej odporności immunologicznej jest szybkie powiadomienie o rozpoczynającej się infekcji. Mechanizm nabytej odporności zakłada precyzyjne rozpoznawanie specyficznych antygenów przez receptory limfocytów T lub limfocytów B oraz tworzenie komórek pamięci immunologicznej (Langlois i Legge 2007).

Początkowo, klasyczny podział DCs ze względu na ich pochodzenie i cechy fenotypowe (ekspresję specyficznych antygenów powierzchniowych) obejmował limfoidalne oraz mieloidalne DCs (Villadangos i Schnorrer 2007). Następnie za kryterium klasyfikacyjne przyjęto rodzaj tkanki, w której występowały DCs. W skórze wyodrębniono komórki Langerhansa (Langerhans cells – LCs) oraz rezydujące komórki dendrytyczne charakteryzujące się wysoką ekspresją integryny alfa X (CD11c) oraz MHC klasy II (Steinman 2012). Obecnie, uproszczona klasyfikacja komórek dendrytycznych opiera się zarówno na podziale funkcjonalnym jak i ontogenetycznym (Satpathy i wsp. 2012). W nowej klasyfikacji uwzględniono: DCs konwencjonalne, zwane również klasycznymi (ang. conventional dendritic cells – cDCs), plazmacytoidalne DCs (ang. plasmacytoid dendritic cells – pDCs), DCs

pochodzenia monocytarnego (ang. monocyte-derived dendritic cells – moDCs) oraz komórki Langerhansa (ang. Langerhans cells – LCs).

Rycina 5. Podział funkcjonalny komórek dendrytycznych.

Zaadaptowano z Collin i Bigley 2018.



pDC – plazmacytoidalna komórka dendrytyczna, cDC1 – konwencjonalna komórka dendrytyczna typu I, cDC2 – konwencjonalna komórka dendrytyczna typu II, LC – komórka Langerhansa, moDC – komórka dendrytyczna pochodzenia monocytarnego.

LCs są dotychczas najlepiej poznaną subpopulacją DCs. Stanowią główną populację komórek APC w skórze charakteryzującą się wysoką ekspresją langeryny (CD207) oraz CD1a (Clayton i wsp. 2017). Komórki Langerhansa mają wiele różnych zadań w procesach odpornościowych, ale biorą również udział w utrzymaniu homeostazy. W momencie wystąpienia w skórze reakcji zapalnej mediowanej przez  $TNF-\alpha$  i  $IL-1\beta$ , LCs tracą połączenia z komórkami warstwy kolczystej i podstawnej naskórka oraz migrują do najbliższych węzłów chłonnych (Collin i Bigley 2018). Po przetworzeniu egzogennych antygenów LCs polaryzują odpowiedź komórkową w kierunku typu Th2 (Szczygieł i Pajtasz-Piasecka 2017). Ponadto, poprzez aktywację cząsteczek kostymulujących CD40 oraz produkcję  $IL-15$ , LCs mogą indukować różnicowanie się dziewiczych limfocytów T  $CD8+$  do limfocytów cytotoksycznych produkujących cytolityczne białka takie jak perforyna oraz granzym B (Szczygieł i Pajtasz-Piasecka 2017, Klechevsky 2013). Komórki Langerhansa są pozbawione ważnych w rozpoznawaniu bakterii receptorów Toll-podobnych (ang. Toll-like receptors – TLRs), inaczej zwanych receptorami zetonowymi, co umożliwia im utrzymywanie tolerancji wobec

komensali. Stan homeostazy jest dodatkowo warunkowany aktywacją limfocytów T regulatorowych przez LCs w obecności Il-2 (van der Aar 2007, Kitashima i wsp. 2018). LCs w stanie równowagi biologicznej są zdolne do samodzielnej regeneracji, a w przypadku stanu zapalnego odnawiają się z prekursorów szpiku kostnego (Merad i wsp. 2013).

W warunkach fizjologicznych pDCs występują głównie we krwi oraz tkankach limfatycznych. W momencie wystąpienia stanu zapalnego pDCs migrują do narządów nielimfatycznych. Zazwyczaj nieobecne w zdrowej skórze, pDCs występują w nowotworach skóry oraz wielu dermatozach zapalnych takich jak: toczeń rumieniowaty, łuszczyca, liszaj płaski i atopowe zapalenie skóry (Charles i wsp. 2010). pDCs w porównaniu z cDCs mają mniejszą zdolność stymulowania natywnych limfocytów T. Po kontakcie z patogenami, za pomocą unikalnego zestawu receptorów żetonowych (TLR-7 i TLR-9), pDCs odgrywają istotną rolę w odpowiedzi przeciwwirusowej wydzielając duże ilości interferonu typu I (Klechevsky 2013, Collin i Bigley 2018).

Konwencjonalne komórki dendrytyczne ze względu na pełnione funkcje dzieli się na dwie kategorie. Konwencjonalne komórki cDC1 mają zdolność do prezentacji krzyżowej antygenów limfocytom T CD8<sup>+</sup>. Oznacza to, że egzogenne antygeny prezentowane są również w kontekście cząsteczek MHC klasy I. cDC1 polaryzują odpowiedź immunologiczną w kierunku limfocytów Th1 poprzez produkcję interleukiny 12 (Il-12) (Collin i Bigley 2018). cDC1 posiadają na swojej powierzchni receptor chemokinowy XCR1, a interakcje z aktywowanymi limfocytami T oraz komórkami NK zachodzą poprzez przyłączenie ligandu XCL1 (Ohta i wsp. 2016). Dodatkowo cDC1 produkują duże ilości interferonu typu III (Lauterbach i wsp. 2010).

cDC2 są wyposażone w wiele różnych receptorów rozpoznających wzorce, do których należą receptory Toll-podobne, lektynowe, NOD-podobne oraz RIG-I-podobne (Collin i Bigley 2018). Z tego powodu cDC2 mają szerokie spektrum działania. W porównaniu do cDC1, cDC2 produkują większą ilość Il-12, a tym samym promują udział limfocytów cytotoksycznych w odpowiedzi komórkowej (Nizzoli i wsp. 2013). Ponadto, po przetworzeniu egzo- i endogennych antygenów, cDC2 wydzielają szereg cytokin i czynników regulatorowych takich jak: Il-1, Il-23, TNF- $\alpha$ , Il-8 oraz Il-10 (Sittig i wsp. 2016). Poprzez cząsteczki kostymulujące występujące na ich powierzchni, cDC2 mają zdolność inicjowania różnicowania dziewiczych limfocytów T do wyspecjalizowanych komórek Th1, Th2, Th17 oraz limfocytów CD8<sup>+</sup> (Di Blasio i wsp. 2016, Collin i Bigley 2018). Do zadań cDC2 należy również zapoczątkowywanie

humoralnej odpowiedzi immunologicznej, rozwój alergii i immunosupresji (Collin i Bigley 2018). W tym celu zaangażowane są cDC2 charakteryzujące się wysoką ekspresją antygenów różnicowania komórkowego CD5, które polaryzują odpowiedź komórkową w kierunku Th2, Th17 oraz limfocytów T regulatorowych (Yin i wsp. 2017).

Komórki dendrytyczne pochodzenia monocytarnego (ang. monocyte derived dendritic cells – moDCs) są nazywane w literaturze „zapalnymi komórkami dendrytycznymi” (ang. inflammatory dendritic cells) (Collin i Bigley 2018). Postuluje się, że komórki dendrytyczne pochodzenia monocytarnego nie migrują do węzłów chłonnych, a uczestniczą w procesach odpornościowych wyłącznie w miejscu zapalenia (Collin i Bigley 2018). Zwiększoną ekspresję moDCs w biopsjach skórnych zaobserwowano u pacjentów z łuszczycą (Singh i wsp. 2016), atopowym (Kiekens i wsp. 2001) i kontaktowym zapaleniem skóry (Skazik i wsp. 2011). W warunkach *ex vivo*, moDCs mogą wytwarzać cytokiny prozapalne takie jak: Il-1, TNF- $\alpha$ , Il-12, Il-23 oraz mają zdolność oddziaływania na limfocyty T CD4+ i CD8+ (Segura i wsp. 2013). W modelu zwierzęcym wykazano, że moDCs uczestniczą w reakcjach odporności wrodzonej poprzez produkcję TNF- $\alpha$  i indukowalnej syntazy tlenku azotu (ang. inducible nitric oxide synthase - iNOS) w odpowiedzi na antygeny bakteryjne (Serbina i wsp. 2003). Inni autorzy w modelu mysim opisali zdolność MoDCs do produkcji kluczowych cytokin prozapalnych (TNF- $\alpha$ , Il-1) mediujących powstanie stanu zapalnego w przebiegu łuszczycy (Singh i wsp. 2016). MoDCs wykazują ekspresję CD11c oraz CD1c podobnie jak cDC2, natomiast można je zróżnicować oznaczając cząsteczkę powierzchniową CD206.

Tabela 4. Tradycyjne markery subpopulacji komórek dendrytycznych (Collin i Bigley 2018).

| Subpopulacja DCs      | Tradycyjne markery/receptory                      |
|-----------------------|---|
| pDCs                  | CD123<br>CD303/CLEC4C/BDCA-2<br>CD304/NRP1/BDCA-4 |
| Mieloidalne cDC1      | CD141/BDCA-3                                      |
| Mieloidalne cDC2      | CD1c/BDCA-1<br>CD11c<br>CD11b                     |
| LCs                   | CD207<br>CD1a                                     |
| Pre-DC                | CD123<br>CD3030                                   |
| MoDC                  | CD11c<br>CD1c/BDCA-1<br>CD206<br>CD1a             |
| Nieklasyczne monocyty | CD16<br>CX3CR1<br>SLAN                            |

pDCs – plazmacytoidalne komórki dendrytyczne, cDC1 – konwencjonalne komórki dendrytyczne typu I, cDC2 – konwencjonalne komórki dendrytyczne typu II, moDC – komórki dendrytyczne pochodzenia monocytarnego

### ***1.6. Hydroksychlorochina***

Leki przeciwmalaryczne (chlorochina, hydroksychlorochina, chinakryna), pierwotnie wykorzystywane do leczenia malarii, od ponad 60 lat zajmują istotne miejsce w leczeniu chorób dermatologicznych i reumatologicznych, niejednokrotnie stanowiąc terapię z wyboru. Od lat 50. XX wieku pochodne chininy – chlorochina i hydroksychlorochina - były wykorzystywane w codziennej praktyce dermatologicznej do leczenia skórnych postaci toczenia rumieniowego, a następnie innych dermatoz takich jak: ziarniniak obrączkowy, porfiria skórna późna, zapalenie skórno-mięśniowe, obumieranie tłuszczowate, pokrzywka naczyniowa, czy polimorficzne osutki świetlne (Kalia i Dutz 2007, Chew i wsp. 2019). W ostatnim czasie leki przeciwmalaryczne znajdowały się w centrum zainteresowania klinicystów na całym świecie w związku z próbą opracowania terapii koronawirusa SARS-CoV-2 i zatrzymania przebiegu pandemii.



Chlorochina jest lekiem z grupy 4-aminochinolinonów z atomem chloru w pozycji siódmej oraz bocznym łańcuchem alkilowym przy grupie 4-NH pierścienia izochinoliny. Hydroksychlorochina (ang. Hydroxychloroquine – HCQ) różni się od chlorochiny obecnością grupy hydroksylowej na końcu łańcucha bocznego (Kalia i Dutz 2007). Lek jest dostępny jako siarczan hydroksychlorochiny i wykazuje dużą biodostępność po podaniu doustnym (Chew i wsp. 2019). HCQ jest metabolizowana przez enzymy cytochromu P450 w wątrobie, a następnie wydalana przez nerki. Czas półtrwania leku to około 50 dni (Haładyj i wsp. 2018).

HCQ stanowi jedną z możliwości terapii systemowej w przypadku większości rodzajów pierwotnego łysienia bliznowaciejącego z naciekiem limfocytarnym (Filbrandt i wsp. 2013). Rekomendowane dawkowanie HCQ wynosi  $<6,5\text{mg/kg m.c.}$  (Marmor i wsp. 2016). W przypadku łysienia bliznowaciejącego pierwsze efekty terapii należy oceniać nie wcześniej niż po upływie 3 miesięcy od chwili wdrożenia leczenia. U pacjentów odpowiadających na terapię HCQ pełny efekt jest dostrzegalny dopiero po 6-12 miesiącach (Chiang i wsp. 2010).

Wśród bezwzględnych przeciwwskazań do zastosowania leków przeciwmalarycznych wymienia się nadwrażliwość na substancję leczniczą oraz zdiagnozowaną retinopatię. Hydroksychlorochina nie powinna być stosowana w przypadku osób z niedoborem glukozo-6 fosfatazy ze względu na ryzyko rozwinięcia niedokrwistości hemolitycznej (Chew i wsp. 2019). Do działań niepożądanych HCQ należą: dolegliwości bólowe brzucha, anoreksja, ból głowy, przebarwienia, zaburzenia nastroju, koszmary, zaburzenia hematologiczne, osłabienie siły mięśniowej i bradykardia (Kalia i Dutz 2007). Z tego powodu należy zachować szczególną ostrożność u pacjentów z udokumentowanymi zaburzeniami psychotycznymi i schorzeniami układu nerwowo-mięśniowego (Kiedrowicz i wsp. 2011). Podobnie jak chlorochina, HCQ może akumulować się w tkankach zawierających melaninę takich jak skóra i oczy (Kalia i Dutz 2007). Najgroźniejszym skutkiem ubocznym HCQ jest działanie toksyczne na narząd wzroku. Objawy subiektywne obejmują m.in. światłowstręt, mroczki centralne, zaburzenia widzenia barw, upośledzenie akomodacji oraz zawężenie pola widzenia (Kiedrowicz i wsp. 2011). Szczególnie niebezpiecznym działaniem niepożądanym jest możliwość wywołania trwałej retinopatii. W retrospektywnym badaniu kliniczno-kontrolnym wśród ponad 2 000 pacjentów przyjmujących HCQ przez ponad 5 lat częstość występowania choroby wyniosła 7,5%. (Melles i Marmor 2014). Warto podkreślić, że po 20 latach przyjmowania HCQ w dawce 4,0-5,0 mg/kg retinopatia występowała już u 20% pacjentów, natomiast w dawce ponad 5mg/kg u aż co drugiego badanego. Na ryzyko wystąpienia retinopatii wpływa dawka leku, czas trwania terapii, istniejąca choroba nerek oraz stosowanie tamoksifenu (Melles i Marmor 2014).

Mechanizm działania hydroksychlorochiny nie jest do końca poznany. Postuluje się, że do najważniejszych elementów działania HCQ należą: stabilizacja enzymów lizosomalnych, hamowanie aktywacji limfocytów T oraz prezentacji antygenów w kontekście głównego układu zgodności tkankowej, a także blokowanie wydzielania cytokin prozapalnych (Melles i Marmor 2014, Haładyj i wsp. 2018). HCQ jest lipofilnym związkiem o słabych właściwościach zasadowych. Po przeniknięciu przez barierę błon komórkowych lek zostaje zmagazynowany w pęcherzykach lizosomalnych komórek prezentujących antygen, gdzie powoduje zmianę pH na zasadowe (Kalia i Dutz 2007). W warunkach fizjologicznych w lizosomach za pomocą kwaśnych hydrolaz odbywa się rozkład własnych elementów danej komórki oraz substancji pochłoniętych z zewnątrz za pomocą endocytozy. Poza „recyklingiem” substancji komórkowych lizosomy odgrywają również ważną rolę w przetwarzaniu i prezentowaniu antygenów w kontekście MCH klasy II (Schrezenmeier i Dörner 2020). HCQ dezaktywuje kwaśne proteazy lizosomalne, co prowadzi do zahamowania fagocytozy, sekrecji białek i cytokin prozapalnych, prezentacji antygenów limfocytom T oraz proliferacji komórek biorących udział w procesach odpornościowych (Ben-Zvi i wsp. 2012).

Co ciekawe, dla wielu wirusów duże znaczenie podczas wnikania do komórki gospodarza ma pH (Kalia i Jameel 2011). Wirusy otoczkowe, takie jak nowy koronawirus SARS-CoV-2, potrzebują dodatkowo niskiego pH w endosomie późnym, aby aktywować pH-zależne proteazy wirusowe, za pomocą których dochodzi do uwolnienia wirusowego genomu do cytoplazmy w pobliżu miejsca replikacji (Liu i wsp. 2020). Poprzez neutralizację kwaśnego pH w endosomach i lizosomach leki przeciwmalaryczne mają szansę hamować cykl replikacyjny wirusa (Al-Bari 2017).

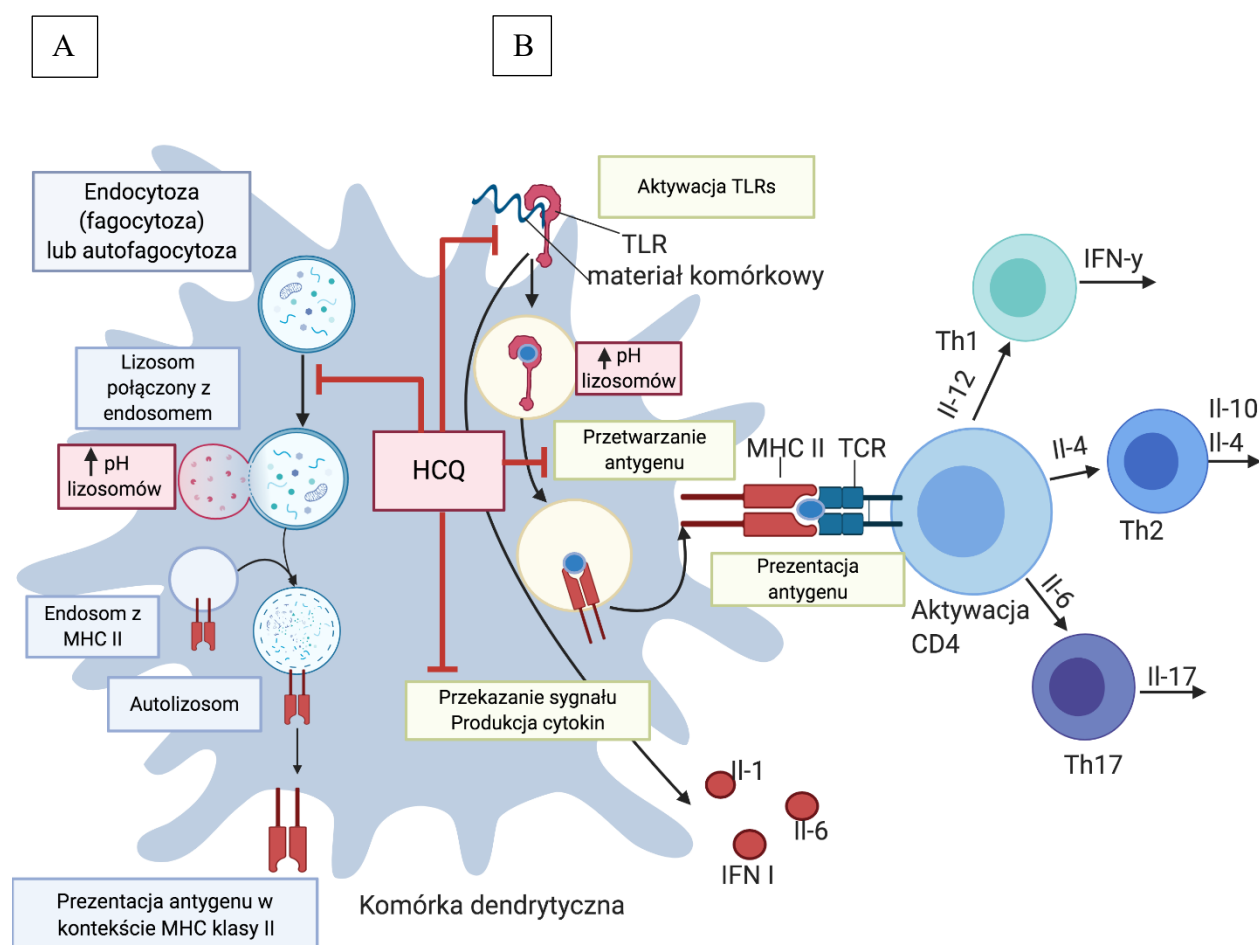
Kolejnym elementem składającym się na efekt terapeutyczny HCQ jest hamowanie aktywacji receptorów zetonowych komórek dendrytycznych oraz makrofagów odgrywających kluczową rolę w nieswoistej odpowiedzi odpornościowej (Schrezenmeier i Dörner 2020). HCQ dzięki swoim właściwościom zasadowym w momencie przedostania się do przestrzeni mikrosomalnych stabilizuje błony organelli oraz podwyższa pH ich wnętrza, co prowadzi do zablokowania interakcji TLR z kwasami nukleinowymi (Kuznik i wsp. 2011).

Oprócz mechanizmu lizosomalnego, HCQ dodatkowo utrudnia ekspozycję antygenów na powierzchni komórek APCs poprzez zapobieganie odłączania polipeptydu – łańcucha niezmiennego cząsteczki MHC II – procesu niezbędnego do przyłączenia i ekspozycji obcego antygenowo peptydu (Fox 1993). Leki przeciwmalaryczne mogą również wiązać się bezpośrednio z kwasami nukleinowymi, które są ligandami receptorów TLR-7 i TLR-9. (Lau i wsp. 2005, Vollmer i wsp. 2005). Chlorochina i HCQ posiadają boczny łańcuch

alkilowy, który po przyłączeniu do RNA (ligand TLR-7) i DNA (ligand TLR-9) stanowi blokadę steryczną (ang. steric blockade) w interakcji TLRs-ligand (Kuznik i wsp. 2011, Schrezenmeier i Dörner 2020).

Ponadto, HCQ upośledza wytwarzanie cytokin prozapalnych. Woźniacka i wsp. wykazali, że omawiany lek już po trzech miesiącach od rozpoczęcia terapii hamował kaskadę produkcji TNF- $\alpha$ , Il-1 i Il-6 w grupie pacjentów z SLE (Wozniacka i wsp. 2006). Inni autorzy wskazywali, że HCQ specyficznie hamowała produkcję cytokin prozapalnych przez plazmacytoidalne komórki dendrytyczne (Wallace i wsp. 1994, Hjorton i wsp. 2018). Wymienione obserwacje są zgodne z wynikami badania LUMINA, w którym wykazano korelację pomiędzy poprawą kliniczną w przebiegu SLE a obniżonym stężeniem interferonu  $\alpha$  w surowicy krwi żyłnej w trakcie leczenia HCQ (Willis i wsp. 2012).

Rycina 6. Potencjalny mechanizm działania hydroksychlorochiny na komórki dendrytyczne w procesach autoimmunologicznych za Schrezenmeier i Dörner 2020.



- A) Hydroksychlorochina (HCQ) wewnątrz komórki prezentującej antygen lokalizuje się w pęcherzykach lizosomalnych, gdzie, poprzez podniesienie pH, dezaktywuje kwaśne proteazy lizosomalne i hamuje degradację materiału zewnętrznego (pozyskanego drogą endocytozy/fagocytozy) i wewnętrznego (autofagocytoza). Zahamowanie aktywności lizosomów uniemożliwia prezentację autoantygeny w kontekście MHC klasy II (Schrezenmeier i Dörner 2020).
- B) Podczas reakcji autoimmunologicznej niezdegradowany materiał komórkowy może zostać rozpoznany przez receptory żetonowe (m.in. TLR-7) wewnątrz plazmatoidalnych komórek dendrytycznych (lub innych APCs). Aktywowane APCs oddziałują na inne komórki o działaniu prozapalnym. HCQ może uniemożliwić przekazywanie sygnału wewnątrz komórek dendrytycznych za pośrednictwem receptorów Toll-podobnych poprzez zmianę pH endosomów (zaangażowanych w przetwarzanie TLRs) i/lub poprzez bezpośrednie przyłączenie się do ligandów TLR-7 i TLR-9 (RNA i DNA). Konsekwencją zaburzenia przekazywania sygnału z TLRs jest zahamowanie produkcji cytokin prozapalnych. W APCs HCQ hamuje przetwarzanie i prezentację antygeny limfocytom T CD4+, a także blokuje dalsze różnicowanie się limfocytów T (Schrezenmeier i Dörner 2020).

## 2. ZAŁOŻENIA I CELE PRACY

Pierwotne łysienie bliznowaciejące stanowi rzadką i zróżnicowaną grupę chorób powodującą trwałą i klinicznie nieodwracalną utratę włosów, która często prowadzi do obniżenia jakości życia i problemów psychicznych u pacjenta (Pradhan i wsp. 2011). Patogeneza choroby nie została dostatecznie poznana. Postuluje się, że uszkodzenie mieszków włosowych jest spowodowane aktywacją autoreaktywnych limfocytów w odpowiedzi na nieznany antygen, zlokalizowany w obrębie mieszka włosowego (Harries i Paus 2010). W przeciwieństwie do łysienia niebliznowaciejącego, w którym nacieki zapalne lokalizują się głównie w obrębie opuszki włosa, w łysieniu bliznowaciejącym obejmują one obszar wybrzuszenia zawierającego komórki macierzyste włosa (Pozdnyakova i Mahalingam 2008). Konsekwencją zniszczenia części mieszka włosowego zawierającej komórki odpowiedzialne za jego regenerację jest trwały ubytek owłosienia.

Obecna klasyfikacja łysienia bliznowaciejącego (Olsen i wsp. 2003) budzi wiele zastrzeżeń ze względu na częste rozbieżności pomiędzy wynikiem badania histopatologicznego, a obrazem klinicznym. Dwuskładnikowa (limfocytny i/lub neutrofilowy) ocena nacieku zapalnego jest czasami niewystarczającym kryterium różnicującym. Cechy kliniczne i mikroskopowe najczęstszych chorób z grupy PCA, czyli LPP i DLE, nierzadko się nakładają, a postawienie prawidłowego rozpoznania może stanowić duże wyzwanie dla dermatologów. Obecność złogów mucyny, pogrubienie błony podstawnej, okołonaczyniowy naciek limfocytny, *interface dermatitis* mogą występować w obu jednostkach chorobowych. Brak cech patognomicznych utrudnia proces diagnostyczny, czego przykładem jest badanie Nambudiri i wsp., którzy opisali serię 7 przypadków LPP następnie zweryfikowanych histopatologicznie jako DLE. Prawidłowa diagnoza została postawiona po ponownej analizie preparatów histopatologicznych oraz skorelowaniu obrazu mikroskopowego i klinicznego (Nambudiri i wsp. 2014).

Wynik badania histopatologicznego może stanowić istotną wskazówkę w doborze skutecznej terapii. Ocena rodzaju nacieku w obrazie mikroskopowym pozwala na zastosowanie leków, które specyficznie hamują aktywność komórek zapalnych. Przykładowo, w przypadku dermatoz z naciekiem neutrofilowym często skuteczną opcją terapeutyczną jest dapson (Ghaoui i wsp. 2020), natomiast obiecującą terapią pemfigoidu wydaje się być omalizumab hamujący aktywność eozynofilii (Yu i wsp. 2014). Dotychczas wykazano, że ilościowa analiza komórek dendrytycznych w biopsjach tkankowych pacjentów z PCA może wskazywać na

aktywność choroby i stopień nasilenia stanu zapalnego (Pozdnyakova i Mahalingam 2008). Co więcej, ocena ekspresji i dystrybucji plazmacytoidalnych komórek dendrytycznych okazała się pomocna w różnicowaniu DLE, LLP i CCCA (Fening i wsp. 2016). Właściwe rozpoznanie choroby jest ważne w opracowaniu odpowiedniego algorytmu terapeutycznego oraz poszerzeniu diagnostyki w kierunku innych zmian skórnych w przebiegu danego schorzenia oraz ewentualnych chorób współtowarzyszących.

Hydroksychlorochina stanowi jedną z możliwości systemowej terapii w przypadku większości rodzajów PCA z naciekiem limfocytarnym (Filbrandt i wsp. 2013), ale remisję choroby w trakcie leczenia obserwuje się tylko u części pacjentów (Errichetti i wsp. 2018). Najbardziej niekorzystnym i nieodwracalnym powikłaniem terapii HCQ jest retinopatia (Ben-Zvi i wsp. 2012). Mechanizm działania leku nie jest w pełni poznany, ale postuluje się, że HCQ bierze udział w hamowaniu procesów przetwarzania obcych antygenów w komórkach dendrytycznych i ekspozycji peptydów w kontekście MHC II (Ben-Zvi i wsp. 2012). Dotychczas nie zbadano subpopulacji komórek dendrytycznych w kontekście wypracowania modelu predykcyjnego użytecznego w wyborze skutecznej i bezpiecznej terapii dla pacjentów z pierwotnym łysieniem bliznowaciejącym.

Cele pracy obejmowały zatem:

1. Ocenę ekspresji subpopulacji komórek dendrytycznych w badaniu histopatologicznym w różnych chorobach z grupy pierwotnego łysienia bliznowaciejącego z naciekiem limfocytarnym.
2. Ocenę przydatności pomiaru ekspresji komórek dendrytycznych w badaniu histopatologicznym jako nowego kryterium klasyfikacyjnego pierwotnego łysienia bliznowaciejącego.
3. Ocenę ekspresji subpopulacji komórek dendrytycznych w badaniu histopatologicznym jako markera predykcyjnego skuteczności terapii hydroksychlorochiną przed wdrożeniem leczenia systemowego u pacjentów z pierwotnym łysieniem bliznowaciejącym z naciekiem limfocytarnym.

### 3. MATERIAŁ I METODY

#### 3.1. Materiał

##### 3.1.1. Grupy badane

Badaniami objęto 65 pacjentów z pierwotnym łysieniem bliznowaciejącym z naciekiem limfocytarnym. Protokół badania uzyskał zgodę Lokalnej Komisji Bioetycznej przy Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Wszyscy pacjenci uzyskali pisemną informację o celu i zasadach badania, a także podpisali formularz świadomej zgody na uczestnictwo w badaniu.

Wiek pacjentów w momencie postawienia diagnozy wahał się od 30 do 77 lat. Średni wiek rozpoznania wynosił 57 lat i był podobny w większości jednostek chorobowych (Tabela 6). Trzech pacjentów z PPB i FM było młodszych. W badaniu wzięło udział znacznie więcej kobiet niż mężczyzn. Kobiety stanowiły aż 93,8% badanej grupy. Próba została zróżnicowana również ze względu na rozpoznanie histopatologiczne. Najczęstszymi schorzeniami w grupie badanych były DLE oraz LPP. W obu przypadkach choroba wystąpiła u 27,7% pacjentów. W badaniu stwierdzono nieco mniejszy odsetek osób prezentujących FFA (23,1%) oraz końcowe stadium PCA (16,9%). U 2 pacjentów zdiagnozowano PPB, a u jednego FM.

Tabela 5. Charakterystyka pacjentów z PCA z naciekiem limfocytarnym.

| Zmienna                              | Parametr            | Ogółem (N=65) |
|--------------------------------------|---------------------|---------------|
| <b>Wiek</b>                          | N                   | 65            |
|                                      | Średnia (SD)        | 57,23 (10,39) |
|                                      | Mediana (IQR)       | 60 (49 - 65)  |
|                                      | Zakres              | 30 - 77       |
| <b>Płeć</b>                          | K                   | 93,8% (N=61)  |
|                                      | M                   | 6,2% (N=4)    |
| <b>Rozpoznanie histopatologiczne</b> | DLE                 | 27,7% (N=18)  |
|                                      | LPP                 | 27,7% (N=18)  |
|                                      | FFA                 | 23,1% (N=15)  |
|                                      | Końcowe stadium PCA | 16,9% (N=11)  |
|                                      | PPB                 | 3,1% (N=2)    |
|                                      | FM                  | 1,5% (N=1)    |

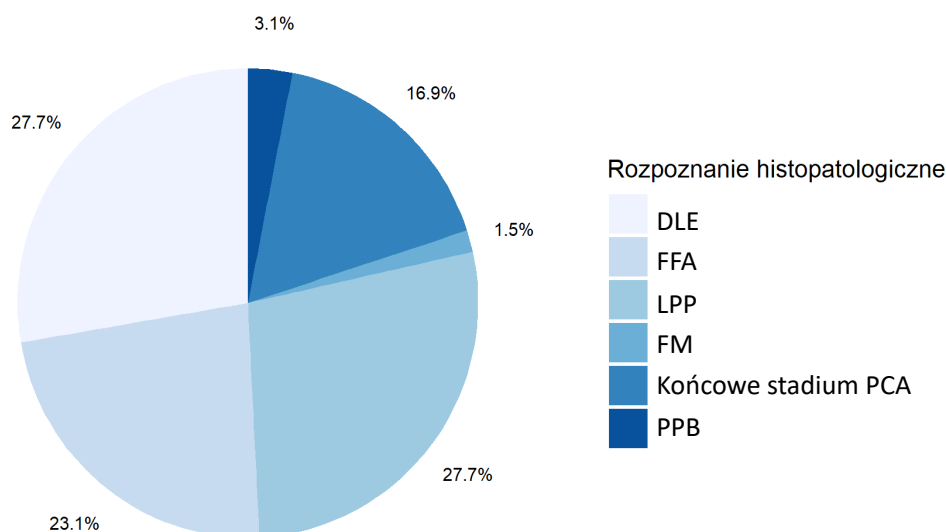
N – liczba; SD – odchylenie standardowe; IQR – rozstęp kwartylny; DLE – toczeń rumieniowaty krążkowy; LPP – liszaj płaski mieszkowy; FFA – łysienie czołowe bliznowaciejące; PPB – łysienie rzekomo bliznowaciejące Brocq; FM – mucynoza mieszkowa; PCA – pierwotne łysienie bliznowaciejące

Tabela 6. Średni wiek rozpoznania poszczególnych chorób z grupy PCA z naciekiem limfocytarnym.

| Zmienna     | Parametr         | Ogółem<br>(N=65) | DLE<br>(N=18)      | FFA<br>(N=15)       | LPP<br>(N=18)          | FM<br>(N=1)     | Końcowe<br>stadium PCA<br>(N=11) | PPB<br>(N=2)            |
|-------------|------------------|------------------|--------------------|---------------------|------------------------|-----------------|----------------------------------|-------------------------|
| <b>Wiek</b> | N                | 65               | 18                 | 15                  | 18                     | 1               | 11                               | 2                       |
|             | Średnia<br>(SD)  | 57,23<br>(10,39) | 58,17<br>(12,86)   | 57,13<br>(9,86)     | 57,06<br>(9,64)        | 54<br>(-)       | 58<br>(8,93)                     | 48,5<br>(13,44)         |
|             | Mediana<br>(IQR) | 60<br>(49 - 65)  | 63<br>(55 - 65,75) | 56<br>(49,5 - 65,5) | 59,5<br>(50,75 - 61,5) | 54<br>(54 - 54) | 63<br>(52 - 64,5)                | 48,5<br>(43,75 - 53,25) |
|             | Zakres           | 30 - 77          | 30 - 73            | 43 - 71             | 39 - 77                | 54 - 54         | 42 - 67                          | 39 - 58                 |

N – liczba; SD – odchylenie standardowe; IQR –rozstęp kwartylny; DLE – toczeń rumieniowaty krążkowy; LPP – liszaj płaski mieszkowy; FFA – łysienie czołowe bliznowaciejące; PPB – łysienie rzekomo bliznowaciejące Brocq; FM – mucynozza mieszkowa; PCA – pierwotne łysienie bliznowaciejące

Rycina 7. Udział procentowy pacjentów z poszczególnymi chorobami z grupy PCA.



DLE – toczeń rumieniowaty krążkowy; LPP – liszaj płaski mieszkowy; FFA – łysienie czołowe bliznowaciejące; PPB – łysienie rzekomo bliznowaciejące Brocq; FM – mucynozza mieszkowa; PCA – pierwotne łysienie bliznowaciejące

Kryteria włączenia i wykluczenia w grupie badanej.

#### Kryteria włączenia

Do grupy badanej włączono osoby dorosłe w stanie zdrowotnym ogólnym dobrym, u których poszczególne choroby z grupy pierwotnego łysienia bliznowaciejącego z naciekiem limfocytarnym rozpoznano w oparciu o badanie przedmiotowe, dermoskopowe (Olsen i wsp. 2003, Kowalska-Olędzka i wsp. 2012, Harries i Paus 2010) oraz weryfikację histopatologiczną (Somani i Bergfeld 2008). Kolejnym kryterium włączenia była co najmniej 6-miesięczna



terapia hydroksychlorochiną w dawce przynajmniej 200 mg przez 5 dni w tygodniu oraz regularne wizyty kontrolne w Ambulatorium Kliniki Dermatologii.

#### Kryteria wykluczenia

Do badania nie kwalifikowano pacjentów z łysieniem niebliznowaciejącym oraz z łysieniem bliznowaciejącym z naciekiem neutrofilowym i mieszanym. Wykluczano również osoby przyjmujące w ciągu ostatnich 6 miesięcy leczenie systemowe związane z chorobą podstawową (np. glikokortykosteroidy, finasteryd, pioglitazon). Ponadto, dyskwalifikacji podlegali pacjenci, którzy palili papierosy w okresie terapii ze względu na możliwy niekorzystny wpływ nikotyny na skuteczność terapii hydroksychlorochiną (Fernandez i Cleveland 2017).

#### ***3.1.2. Wycinki skórne***

Materiał do badań immunohistochemicznych stanowiły wycinki skórne od chorych na PCA z naciekiem limfocytarnym pochodzące z rutynowych badań diagnostycznych. Wycinki skórne, uzyskane za pomocą biopsji sztanckowej o wymiarze 4 µm, zostały pobrane z okolicy miejsc zmienionych chorobowo po uprzednim znieczuleniu miejscowym 2% roztworem lignokainy.

#### ***3.2. Metody***

Badanie miało charakter retrospektywnego badania kohortowego.

Analizowano korelację obrazu klinicznego oraz mikroskopowego celem ustalenia właściwego rozpoznania chorób z grupy PCA. Na podstawie analizy rekordów medycznych pacjentów z PCA z naciekiem limfocytarnym z lat 2014-2019 oceniano odpowiedź na terapię hydroksychlorochiną. Pacjenci zostali przydzieleni do dwóch grup: odpowiadający oraz nieodpowiadający na leczenie. Następnie wykonano panel badań immunohistochemicznych biopsji pobranych przed wdrożeniem terapii celem analizy ekspresji receptorów subpopulacji komórek dendrytycznych.

### ***3.2.1. Korelacja obrazu histopatologicznego z obrazem klinicznym***

Rozpoznanie histopatologiczne konkretnej jednostki chorobowej z grupy PCA z naciekiem limfocytarnym było stawiane przed wdrożeniem terapii w oparciu o analizę m.in. miejsca występowania nacieku limfocytarnego, jego rodzaju (liszajopodobny/zwyrodnienie wodniczkowe) i nasilenia, występowania bądź braku złogów mucyny, włókien elastynowych, gruczołów łojowych, czy pogrubienia błony podstawnej. Dodatkowo oceniano obecność złogów C3 i IgG w obrębie połączenia skórno-naskórkowego w bezpośrednim badaniu immunohistochemicznym (Somani i Bergfeld 2008). Analiza obrazu histopatologicznego była wykonywana przez jednego badacza (G.D.). Rozpoznanie histopatologiczne zestawiano z cechami klinicznymi prezentowanymi przez pacjenta z PCA celem weryfikacji ostatecznego rozpoznania.

### ***3.2.2. Ocena skuteczności terapii hydroksychlorochiną.***

Ocena skuteczności terapii hydroksychlorochiną odbywała się poprzez retrospektywną analizę rekordów medycznych przez jednego badacza (A.K.). Analizie zostały poddane opisy wizyt pacjentów z PCA, którzy zgłaszali się regularnie do Ambulatorium Kliniki Dermatologii w odstępach dwu- i trzymiesięcznych.

Ze względu na brak wystandardyzowanego formularza oceny aktywności PCA z naciekiem limfocytarnym w przebiegu innych chorób niż LPP autorka prezentowanej pracy zdecydowała się na samodzielny pomiar efektów terapii w oparciu o dostępne zapisy każdorazowej wizyty pacjentów z PCA.

Każdorazowe badanie przedmiotowe podczas konsultacji polegało na ocenie ognisk łysienia pod względem ich liczby, dystrybucji, rozległości i lokalizacji. Ponadto, poszukiwano takich cech klinicznych jak występowanie rumienia, złuszczenia okołomieszkowego, cofnięcia linii włosów w okolicy czołowo-ciemieniowej, objawu „osamotnionego włosa”, przerzedzenia bądź utraty brwi oraz występowania zmian skórnych w innych okolicach ciała. Dokładnie oglądano skórę okolic wyłysiałych i jej bezpośrednie sąsiedztwo, aby stwierdzić, czy aktywność choroby jest bardziej wyrażona w centrum, czy na obrzeżu zmian. Ponadto, wykonywano test lekkiego pociągania. Przy użyciu dermoskopu DermLite DL4 (Stany Zjednoczone) w badaniu trichoskopowym oceniano brak ujść mieszków włosowych, morfologię naczyń, obecność dużych żółtych kropek, czerwonych i szaro-niebieskich kropek,

białych bezstrukturalnych obszarów, kołnierzy okołomieszkowych oraz zaburzeń pigmentacji (Rudnicka i wsp. 2011, Rakowska i wsp. 2012) Dokumentowano obecność objawów subiektywnych takich jak: świąd, uczucie pieczenia i bólu.

W przypadku FFA za niepowodzenie terapii przyjęto konieczność modyfikacji leczenia ogólnego z powodu cofania się linii włosów w obszarze czołowo-skroniowym udokumentowanego fotograficznie pomimo co najmniej 6 miesięcznej kuracji hydroksychlorochiną.

W odniesieniu do pozostałych chorób za niepowodzenie terapii uznano konieczność modyfikacji leczenia ogólnego z powodu powiększania i/lub pojawienia się nowych ognisk wyłysienia, utrzymywania się dodatniego testu lekkiego pociągania, objawów podmiotowych, a także dermoskopowych wykładników aktywności choroby pomimo co najmniej 6 miesięcznej kuracji hydroksychlorochiną (Wahie i Meggitt 2013).

Pacjenci, u których nastąpiła stabilizacja choroby i leczenie zostało odstawione, a także ci, u których nastąpiła poprawa stanu miejscowego, a leczenie było kontynuowane zostali zaklasyfikowani jako odpowiadający na terapię. Nie dokonywano rozróżnienia na częściową i całkowitą odpowiedź na leczenie.

### ***3.2.3. Bezpośrednie badanie immunohistochemiczne.***

Badanie immunohistochemiczne wykonano z użyciem następujących przeciwciał monoklonalnych: langeryna, CD1a, CD206, CD123, CD11c. Typ przeciwciał pierwszorzędowych oraz protokół ich przygotowania są podsumowane w Tabeli 7. Skórne wycinki tkankowe były barwione ręcznie zgodnie z rutynowym protokołem laboratorium Kliniki Patomorfologii. Wybrane bloczki parafinowe krojono na 4 µm wycinki histologiczne, które umieszczano na mikroskopowych szkiełkach podstawowych Super Frost (ThermoScientific, USA) i pozostawiano do wyschnięcia przez 12 godzin w temperaturze 34°C. Skrawki poddawano deparafinizacji, dehydratacji i inkubacji przez 10 minut w 3% roztworze H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> w celu zahamowania aktywności endogennej peroksydazy. Domeny antygenowe zostały udostępnione poprzez zamaczanie skrawków w buforze cytrynianowym (pH 6.0; 0,01M) lub EDTA (pH 8.0; 0,01M) oraz gotowanie ich w temperaturze 97°C w łaźni wodnej przez 30 minut. Aby uwidocznić kompleksy antygen-przeciwciała zastosowano przeciwciała drugorzędowe sprzężone z peroksydazą chrzanową (Vision LP Value Detection System HRP Polymer, Lab Vision, ThermoScientific, USA). Jako chromogen zastosowano

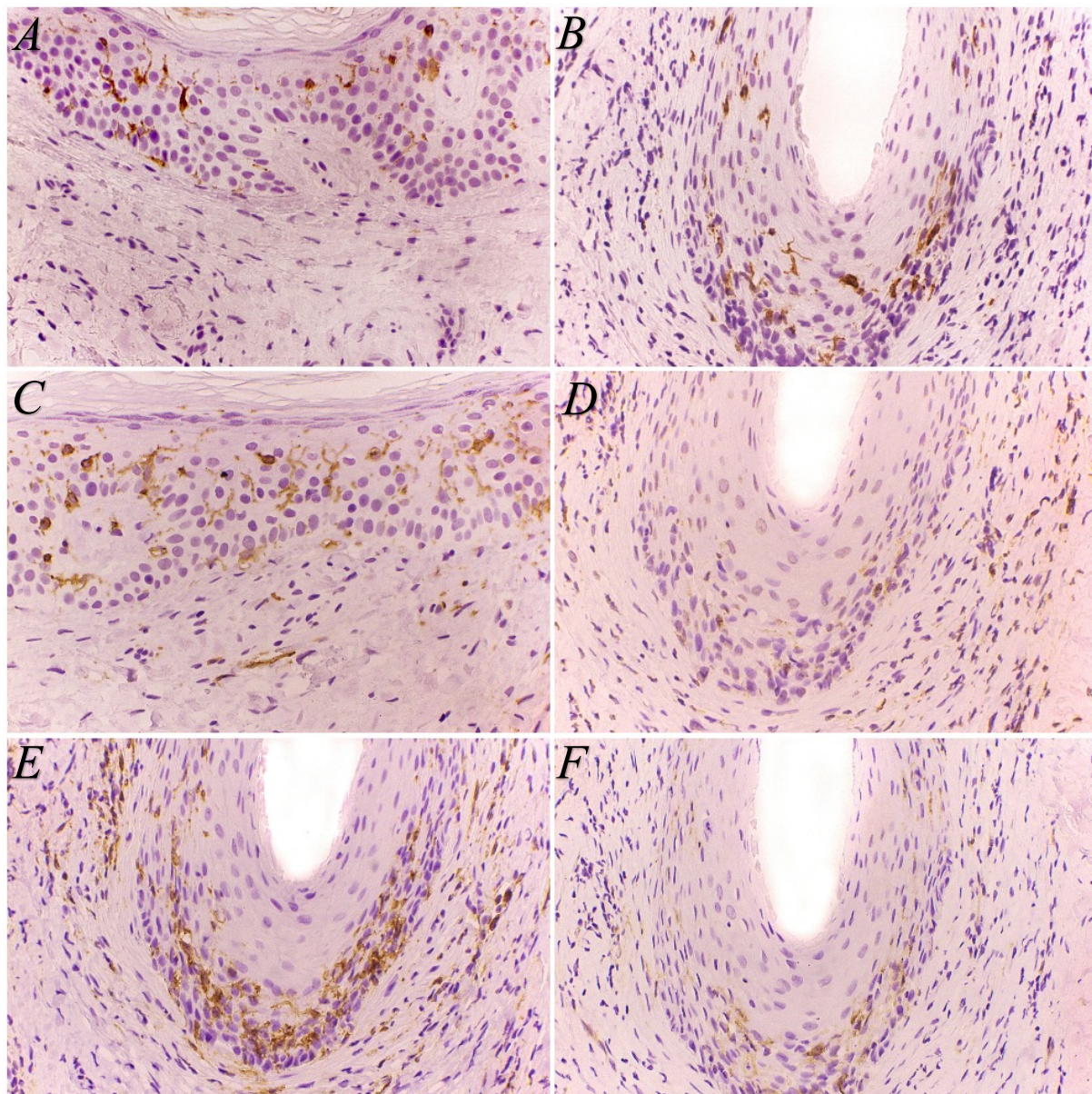
DAB (tetrachlorodoworek 3,3-diaminobenzzydiny). Jądra komórkowe były barwione hematoksyliną w celu wzmocnienia kontrastu skrawków tkankowych.

Ilościową analizę subpopulacji komórek dendrytycznych wykonywano za pomocą mikroskopu świetlnego na podstawie liczby wybarwionych komórek (brązowe wybarwienie błon i cytoplazmy). Wybarwione komórki były zliczane przy 40 krotnym powiększeniu w dużym polu widzenia. Liczebność komórek dendrytycznych była oceniana oddzielnie w lokalizacjach: mieszkowej, okołomieszkowej, w obrębie naskórka i skóry właściwej. Liczbę komórek dendrytycznych oceniano w niezależnych skrawkach tkankowych osobno dla CD11c, CD206, CD123, a łącznie dla langeryny i CD1a.

Tabela 7. Charakterystyka przeciwciał pierwszorzędowych.

| Przeciwciała pierwszorzędowe | Klon  | Rozcieńczenie | Odslanianie antygeny | Czas inkubacji | Producent                |
|------------------------------|-------|---------------|----------------------|----------------|--------------------------|
| CD1a                         | MTB1  | 1:10          | Bufor cytrynianowy   | Przez noc      | LEICA Biosystems         |
| CD11c                        | 5D11  | 1:80          | EDTA                 | 30 minut       | LEICA Biosystems         |
| Langeryna                    | 12D6  | 1:100         | EDTA                 | 30 minut       | LEICA Biosystems         |
| CD206                        | C-10  | 1:50          | EDTA                 | 30 minut       | Santa Cruz Biotechnology |
| CD123                        | BR4MS | 1:50          | EDTA                 | 30 minut       | LEICA Biosystems         |

Rycina 8. Badanie immunohistochemiczne. Komórki CD1a/CD207+ w naskórku (A), mieszkach włosowych (B), skórze właściwej (C). D. Komórki CD206+ zlokalizowane wewnątrz oraz okołomieszkowo. E. Komórki CD206+ w obrębie mieszków włosowych oraz blizny. F. Komórki CD123+ w obrębie mieszków włosowych.



### ***3.3. Analiza statystyczna.***

Rozkład wieku pacjentów został opisany przy pomocy: średniej, mediany, odchylenia standardowego (SD) oraz rozstępu kwartylnego (IQR). Z kolei dla płci i rozpoznania histopatologicznego, rozkład przedstawiony został poprzez podanie odsetka pacjentów przynależnych danej kategorii tych zmiennych. Nieparametryczny test U Manna-Whitneya zastosowano do porównania zmiennych liczbowych pomiędzy dwiema grupami obserwacji, a test Kruskala-Wallisa do porównania większej liczby grup. W celu zbadania związku między dwoma zmiennymi kategorycznymi wykorzystano natomiast test Fishera.

W celu objaśnienia szansy na odpowiedź terapii hydroksychlorochiną, korzystając ze wstecznej metody krokowej (opartej o kryterium Akaikego), skonstruowano model regresji logistycznej. Na bazie jego współczynników obliczono jednostkowe ilorazy szans, których wartości mówią, ile razy, wraz z jednostkowym wzrostem wartości zmiennej danego predyktora, zwiększa się szansa na pożądany rezultat leczenia. Na bazie tego modelu, przeprowadzono analizę mającą wyjaśnić, czy test oparty o wartości użytego w modelu predyktora mógłby być użyteczny do różnicowania pacjentów jako tych, u których wystąpi odpowiedź na leczenie. W tym celu wykreślono krzywą ROC, dla której wybrano optymalny punkt odcięcia oraz określono dla niego czułość i specyficzność metody. Wyznaczono pole pod krzywą ROC, tj. parametr AUC, ponadto użyto metody DeLonga do obliczenia 95% przedziału ufności dla tego parametru. Na podstawie wyznaczonego przedziału ufności oceniono jakość użycia tej metody.

Za poziom istotności przyjęto  $\alpha \leq 0,05$ , wskazując jednak również na wyniki statystycznie istotne dla poziomów  $\alpha \leq 0,01$  oraz  $\alpha \leq 0,001$ . Wartości p wskazujące na statystycznie istotny wynik zostały wyróżnione pogrubioną czcionką.

Wszystkie obliczenia zostały wykonane przy użyciu pakietu statystycznego R w wersji 3.6.0.

## 4. WYNIKI

### 4.1. Wyniki oceny skuteczności terapii hydroksychlorochiną.

W grupie 65 badanych, u 31 pacjentów (47,7%) zaobserwowano remisję choroby w trakcie terapii hydroksychlorochiną, podczas gdy u 34 osób (52,3%) doszło do progresji choroby. Odpowiedź na leczenie HCQ wystąpiła aż u dwóch trzecich chorujących na DLE (66,7%, N=12), u 64% badanych z późnym okresem PCA (N=11), około połowy pacjentów z FFA (46,7%, N=7), u co piątej osoby z LPP (22,2%, N=4), a także u jednego spośród dwóch chorych na PPB. Różnice w odsetku osób, u których wystąpiła odpowiedź na terapię HCQ nie były istotne statystycznie (test Fishera;  $p > 0,05$ ).

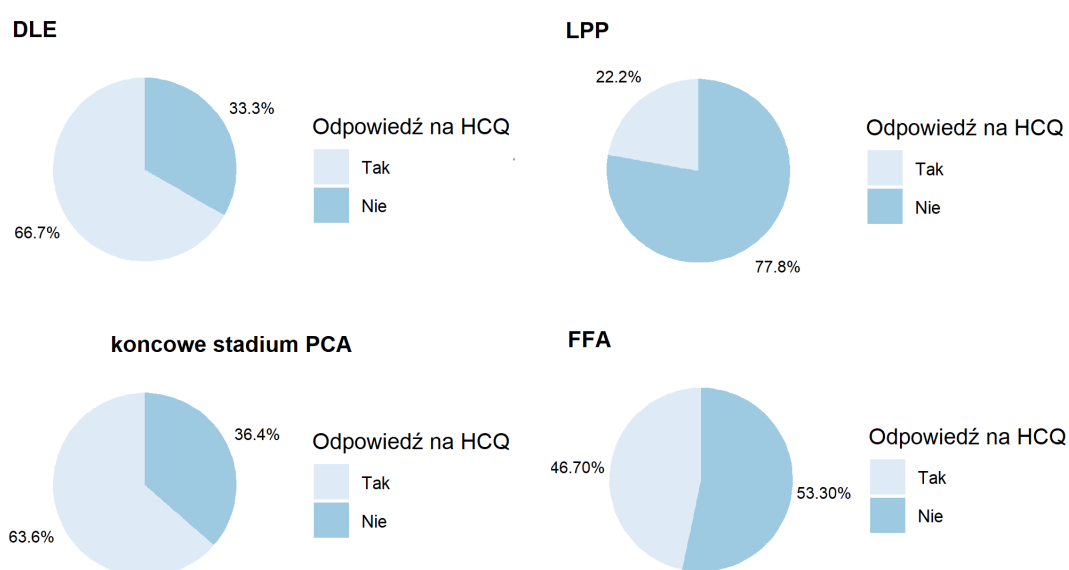
Tabela 8. Porównanie odpowiedzi na terapię HCQ w poszczególnych chorobach z grupy PCA.

| Zmienna             | Parametr | Ogółem<br>(N=65) | DLE<br>(N=18)   | LPP<br>(N=18)   | FFA<br>(N=15)  | Końcowe<br>stadium<br>PCA<br>(N=11) | PPB<br>(N=2) | FM<br>(N=1)   | test                | p-<br>value |
|---------------------|----------|------------------|-----------------|-----------------|----------------|-------------------------------------|--------------|---------------|---------------------|-------------|
| Odpowiedź<br>na HCQ | Tak      | 47,7%<br>(N=31)  | 66,7%<br>(N=12) | 22,2%<br>(N=4)  | 46,7%<br>(N=7) | 63,6%<br>(N=7)                      | 50%<br>(N=1) | 0%<br>(N=0)   | Fisher <sup>1</sup> | 0,0551      |
|                     | Nie      | 52,3%<br>(N=34)  | 33,3%<br>(N=6)  | 77,8%<br>(N=14) | 53,3%<br>(N=8) | 36,4%<br>(N=4)                      | 50%<br>(N=1) | 100%<br>(N=1) |                     |             |

N – liczba; DLE – toczeń rumieniowaty krążkowy; LPP – liszaj płaski mieszkowy; FFA – łysienie czołowe bliznowaciejące; PPB – łysienie rzekomo bliznowaciejące Brocq’a; FM – mucynoza mieszkowa; PCA – pierwotne łysienie bliznowaciejące, p-value – wartość p

<sup>1</sup> Test oparty był na próbie ograniczonej do przypadków, w których rozpoznano chorobę inną niż PPB i FM

Rycina 9. Porównanie skuteczności terapii HCQ w poszczególnych chorobach z grupy PCA.



#### ***4.2. Wyniki oznaczeń ekspresji receptorów komórek dendrytycznych w wycinkach skórnych w grupie badanej.***

W badaniu oceniono nie tylko liczebność, ale również dystrybucję poszczególnych subpopulacji komórek dendrytycznych w skórze objętej procesem chorobowym u pacjentów z różnymi wariantami PCA.

Spośród wszystkich badanych subpopulacji komórek dendrytycznych liczebność pDCs była najmniejsza. Plazmacytoidalne komórki dendrytyczne lokalizowały się głównie na obszarze blizny (okolica okołomieszkowa). Wyjątkiem była FM, gdzie uwidoczono większość pDCs w obrębie mieszka włosowego oraz PPB, w którym nie stwierdzono ich obecności. Średnia liczba komórek CD123+ w okolicy okołomieszkowej i w skórze właściwej była istotnie wyższa w przypadku DLE w porównaniu do pozostałych jednostek chorobowych (Tabela 8).

Wzorzec dystrybucji konwencjonalnych komórek dendrytycznych był podobny niezależnie od rozpoznania, co uwidoczono w Tabeli 9. Komórki CD11c+ występowały głównie w obrębie blizny (okołomieszkowo), w mniejszym stopniu na obszarze mieszka włosowego oraz skóry właściwej. Również w tym przypadku wyjątek stanowiła FM, gdzie większość komórek lokalizowała się wewnątrz mieszka włosowego oraz w naskórku. Nie zaobserwowano istotnych różnic w wielkości nacieku z cDCs pomiędzy poszczególnymi rozpoznaniem.

W większości chorób z grupy PCA komórki dendrytyczne pochodzenia monocytarnego wykazywały tendencję do lokalizacji okołomieszkowej, a w przypadku FM ich obecność stwierdzono wewnątrz mieszka włosowego oraz w naskórku. Średnia liczba komórek CD206+ w skórze właściwej była istotnie większa w przypadku DLE w porównaniu do pozostałych rozpoznań.

Jedyną subpopulacją komórek dendrytycznych, która wykazywała predylekcję do zajmowania naskórka były komórki Langerhansa. LCs u wszystkich pacjentów występowały w obrębie naskórka (pojedyncze w przypadku FM), natomiast w grupie osób z DLE zaobserwowano ich istotnie większą liczbę również w okolicy mieszkowej (Tabela 11).



Tabela 9. Charakterystyka liczebności i dystrybucji komórek CD123+ (plazmacytoidalne komórki dendrytyczne).

| Rozpoznanie (N)/<br>Lokalizacja                 | Parametr           | Mieszkowa       | Okołomieszkowa     | Skóra właściwa   | Naskórek       |
|---|--------------------|-----------------|--------------------|------------------|----------------|
| DLE<br>(18)                                     | Średnia<br>(SD)    | 2,44<br>(4,1)   | 8,78<br>(8,63)     | 4,72<br>(3,21)   | 0,56<br>(1,2)  |
|   | Mediana<br>(Q1-Q3) | 0<br>(0 - 4,75) | 7<br>(3,75 - 11,5) | 5<br>(2,25 - 6)  | 0<br>(0 - 0)   |
|   | Zakres             | 0 - 12          | 0 - 38             | 0 - 12           | 0 - 4          |
| LPP<br>(18)                                     | Średnia<br>(SD)    | 1,22<br>(2,32)  | 4,17<br>(4,99)     | 2,67<br>(2,22)   | 0,83<br>(1,42) |
|   | Mediana<br>(Q1-Q3) | 0<br>(0 - 1,5)  | 3<br>(0 - 5)       | 3<br>(0,25 - 4)  | 0<br>(0 - 1)   |
|   | Zakres             | 0 - 7           | 0 - 19             | 0 - 7            | 0 - 4          |
| FFA<br>(15)                                     | Średnia<br>(SD)    | 3,6<br>(7,13)   | 3,53<br>(2,75)     | 1,87<br>(2,1)    | 0,07<br>(0,26) |
|   | Mediana<br>(Q1-Q3) | 0<br>(0 - 2,5)  | 3<br>(1,5 - 6)     | 1<br>(0,5 - 2,5) | 0<br>(0 - 0)   |
|   | Zakres             | 0 - 20          | 0 - 7              | 0 - 8            | 0 - 1          |
| Końcowe<br>stadium PCA<br>(11)                  | Średnia<br>(SD)    | 0,18<br>(0,6)   | 2,91<br>(4,93)     | 1,27<br>(0,9)    | 0,36<br>(0,67) |
|   | Mediana<br>(Q1-Q3) | 0<br>(0 - 0)    | 2<br>(0 - 3)       | 1<br>(1 - 2)     | 0<br>(0 - 0,5) |
|   | Zakres             | 0 - 2           | 0 - 17             | 0 - 3            | 0 - 2          |
| PPB<br>(2)                                      | Średnia<br>(SD)    | 0<br>(0)        | 0<br>(0)           | 0<br>(0)         | 0<br>(0)       |
|   | Mediana<br>(Q1-Q3) | 0<br>(0 - 0)    | 0<br>(0 - 0)       | 0<br>(0 - 0)     | 0<br>(0 - 0)   |
|   | Zakres             | 0 - 0           | 0 - 0              | 0 - 0            | 0 - 0          |
| FM<br>(1)                                       | N                  | 5               | 0                  | 0                | 3              |
| <b>p-value</b><br>(test<br>Kruskala-<br>Wallis) |                    |                 | <b>0,0165</b>      | <b>0,0064</b>    |                |

N – liczba; SD – odchylenie standardowe; Q1-Q3 – wartość pierwszego i trzeciego kwartyla; DLE – toczeń rumieniowaty krążkowy; LPP – liszaj płaski mieszkowy; FFA – łysienie czołowe bliznowaciejące; PPB – łysienie rzekomo bliznowaciejące Brocq; FM – mucynoza mieszkowa; PCA – pierwotne łysienie bliznowaciejące, p-value – wartość p

Tabela 10. Charakterystyka liczebności i dystrybucji komórek CD11c+ (konwencjonalne komórki dendrytyczne cDC2).

| Rozpoznanie (N)/<br>Lokalizacja | Parametr           | Mieszkowa         | Okołomieszkowa        | Skóra właściwa       | Naskórek       |
|---------------------------------|--------------------|-------------------|-----------------------|----------------------|----------------|
| DLE<br>(18)                     | Średnia<br>(SD)    | 13,22<br>(20,66)  | 28,44<br>(21,72)      | 14,83<br>(11,72)     | 3,06<br>(3,37) |
|                                 | Mediana<br>(Q1-Q3) | 5,5<br>(0 - 13,5) | 18<br>(14,25 - 35,75) | 12<br>(8 - 18,75)    | 2,5<br>(0 - 4) |
|                                 | Zakres             | 0 - 80            | 10 - 88               | 2 - 54               | 0 - 12         |
| LPP<br>(18)                     | Średnia<br>(SD)    | 4,28<br>(5,62)    | 14,22<br>(10,16)      | 8,56<br>(7,06)       | 2,39<br>(3,35) |
|                                 | Mediana<br>(Q1-Q3) | 2<br>(0 - 6,25)   | 14,5<br>(8 - 17,75)   | 8<br>(4 - 12,75)     | 2<br>(0 - 3)   |
|                                 | Zakres             | 0 - 16            | 0 - 36                | 0 - 28               | 0 - 12         |
| FFA<br>(15)                     | Średnia<br>(SD)    | 6,73<br>(12,76)   | 15,2<br>(14,93)       | 6,73<br>(4,8)        | 2<br>(4,11)    |
|                                 | Mediana<br>(Q1-Q3) | 0<br>(0 - 3)      | 12<br>(6 - 16)        | 4<br>(3 - 11)        | 0<br>(0 - 1)   |
|                                 | Zakres             | 0 - 35            | 2 - 50                | 2 - 15               | 0 - 12         |
| Końcowe<br>stadium PCA<br>(11)  | Średnia<br>(SD)    | 0,82<br>(2,4)     | 14,55<br>(12,4)       | 11,36<br>(14,89)     | 3,45<br>(4,95) |
|                                 | Mediana<br>(Q1-Q3) | 0<br>(0 - 0)      | 16<br>(4,5 - 20,5)    | 7<br>(3 - 12)        | 1<br>(0 - 6,5) |
|                                 | Zakres             | 0 - 8             | 0 - 38                | 1 - 54               | 0 - 12         |
| PPB<br>(2)                      | Średnia<br>(SD)    | 0<br>(0)          | 4,5<br>(0,71)         | 3,5<br>(0,71)        | 3<br>(0)       |
|                                 | Mediana<br>(Q1-Q3) | 0<br>(0 - 0)      | 4,5<br>(4,25 - 4,75)  | 3,5<br>(3,25 - 3,75) | 3<br>(3 - 3)   |
|                                 | Zakres             | 0 - 0             | 4 - 5                 | 3 - 4                | 3 - 3          |
| FM<br>(1)                       | N                  | 15                | 1                     | 0                    | 15             |
| <b>p-value</b>                  |                    |                   |                       |                      |                |

N – liczba; SD – odchylenie standardowe; Q1-Q3 – wartość pierwszego i trzeciego kwartyla; DLE – toczeń rumieniowaty krążkowy; LPP – liszaj płaski mieszkowy; FFA – łysienie czołowe bliznowaciejące; PPB – łysienie rzekomo bliznowaciejące Brocq; FM – mucynoza mieszkowa; PCA – pierwotne łysienie bliznowaciejące, p-value – wartość p

Tabela 11. Charakterystyka liczebności i dystrybucji komórek CD206+ (komórki dendrytyczne pochodzenia monocytarnego).

| Rozpoznanie (N)/<br>Lokalizacja | Parametr           | Mieszkowa            | Okołomieszkowa       | Skóra właściwa         | Naskórek        |
|---------------------------------|--------------------|----------------------|----------------------|------------------------|-----------------|
| DLE<br>(18)                     | Średnia<br>(SD)    | 8,56<br>(13,95)      | 27,06<br>(15,39)     | 26,61<br>(16,43)       | 4,56<br>(7,29)  |
|                                 | Mediana<br>(Q1-Q3) | 4,5<br>(0 - 10,25)   | 20,5<br>(15 - 38,75) | 22<br>(15,75 - 37,5)   | 2,5<br>(0 - 4)  |
|                                 | Zakres             | 0 - 58               | 7 - 54               | 2 - 64                 | 0 - 30          |
| LPP<br>(18)                     | Średnia<br>(SD)    | 4,89<br>(9,6)        | 18,83<br>(9,59)      | 15,78<br>(7,23)        | 1,5<br>(1,86)   |
|                                 | Mediana<br>(Q1-Q3) | 1,5<br>(0 - 5)       | 18,5<br>(12,75 - 26) | 14,5<br>(10,5 - 19,75) | 1<br>(0 - 2,75) |
|                                 | Zakres             | 0 - 40               | 0 - 40               | 5 - 30                 | 0 - 6           |
| FFA<br>(15)                     | Średnia<br>(SD)    | 6,33<br>(8,82)       | 20,87<br>(14,69)     | 14,07<br>(6,55)        | 2,73<br>(4,13)  |
|                                 | Mediana<br>(Q1-Q3) | 2<br>(0 - 8,5)       | 18<br>(11 - 25,5)    | 15<br>(12 - 17,5)      | 1<br>(0 - 4)    |
|                                 | Zakres             | 0 - 26               | 4 - 52               | 0 - 28                 | 0 - 12          |
| Końcowe<br>stadium PCA<br>(11)  | Średnia<br>(SD)    | 0,18<br>(0,6)        | 18,09<br>(16)        | 15,27<br>(8,39)        | 1,45<br>(1,51)  |
|                                 | Mediana<br>(Q1-Q3) | 0<br>(0 - 0)         | 12<br>(7,5 - 25)     | 12<br>(10 - 22)        | 2<br>(0 - 2,5)  |
|                                 | Zakres             | 0 - 2                | 2 - 56               | 4 - 30                 | 0 - 4           |
| PPB<br>(2)                      | Średnia<br>(SD)    | 2,5<br>(3,54)        | 21<br>(8,49)         | 1<br>(1,41)            | 0<br>(0)        |
|                                 | Mediana<br>(Q1-Q3) | 2,5<br>(1,25 - 3,75) | 21<br>(18 - 24)      | 1<br>(0,5 - 1,5)       | 0<br>(0 - 0)    |
|                                 | Zakres             | 0 - 5                | 15 - 27              | 0 - 2                  | 0 - 0           |
| FM<br>(1)                       | N                  | 22                   | 1                    | 0                      | 17              |
| <b>p-value</b>                  |                    |                      |                      | <b>0,015</b>           |                 |

N – liczba; SD – odchylenie standardowe; Q1-Q3 – wartość pierwszego i trzeciego kwartyla; DLE – toczeń rumieniowaty krążkowy; LPP – liszaj płaski mieszkowy; FFA – łysienie czołowe bliznowaciejące; PPB – łysienie rzekomo bliznowaciejące Brocq; FM – mucynoza mieszkowa; PCA – pierwotne łysienie bliznowaciejące, p-value – wartość p

Tabela 12. Charakterystyka liczebności i dystrybucji komórek CD1a/CD207+ (komórki Langerhansa).

| Rozpoznanie (N)/<br>Lokalizacja | Parametr           | Mieszkowa          | Okołomieszkowa     | Skóra właściwa | Naskórek              |
|---------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------------|-----------------------|
| DLE<br>(18)                     | Średnia<br>(SD)    | 14,89<br>(16,97)   | 5,17<br>(7,9)      | 2,22<br>(2,07) | 15,89<br>(9,76)       |
|                                 | Mediana<br>(Q1-Q3) | 9<br>(2,5 - 19,25) | 3<br>(1 - 5,75)    | 2<br>(0 - 4)   | 15<br>(9 - 17,5)      |
|                                 | Zakres             | 0 - 60             | 0 - 34             | 0 - 6          | 2 - 38                |
| LPP<br>(18)                     | Średnia<br>(SD)    | 6,67<br>(8,53)     | 3,89<br>(4,86)     | 2,06<br>(2,24) | 12,78<br>(7)          |
|                                 | Mediana<br>(Q1-Q3) | 4<br>(0 - 9,5)     | 2<br>(0,25 - 4,75) | 1,5<br>(0 - 3) | 14,5<br>(6,25 - 16,5) |
|                                 | Zakres             | 0 - 35             | 0 - 18             | 0 - 7          | 3 - 27                |
| FFA<br>(15)                     | Średnia<br>(SD)    | 6,07<br>(6,51)     | 4,4<br>(4,21)      | 2,33<br>(4,58) | 14,53<br>(8,07)       |
|                                 | Mediana<br>(Q1-Q3) | 4<br>(0 - 10)      | 3<br>(1 - 8)       | 1<br>(0 - 2,5) | 15<br>(12 - 17)       |
|                                 | Zakres             | 0 - 19             | 0 - 12             | 0 - 18         | 0 - 32                |
| Końcowe<br>stadium PCA<br>(11)  | Średnia<br>(SD)    | 2,36<br>(5,71)     | 4,64<br>(7,74)     | 1,55<br>(1,63) | 17,36<br>(17,14)      |
|                                 | Mediana<br>(Q1-Q3) | 0<br>(0 - 0)       | 2<br>(0 - 3,5)     | 2<br>(0 - 2,5) | 16<br>(4 - 16,5)      |
|                                 | Zakres             | 0 - 18             | 0 - 24             | 0 - 4          | 4 - 54                |
| PPB<br>(2)                      | Średnia<br>(SD)    | 0<br>(0)           | 3<br>(0)           | 0<br>(0)       | 1<br>(1,41)           |
|                                 | Mediana<br>(Q1-Q3) | 0<br>(0 - 0)       | 3<br>(3 - 3)       | 0<br>(0 - 0)   | 1<br>(0,5 - 1,5)      |
|                                 | Zakres             | 0 - 0              | 3 - 3              | 0 - 0          | 0 - 2                 |
| FM<br>(1)                       | N                  | 1                  | 4                  | 15             | 2                     |
| <b>p-value</b>                  |                    | <b>0,0357</b>      |                    |                |                       |

N – liczba; SD – odchylenie standardowe; Q1-Q3 – wartość pierwszego i trzeciego kwartyla; DLE – toczeń rumieniowaty krążkowy; LPP – liszaj płaski mieszkowy; FFA – łysienie czolowe bliznowaciejące; PPB – łysienie rzekomo bliznowaciejące Brocq; FM – mucynoza mieszkowa; PCA – pierwotne łysienie bliznowaciejące, p-value – wartość p

### 4.3. Wyniki analizy porównawczej ekspresji receptorów komórek dendrytycznych w wycinkach skórnych pomiędzy pacjentami z liszajem płaskim mieszkowym i toczniem rumieniowatym skórny.

Analizie poddano sumy wszystkich komórek dendrytycznych należących do poszczególnych subpopulacji niezależnie od lokalizacji (mieszkowa, okołomieszkowa, skóra właściwa, naskórek) w biopsjach tkankowych pacjentów z DLE i LPP. W przypadku porównań w niniejszym podrozdziale, pacjenci z łysieniem czołowym bliznowaciejącym zostali przypisani do grupy pacjentów z liszajem płaskim mieszkowym.

- Plazmacytoidalne komórki dendrytyczne

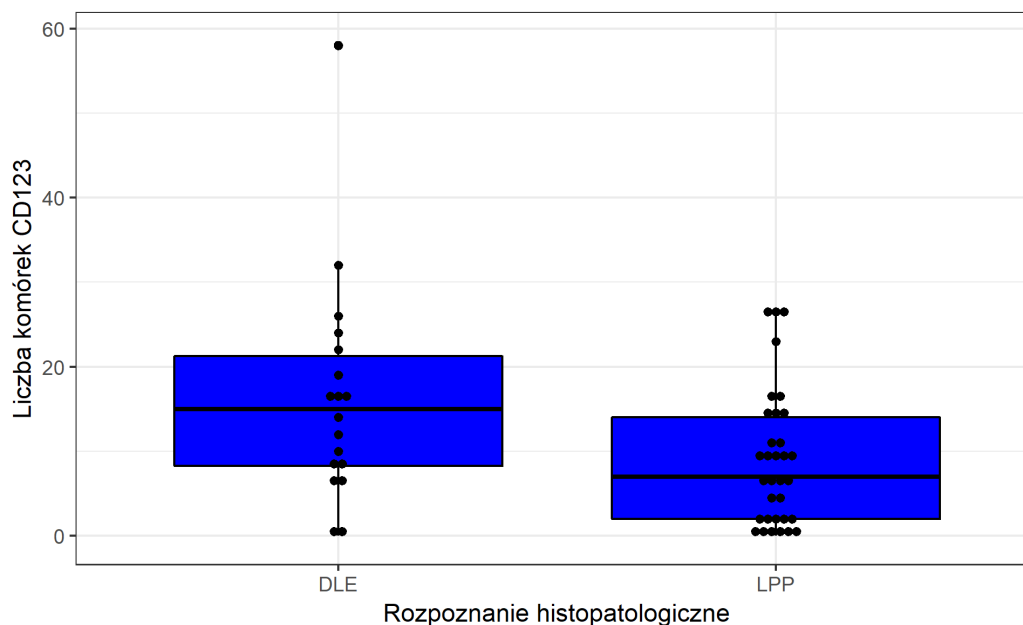
U pacjentów z DLE wykazano istotnie większy naciek z komórek CD123+ w porównaniu do pacjentów z LPP ( $p < 0,05$ ; test U Manna-Whitneya). W przypadku pierwszej z tych zbiorowości, średnia liczba komórek z ekspresją receptora CD123 wyniosła 16,5 ( $\pm 13,41$  – odchylenie standardowe), a w drugiej 8,97 ( $\pm 8,13$ ).

Tabela 13. Porównanie liczebności komórek CD123+ w biopsjach tkankowych pacjentów z LPP i DLE.

| Zmienna      | Parametr           | Ogółem<br>(N=65) | DLE<br>(N=18)        | LPP<br>(N=33)  | test           | p-value      |
|--------------|--------------------|------------------|----------------------|----------------|----------------|--------------|
| <b>CD123</b> | N                  | 65               | 18                   | 33             | U Mann-Whitney | <b>0,027</b> |
|              | Średnia<br>(SD)    | 10,05<br>(10,27) | 16,5<br>(13,41)      | 8,97<br>(8,13) |                |              |
|              | Mediana<br>(Q1-Q3) | 7<br>(2 - 15)    | 15<br>(8,25 - 21,25) | 7<br>(2 - 14)  |                |              |
|              | Zakres             | 0 - 58           | 0 - 58               | 0 - 27         |                |              |

N – liczba; SD – odchylenie standardowe; Q1-Q3 – wartość pierwszego i trzeciego kwartyła; DLE – toczень rumieniowaty krążkowy; LPP – liszaj płaski mieszkowy; p-value – wartość p

Rycina 10. Porównanie liczebności komórek CD123+ w biopsjach tkankowych pacjentów z LPP i DLE, N=51.



N – liczba; DLE – toczeń rumieniowaty krążkowy; LPP – liszaj płaski mieszkowy

- Konwencjonalne komórki dendrytyczne cDC2

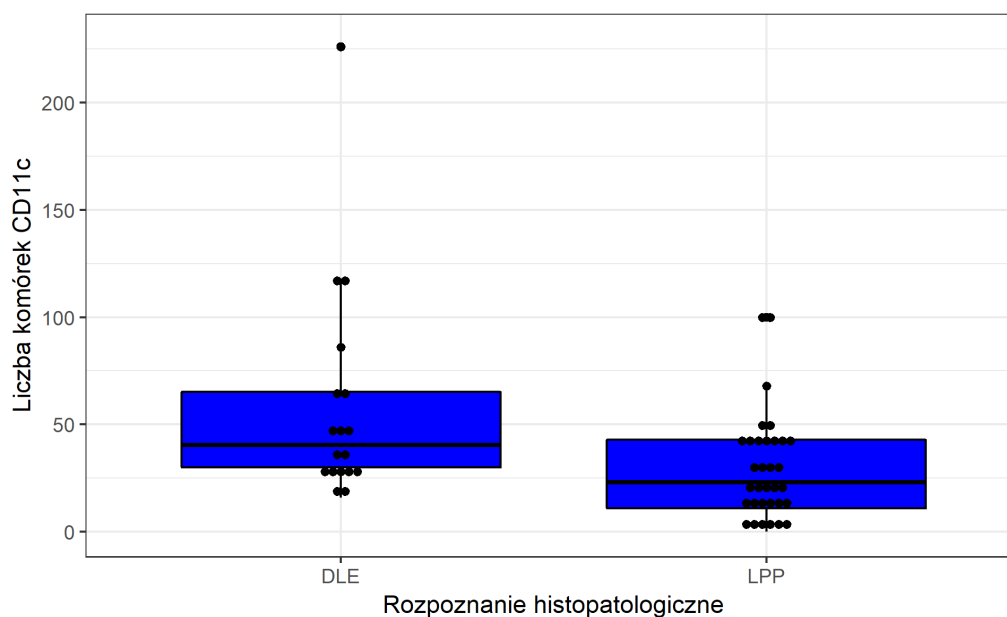
Również naciek złożony z komórek wykazujących ekspresję CD11c różnicował istotnie pacjentów obu grup ( $p < 0,01$ ; test U Manna-Whitneya). Średnia liczba komórek CD11c+ w biopsjach skórnych pacjentów z DLE wyniosła 59,56 ( $\pm 51,26$ ), a w grupie osób z LPP 30 ( $\pm 24,52$ ).

Tabela 14. Porównanie liczebności komórek CD11c+ w biopsjach tkankowych pacjentów z LPP i DLE.

| Zmienna      | Parametr           | Ogółem<br>(N=65) | DLE<br>(N=18)        | LPP<br>(N=33)   | test           | p-value       |
|--------------|--------------------|------------------|----------------------|-----------------|----------------|---------------|
| <b>CD11c</b> | N                  | 65               | 18                   | 33              | U Mann-Whitney | <b>0,0054</b> |
|              | Średnia<br>(SD)    | 37,65<br>(36,29) | 59,56<br>(51,26)     | 30<br>(24,52)   |                |               |
|              | Mediana<br>(Q1-Q3) | 30<br>(14 - 45)  | 40,5<br>(30 - 65,25) | 23<br>(11 - 43) |                |               |
|              | Zakres             | 0 - 226          | 16 - 226             | 0 - 100         |                |               |

N – liczba; SD – odchylenie standardowe; Q1-Q3 – wartość pierwszego i trzeciego kwartyła; DLE – toczeń rumieniowaty krążkowy; LPP – liszaj płaski mieszkowy; p-value – wartość p

Rycina 11. Porównanie liczebności komórek CD123+ w biopsjach tkankowych pacjentów z LPP i DLE, N=51.



N – liczba; DLE – toczeń rumieniowaty krążkowy; LPP – liszaj płaski mieszkowy

- Komórki dendrytyczne pochodzenia monocytarnego

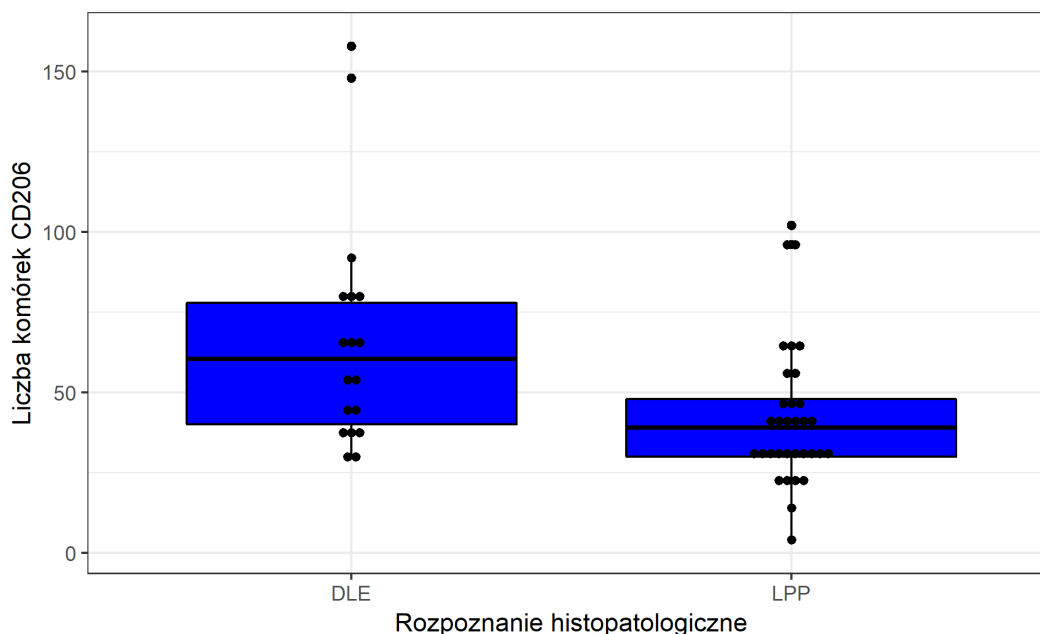
Naciek złożony z komórek CD206+ był istotnie większy w grupie pacjentów z DLE w porównaniu do LPP ( $p < 0,01$ ; test U Manna-Whitneya). Świadczy o tym zarówno wyższa wartość średniej ( $66,78 \pm 36,49$ ), jak i mediany (60,5) dla rozkładu zmiennej wśród osób z DLE względem pacjentów z LPP (średnia równa  $42,36 \pm 22,66$ ; mediana równa 39).

Tabela 15. Porównanie liczebności komórek CD206+ w biopsjach tkankowych pacjentów z LPP i DLE.

| Zmienna      | Parametr           | Ogółem<br>(N=65) | DLE<br>(N=18)     | LPP<br>(N=33)    | test           | p-value       |
|--------------|--------------------|------------------|-------------------|------------------|----------------|---------------|
| <b>CD206</b> | N                  | 65               | 18                | 33               | U Mann-Whitney | <b>0,0059</b> |
|              | Średnia<br>(SD)    | 47,29<br>(29,3)  | 66,78<br>(36,49)  | 42,36<br>(22,66) |                |               |
|              | Mediana<br>(Q1-Q3) | 40<br>(30 - 62)  | 60,5<br>(40 - 78) | 39<br>(30 - 48)  |                |               |
|              | Zakres             | 4 - 158          | 29 - 158          | 4 - 102          |                |               |

N – liczba; SD – odchylenie standardowe; Q1-Q3 – wartość pierwszego i trzeciego kwartyła; DLE – toczeń rumieniowaty krążkowy; LPP – liszaj płaski mieszkowy; p-value – wartość p

Rycina 12. Porównanie liczebności komórek CD206+ w biopsjach tkankowych pacjentów z LPP i DLE, N=51.



N – liczba; DLE – toczeń rumieniowaty krążkowy; LPP – liszaj płaski mieszkowy

- Komórki Langerhansa

Nie wykazano, aby rodzaj choroby istotnie różnicował pacjentów pod względem wielkości nacieku komórek Langerhansa.

Tabela 16. Porównanie liczebności komórek CD1a/CD207+ w biopsjach tkankowych pacjentów z LPP i DLE.

| Zmienna                | Parametr          | Ogółem<br>(N=65) | DLE<br>(N=18)    | LPP<br>(N=33)    | test               | p-value |
|------------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|--------------------|---------|
| <b>CD1a/<br/>CD207</b> | N                 | 65               | 18               | 33               | U Mann-<br>Whitney | 0,2366  |
|                        | Średnia<br>(SD)   | 28,75<br>(19,81) | 38,17<br>(25,38) | 26,27<br>(13,03) |                    |         |
|                        | Median<br>(Q1-Q3) | 27<br>(15-36)    | 32,5<br>(20-56)  | 27<br>(21-33)    |                    |         |
|                        | Zakres            | 0 - 82           | 2 - 82           | 0 - 59           |                    |         |

N – liczba; SD – odchylenie standardowe; Q1-Q3 – wartość pierwszego i trzeciego kwartyła; DLE – toczeń rumieniowaty krążkowy; LPP – liszaj płaski mieszkowy; p-value – wartość p



#### 4.4. Wyniki analizy porównawczej ekspresji receptorów komórek dendrytycznych w wycinkach skórnych pomiędzy pacjentami odpowiadającymi i nieodpowiadającymi na terapię hydroksychlorochiną.

- Plazmacytoidalne komórki dendrytyczne

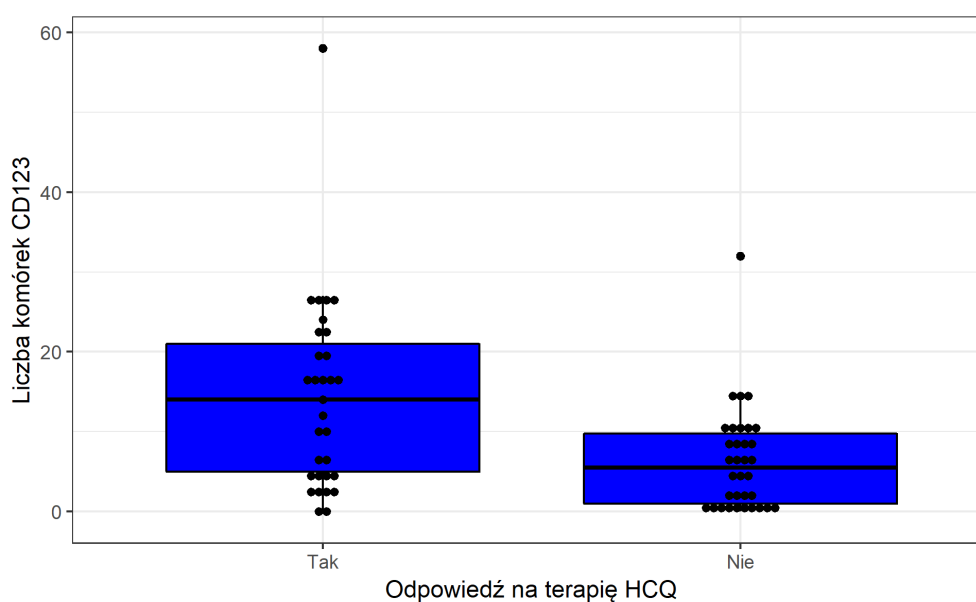
Wśród pacjentów, u których wystąpiła odpowiedź na terapię hydroksychlorochiną, wielkość nacieku złożonego z komórek z ekspresją białka CD123 była istotnie wyższa względem osób, u których nie wystąpiła odpowiedź na leczenie ( $p < 0,01$ ; test U Manna-Whitneya). Przeciętna wielkość nacieku pDCs w przypadku osób u których wystąpiła pożądana reakcja na terapię wyniosła  $14,23 (\pm 12,02)$ , zaś w gronie pozostałych pacjentów  $6,24 (\pm 6,48)$ .

Tabela 17. Porównanie liczebności komórek CD123+ w biopsjach skórnych pacjentów odpowiadających i nieodpowiadających na leczenie hydroksychlorochiną.

| Zmienna      | Parametr           | Ogółem<br>(N=65) | Tak<br>(N=31)   | Nie<br>(N=34)     | test           | p-value       |
|--------------|--------------------|------------------|-----------------|-------------------|----------------|---------------|
| <b>CD123</b> | N                  | 65               | 31              | 34                | U Mann-Whitney | <b>0,0015</b> |
|              | Średnia<br>(SD)    | 10,05<br>(10,27) | 14,2<br>(12,02) | 6,24<br>(6,48)    |                |               |
|              | Mediana<br>(Q1-Q3) | 7<br>(2 - 15)    | 14<br>(5 - 21)  | 5,5<br>(1 - 9,75) |                |               |
|              | Zakres             | 0 - 58           | 0 - 58          | 0 - 32            |                |               |

N – liczba; SD – odchylenie standardowe; Q1-Q3 – wartość pierwszego i trzeciego kwartyła; DLE – toczeń rumieniowaty krążkowy; LPP – liszaj płaski mieszkowy; p-value – wartość p

Rycina 13. Porównanie liczebności komórek CD123+ w biopsjach skórnych pacjentów odpowiadających i nieodpowiadających na leczenie hydroksychlorochiną.



- Konwencjonalne komórki dendrytyczne cDC2

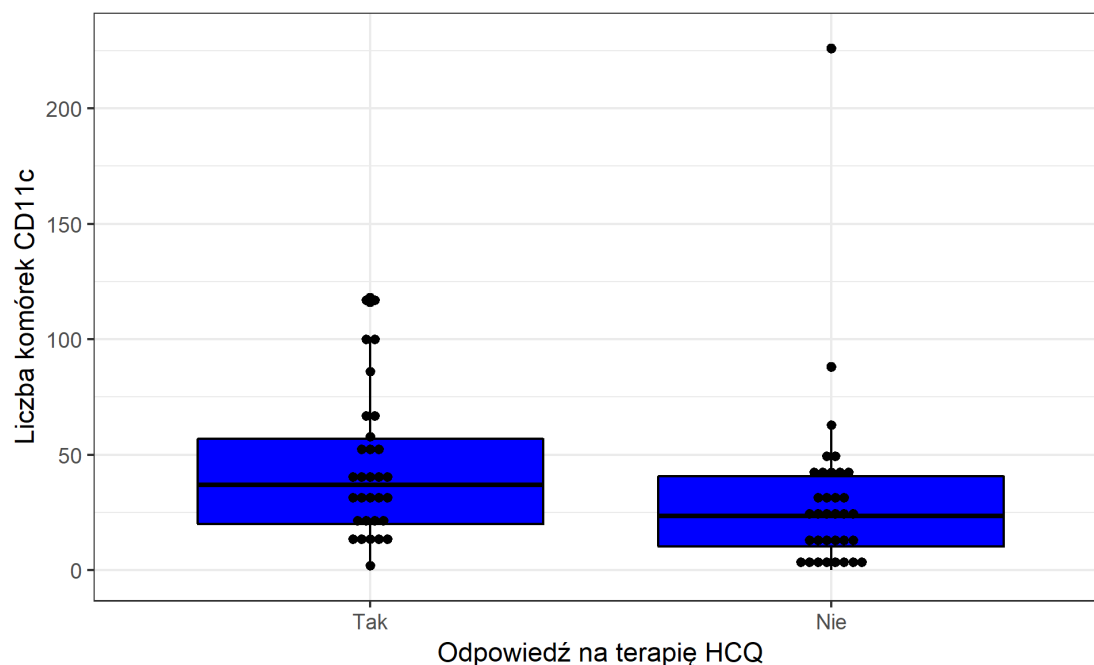
Również wielkość nacieku komórek z ekspresją markera CD11c była istotnie wyższa dla osób, u których wystąpiła pożądana odpowiedź na stosowaną terapię. Wartość mediany dla rozkładu rozpatrywanej zmiennej wyniosła 37 dla osób, u których wystąpiła odpowiedź na terapię hydroksychlorochiną oraz 23,5 dla pozostałych badanych.

Tabela 18. Porównanie liczebności komórek CD11c+ w biopsjach skórnych pacjentów odpowiadających i nieodpowiadających na leczenie hydroksychlorochiną.

| Zmienna      | Parametr        | Ogółem<br>(N=65) | Tak<br>(N=31) | Nie<br>(N=34)        | test           | p-value       |
|--------------|-----------------|------------------|---------------|----------------------|----------------|---------------|
| <b>CD11c</b> | N               | 65               | 31            | 34                   | U Mann-Whitney | <b>0,0242</b> |
|              | Średnia (SD)    | 37,65 (36,29)    | 44,23 (31,72) | 31,65 (39,52)        |                |               |
|              | Mediana (Q1-Q3) | 30 (14 - 45)     | 37 (20 - 57)  | 23,5 (10,25 - 40,75) |                |               |
|              | Zakres          | 0 - 226          | 2 - 118       | 0 - 226              |                |               |

N – liczba; SD – odchylenie standardowe; Q1-Q3 – wartość pierwszego i trzeciego kwartyła; p-value – wartość p

Rycina 14. Porównanie liczebności komórek CD123+ w biopsjach skórnych pacjentów odpowiadających i nieodpowiadających na leczenie hydroksychlorochiną.



- Komórki dendrytyczne pochodzenia monocytarnego

Wielkość nacieku komórek, na powierzchni których występował receptor lektynowy CD206 nie była różnicowana w sposób statystycznie istotny przez rodzaj leczenia, ale wartość p (p-value) była bardzo bliska poziomowi istotności statystycznej  $\alpha \leq 0,05$ .

Tabela 19. Porównanie liczebności komórek CD206+ w biopsjach skórnych pacjentów odpowiadających i nieodpowiadających na leczenie hydroksychlorochiną.

| Zmienna      | Parametr           | Ogółem<br>(N=65) | Tak<br>(N=31)     | Nie<br>(N=34)      | test               | p-<br>value |
|--------------|--------------------|------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| <b>CD206</b> | N                  | 65               | 31                | 34                 | U Mann-<br>Whitney | 0,0593      |
|              | Średnia<br>(SD)    | 47,29<br>(29,3)  | 54,97<br>(32,32)  | 40,29<br>(24,68)   |                    |             |
|              | Mediana<br>(Q1-Q3) | 40<br>(30 - 62)  | 46<br>(29,5 - 78) | 37<br>(30 - 45,75) |                    |             |
|              | Zakres             | 4 - 158          | 12 - 158          | 4 - 148            |                    |             |

N – liczba; SD – odchylenie standardowe; Q1-Q3 – wartość pierwszego i trzeciego kwartyła; p-value – wartość p

- Komórki Langerhansa

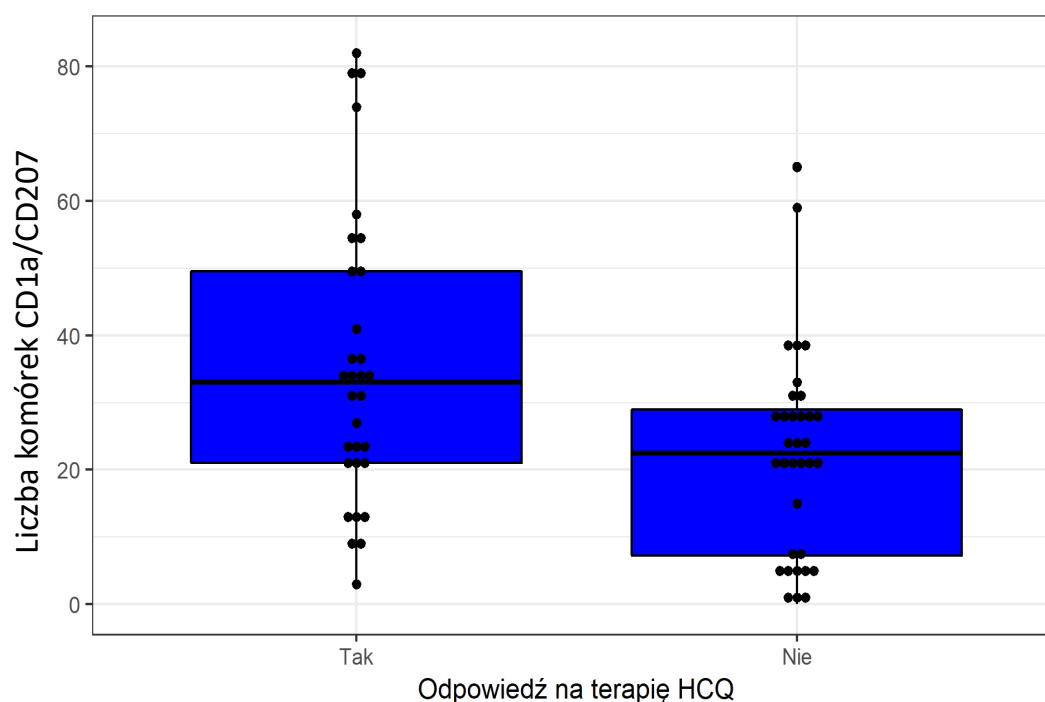
Liczebność komórek Langerhansa była istotnie większa wśród osób, u których terapia hydroksychlorochiną przyniosła oczekiwany efekt ( $p < 0,05$ ; test U Manna Whitneya). Świadczy o tym m.in. wyższa o 13,36 średnia wartość tej zmiennej w grupie, u której wystąpiła odpowiedź na leczenie względem grupy pozostałych badanych (Tabela 17).

Tabela 20. Porównanie liczebności komórek CD1a/CD207+ w biopsjach skórnych pacjentów odpowiadających i nieodpowiadających na leczenie hydroksychlorochiną.

| Zmienna                | Parametr           | Ogółem<br>(N=65) | Tak<br>(N=31)     | Nie (N=34)          | test               | p-<br>value   |
|------------------------|--------------------|------------------|-------------------|---------------------|--------------------|---------------|
| <b>CD1a/<br/>CD207</b> | N                  | 65               | 31                | 34                  | U Mann-<br>Whitney | <b>0,0112</b> |
|                        | Średnia<br>(SD)    | 28,75<br>(19,81) | 35,74<br>(21,87)  | 22,38<br>(15,44)    |                    |               |
|                        | Mediana<br>(Q1-Q3) | 27<br>(15 - 36)  | 33<br>(21 - 49,5) | 22,5<br>(7,25 - 29) |                    |               |
|                        | Zakres             | 0 - 82           | 3 - 82            | 0 - 65              |                    |               |

N – liczba; SD – odchylenie standardowe; Q1-Q3 – wartość pierwszego i trzeciego kwartyła; p-value – wartość p

Rycina 15. Porównanie liczebności komórek CD1a/CD207+ w biopsjach skórnych pacjentów odpowiadających i nieodpowiadających na leczenie hydroksychlorochiną.



#### 4.5. Wyniki oceny komórek dendrytycznych w wycinkach skórnych jako markerów odpowiedzi na terapię hydroksychlorochiną.

Skonstruowano model regresji logistycznej mający objaśnić szansę na to, że nastąpi odpowiedź na terapię hydroksychlorochiną w zależności od wielkości nacieku poszczególnych rodzajów komórek dendrytycznych. Predyktory modelu zostały wybrane spośród liczby różnych subpopulacji komórek dendrytycznych. Po zastosowaniu metody eliminacji wstecznej krokowej wytypowaną zmienną objaśniającą wchodzącą w skład najlepiej dopasowanego modelu była ekspresja receptora CD123.

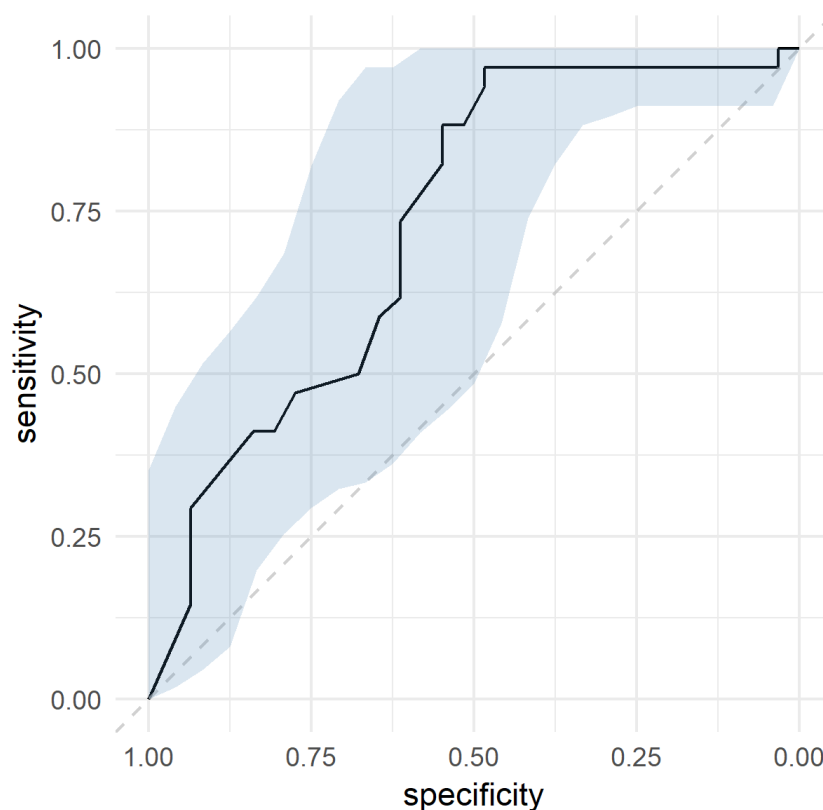
Wraz z jednostkowym wzrostem liczby komórek z ekspresją antygenu CD123, szansa na odpowiedź na terapię HCQ rosła 1,115-krotnie ( $p < 0,01$ ).

Tabela 21. Model regresji logistycznej objaśniający szansę odpowiedzi na terapię hydroksychlorochiną.

|                    | iloraz szans | 2.5 % | 97.5 % | p-value      |
|--------------------|--------------|-------|--------|--------------|
| <b>Wyraz wolny</b> | 0,326        | 0,135 | 0,72   | <b>0,008</b> |
| <b>CD123</b>       | 1,115        | 1,044 | 1,209  | <b>0,003</b> |

Celem oceny wartości diagnostycznej obecności plazmacytoidalnych komórek dendrytycznych (komórek CD123+) jako markera odpowiedzi na terapię lekiem, wykreślona została krzywa ROC.

Rycina 16. Krzywa ROC dla testu diagnostycznego odpowiedzi na terapię HCQ.



Sensitivity – czułość; specificity – swoistość

Wartość pola pod wykreśloną krzywą (ang. area under curve - AUC) wyniosła 0,7291. Wyznaczony metodą DeLonga, 95% przedział ufności dla tej wartości to: 0,6028-0,8554. Fakt, że jego dolny kraniec jest większy od 0,5, świadczy o tym, że liczba naciekających komórek dendrytycznych z ekspresją antygenu CD123, może być brana pod uwagę jako marker odpowiedzi na terapię HCQ. Optymalnym punktem odcięcia okazała się wartość 15,5, co oznacza, że liczby komórek CD123 większe lub równe 16, przemawiają za uznaniem, że nastąpi odpowiedź na leczenie hydroksychlorochiną. Czułość i specyficzność metody dla takiego punktu odcięcia wyniosły, kolejno 0,48 i 0,97.

## 5. OMÓWIENIE WYNIKÓW I Dyskusja

### *5.1. Omówienie wyników badania przedmiotowego pacjentów z PCA z naciekiem limfocytarnym.*

W badanej całej grupie chorych na pierwotne łysienie bliznowaciejące z naciekiem limfocytarnym liszaj płaski mieszkowy i jego wariant – łysienie czołowe bliznowaciejące – były najczęściej stwierdzanymi chorobami, które występowały u około połowy pacjentów (51%, 33/65). Toczeń rumieniowaty krążkowy obserwowano u 28 % osób (18/65), a łysienie rzekomo bliznowaciejące Brocq'a i mucynozę mieszkową zdiagnozowano u zaledwie trzech pacjentów. Prezentowany wynik jest zgodny z charakterystyką 72 pacjentów z PCA przedstawioną przez Villablanca i wsp, w której najczęstszymi przyczynami PCA były również LPP (43%) i DLE (18%) (Villablanca i wsp. 2017). Dane literaturowe na temat częstości poszczególnych typów PCA są często sprzeczne. W retrospektywnym badaniu kohortowym w grupie 112 osób najczęściej obserwowano DLE (38%) oraz niespecyficzne PCA (24,1%) (Tan i wsp. 2004). W największym jak do tej pory 10-letnim badaniu retrospektywnym łysienie rzekomo bliznowaciejące Brocq'a oraz niespecyficzne łysienie bliznowaciejące występowało u co trzeciego pacjenta z PCA (116/358), a LPP tylko u co dziesiątego (36/358) (Whiting 2001). Zaobserwowane rozbieżności mogą wynikać z różnic demograficznych oraz przyjętych kryteriów histopatologicznych w diagnostyce różnicowej wariantów PCA.

Należy zwrócić uwagę na fakt, że w prezentowanym badaniu późny etap chorób z grupy PCA z naciekiem limfocytarnym stwierdzono aż u 17% pacjentów (11/65). Nierozstrzygający obraz mikroskopowy z dominującym włóknieniem uniemożliwił precyzyjne postawienie rozpoznania. Warto zaznaczyć, że kluczowym elementem w procesie diagnostyczno-terapeutycznym jest wczesne pobranie biopsji, najlepiej w momencie wystąpienia objawów choroby. Badanie histopatologiczne może nie być miarodajne również w przypadku nieodpowiedniego wyboru miejsca pobrania wycinka tkankowego (Harries i wsp 2009, Mirmirani i wsp. 2005). Biopsję sztanową należy wykonać w miejscu aktywnego procesu zapalnego. Wybór właściwej lokalizacji ułatwia badanie dermoskopowe, dzięki któremu można uwidocznić charakterystyczne cechy aktywności choroby takie jak: złuszczenie okołomieszkowe (LPP, FFA), a także czerwone kropki i czopy rogowe (DLE) (Miteva i Tosti 2013). W grupie 80 pacjentów z PCA rozstrzygający obraz mikroskopowy uzyskano prawie

we wszystkich biopsjach (76/80) pobranych z obszarów wyznaczonych za pomocą dermoskopii (Miteva i Tosti 2013).

W badanej grupie zdecydowaną większość pacjentów stanowiły kobiety (93%). Prezentowany wynik odzwierciedla ogólną tendencję podawaną w piśmiennictwie. Według danych literaturowych kobiety częściej prezentują pierwotne łysienie bliznowaciejące z naciekiem limfocytarnym, a rzadziej PCA z naciekiem neutrofilowym (Tan i wsp. 2004, Whiting 2001). Bardzo wysoki odsetek kobiet w grupie badanej można tłumaczyć częstszymi konsultacjami dermatologicznymi związanymi z obawą o konsekwencje estetyczne łysienia bliznowaciejącego.

Średni wiek badanych w momencie postawienia diagnozy wynosił 57 lat. Nie zaobserwowano istotnych różnic w odniesieniu do podtypu PCA. W innych doniesieniach naukowych pacjenci, u których stwierdzono DLE i LPP byli nawet o 10 lat młodsi (Whiting 2001, Villablanca i wsp. 2017). W badaniu Tan i wsp. średni wiek rozpoznania dla DLE wynosił 36 lat, a dla LPP 47. Zdecydowana większość chorych zgłaszała się na konsultację w ciągu roku od wystąpienia objawów choroby (Tan i wsp. 2004). Wysoki odsetek osób starszych w prezentowanej grupie badanej może być spowodowany początkową błędną diagnozą i leczeniem innej przyczyny łysienia lub późnym zgłoszeniem się pacjenta na konsultację dermatologiczną. Łysienie bliznowaciejące jest często błędnie rozpoznawane jako łysienie telogenowe, androgenowe oraz łojotokowe zapalenie skóry (Kanti i wsp. 2018). W badaniu ankietowym co trzecia pacjentka (21/58) z PCA przyznała, że początkowo przyczyna jej utraty włosów została źle zdiagnozowana. W większości przypadków rozpoznawano łysienie niebliznowaciejące takie jak: łysienie plackowate oraz łysienie typu kobiecego. Tylko 33% przypadków zostało prawidłowo zdiagnozowanych w ciągu roku od pojawienia się objawów, a u co trzeciej pacjentki (21/58) właściwa diagnoza została postawiona po 5 latach od pierwszych oznak choroby lub później (Manatis-Lornell i wsp. 2019).

## ***5.2. Omówienie wyników oceny skuteczności leczenia hydroksychlorochiną.***

Z wyjątkiem wczesnego okresu toczenia rumieniowatego krążkowego, odrost włosów w łysieniu bliznowaciejącym zdarza się rzadko (Filbrandt i wsp. 2013). Wczesna interwencja terapeutyczna ma na celu redukcję objawów subiektywnych oraz zahamowanie progresji choroby. Wybór odpowiedniego leczenia miejscowego lub systemowego może stanowić wyzwanie dla dermatologów, co wynika z kilku powodów. Dotychczas nie opracowano

precyzyjnych wytycznych leczenia PCA, a z uwagi na niewielką liczbę randomizowanych badań kontrolowanych algorytmy terapeutyczne są najczęściej opracowywane w oparciu o opisy serii przypadków, badania retrospektywne i opinie eksperckie. Ponadto, ciężki do przewidzenia przebieg naturalnej historii choroby utrudnia ustalenie prawidłowego okresu leczenia. Niestety odpowiedź na terapię jest często niecałkowita oraz występuje wyłącznie u części pacjentów. Dodatkowo, klinicyści często nie dysponują odpowiednimi narzędziami do monitorowania progresji lub remisji schorzenia. Dokumentacja fotograficzna, automatyczne systemy zliczające włosy w obszarach objętych procesem chorobowym oraz formularze aktywności choroby mogą pomóc w monitorowaniu postępów choroby i modyfikacji leczenia (Bolduc i wsp. 2016).

W dwóch największych jak do tej pory badaniach retrospektywnych (Whiting 2001, Tan i wsp. 2004) autorzy opisują stosowanie hydroksychlorochiny z dobrym efektem w łysieniu bliznowaciejącym. Prezentowana praca jest natomiast pierwszym badaniem, w którym oceniono skuteczność HCQ w grupie wszystkich pacjentów z PCA z naciekiem limfocytarnym. Blisko połowa pacjentów (48%, 31/65) uzyskała częściową lub całkowitą odpowiedź na leczenie wyrażającą się zahamowaniem progresji choroby oraz redukcją objawów subiektywnych takich jak: świąd, uczucie pieczenia i bólu.

W prezentowanym badaniu skuteczność terapii hydroksychlorochiną była największa w grupie pacjentów z DLE (67%, 12/18), ale wynik nie był istotny statystycznie. Według większości danych literaturowych toczень rumieniowaty krążkowy dobrze odpowiada na terapię (Bolduc i wsp. 2016). Wahie i wsp. podają natomiast, że rozsiana postać DLE, a także współwystępowanie układowej postaci tocznia rumieniowatego wiążą się z gorszą odpowiedzią na leczenie HCQ (Wahie i wsp. 2011).

U pacjentów z DLE leki przeciwmalaryczne stanowią systemową terapię z wyboru, a efekty terapii należy oceniać po co najmniej trzech i sześciu miesiącach (Bolduc i wsp. 2016). W jednym z niewielu badań randomizowanych z metodą podwójnie ślepej próby poprawę stanu miejscowego u pacjentów ze skórnią postacią tocznia zaobserwowano u połowy pacjentów leczonych HCQ (15/30) w porównaniu do 46 % przyjmujących acytretynę (13/28) (Ruzicka i wsp. 1992). Pochodna witaminy A powodowała jednak istotnie więcej działań niepożądanych. Ograniczeniem badania była zbyt wczesna ocena efektów terapii (8 tygodni). Chang i wsp. w prospektywnym badaniu kohortowym stwierdzili remisję DLE w trakcie monoterapii hydroksychlorochiną u około połowy pacjentów (55%, 6/11), a także u 67 % (10/15) chorych stosujących terapię skojarzoną z dwóch leków przeciwmalarycznych



(hydroksychlorochina i chinakryna) (Chang i wsp. 2011). Podobne wnioski sformułowali Wahie i Meggit na podstawie wyników wielośrodkowego retrospektywnego badania kohortowego. Badacze wykazali, że ponad połowa pacjentów z DLE (60% 120/200) odniosła korzyści z leczenia hydroksychlorochiną, ale u co piątej osoby nastąpił nawrót choroby po dwóch latach nieprzerwanego stosowania terapii. W takiej sytuacji należy rozważyć dołączenie drugiego leku antymalarycznego. Terapia skojarzona hydroksychlorochiną i chinakryną powodowała zahamowanie progresji choroby u większości pacjentów (15/23) bez poprawy klinicznej w trakcie monoterapii HCQ (Wahie i Meggitt 2013). Większa skuteczność terapii łączonej jest najprawdopodobniej związana z wyższym stężeniem leku w surowicy krwi żyłnej, co wykazali Frances i wsp. w grupie 300 pacjentów ze skórnią postacią tocznia rumieniowatego (Francès i wsp. 2012). Z uwagi na fakt, że średnie surowicze stężenie hydroksychlorochiny było istotnie wyższe w grupie chorych z dobrą odpowiedzią kliniczną w porównaniu do pacjentów nieodpowiadających na leczenie, badacze podkreślają istotność tego pomiaru w celu ewentualnego zwiększenia dawki leku. W 2016 roku grupa francuskich naukowców zbadała przypadki opornego na leczenie skórniego tocznia rumieniowatego z niskim surowiczym stężeniem HCQ (<750 ng/mL) (Chasset i wsp. 2016). Po zwiększeniu dawki HCQ (maksymalnie do 800 mg/dzień) u wysokiego odsetka pacjentów (81%, 26/32) zaobserwowano poprawę stanu miejscowego. Ze względu na ryzyko retinopatii, w chwili uzyskania remisji zmniejszono dawkę HCQ (do 400 mg/dzień), co w większości przypadków (83%, 15/18) nie spowodowało nawrotu choroby.

Z piśmiennictwa wynika, że terapia hydroksychlorochiną może nie tylko zahamować progresję choroby w przebiegu DLE, ale również spowodować wycofanie się objawów chorobowych (Igari i Yamamoto 2018). Hamilton i wsp. udokumentowali prawie całkowity odrost włosów u pacjenta z niedawno rozpoznanym DLE po wprowadzeniu terapii skojarzonej z zastosowaniem hydroksychlorochiny (Hamilton i wsp. 2009). Podobny rezultat terapeutyczny, ale w serii przypadków wieloletniego DLE, zaobserwowali Milam i wsp (Milam i wsp. 2015). Systemowe leczenie hydroksychlorochiną w połączeniu z miejscową aplikacją 0,3% roztworu takrolimusu spowodowało całkowity odrost włosów po kilku miesiącach u trzech pacjentów z DLE.

W prezentowanym badaniu co trzeci pacjent z liszajem płaskim mieszkowym i łysieniem czołowym bliznowaciejącym odniósł korzyści z terapii hydroksychlorochiną (33,3% 11/33). Rozpatrując obie jednostki osobno, u blisko połowy osób z FFA (47% 7/15) i tylko u co piątego pacjenta z LPP (4/18) zaobserwowano remisję choroby w trakcie leczenia.

Dane z piśmiennictwa nie są zgodne co do skuteczności hydroksychlorochiny w leczeniu LPP. Autorzy badań podają, że leki przeciwmalaryczne powodują poprawę stanu miejscowego w przebiegu LPP u od 0 do nawet 86 procent badanych (Naeini i wsp. 2017, Mehregan i wsp. 1992, Spencer i wsp. 2009, Chiang i wsp. 2010, Donati i wsp. 2011, Lyakhovitsky i wsp. 2015, Dhonncha i wsp. 2017). Rozbieżności w wynikach badań mogą wynikać z różnic dotyczących rodzaju badania (retrospektywne/prospektywne/randomizowane), długości terapii, dawkowania HCQ, a także sposobu analizy danych oraz oceniania efektów terapii.

W retrospektywnym badaniu serii przypadków LPP odsetek satysfakcjonującej odpowiedzi klinicznej na terapię HCQ był najbardziej zbliżony do wyników prezentowanego badania i wynosił 22 % (2/9) (Mehregan i wsp. 1992). W jedynym jak do tej pory badaniu z randomizacją Naeini i wsp. w grupie 29 pacjentów z LPP wykazali większą skuteczność metotreksatu w porównaniu do hydroksychlorochiny, jednak ta ostatnia znacząco wpływała na zmniejszenie zapalenia w przebiegu PCA (Naeini i wsp. 2017).

W 2010 roku Chiang i wsp. opisali autorski system pomiaru efektów terapii LPP i FFA pod nazwą Indeksu Aktywności Liszaja Płaskomieszkowego (ang. Lichen planopilaris Activity Index – LPPAI) (Chiang i wsp. 2010). LPPAI został opracowany w oparciu o ocenę skuteczności leczenia HCQ. W wystandaryzowanym formularzu autorzy uwzględnili obecność objawów subiektywnych (świąd, ból, pieczenie), oznak (ang. signs) choroby (m.in. okołomieszkowy rumień i złuszczenie) oraz ocenę aktywności LPP za pomocą testu lekkiego pociągania oraz powiększania się ognisk wyłysiałych. Wszystkim cechom przyporządkowano wartość numeryczną. Redukcja wyniku LPPAI o co najmniej 85% oznaczała całkowitą remisję choroby, a pomiędzy 25-85% częściową odpowiedź na leczenie. Po sześciu miesiącach leczenia HCQ u żadnego pacjenta z LPP nie zanotowano całkowitej remisji choroby, ale większość badanych (70% 19/27) odniosła korzyści z leczenia. Po roku od wprowadzenia terapii u bardzo wysokiego odsetka osób (86% 25/29) zanotowano całkowitą (14%) oraz częściową (72%) poprawę stanu miejscowego, co potwierdza konieczność długotrwałego stosowania HCQ przed ewentualną zmianą leczenia systemowego z powodu braku efektu terapeutycznego. Rok po publikacji pracy Chianga i wsp. LPPAI został poddany krytyce przez Donatego i wsp., którzy opisali mniej satysfakcjonujące efekty terapii HCQ w grupie pacjentów z LPP (Donati i wsp. 2011). Autorzy badania zwrócili uwagę na fakt, że ocena objawów podmiotowych oraz oznak LPP jest pomiarem subiektywnym, zależnym od opinii pacjenta i oceniającego eksperta. Jako obiektywną miarę progresji lub remisji choroby badacze zaproponowali liczenie włosów w obszarze objętym procesem chorobowym. W swojej

pracy Donati i wsp. opisali osiem przypadków pacjentów ze zweryfikowanym histopatologicznie LPP (8/11), u których, pomimo sześciomiesięcznej terapii HCQ, nastąpiła progresja choroby wyrażająca się zarówno powiększaniem ognisk wyłysienia jak i zmniejszoną liczbą włosów w obrębie aktywnych zmian skórnych (Donati i wsp. 2011). Co więcej, u pozostałych trzech pacjentów również odnotowano redukcję liczby włosów pomimo pozornej poprawy stanu miejscowego w badaniu klinicznym. Automatyczne systemy mapujące skórę skalpu celem zliczenia włosów są jednak trudno dostępne.

Ze względu na brak wystandaryzowanego formularza oceny aktywności PCA w przebiegu innych chorób niż LPP, a także niedostateczne informacje o niektórych składowych formularza LPPAI w opisach konsultacji, autorka prezentowanej pracy zdecydowała się na samodzielny pomiar efektów terapii w oparciu o dostępne zapisy każdorazowej wizyty pacjentów z PCA.

Interpretacja danych na temat skuteczności opcji terapeutycznych dla pacjentów z FFA jest trudna ze względu na niedostateczną liczbę badań randomizowanych, braku jednolitych protokołów leczenia oraz ujednoliconego systemu oceny efektów terapii. Ponadto, w wielu badaniach stosowano politerapię, co dodatkowo utrudnia analizę skuteczności poszczególnych leków. Terapia skojarzona wydaje się więc być złotym standardem leczenia FFA (To i Beecker 2018). W prezentowanej pracy HCQ była jedynym lekiem systemowym przyjmowanym przez grupę badaną, ale większość pacjentów stosowała dodatkowo miejscowe preparaty z glikokortykosteroidami.

W doniesieniach literaturowych odsetek pacjentów, u których systemowa monoterapia lekami antymalarycznymi prowadziła do zatrzymania progresji FFA jest wyższy niż w prezentowanej pracy i waha się od 50 do 74 % (Vaño-Galván i wsp. 2014, Ladizinski i wsp. 2013, Samrao i wsp. 2010). Wśród wymienionych badań tylko Samrao i wsp. do oceny efektów terapii HCQ wykorzystali LPPAI oraz stwierdzili redukcję zmian skórnych i objawów podmiotowych u 73 % (11/15) pacjentów. Podobną skuteczność monoterapii HCQ (74%, 40/54) odnotowali Vano-Galvan i wsp. w największym jak do tej pory wieloośrodkowym retrospektywnym badaniu kohortowym (Vaño-Galván i wsp. 2014). Odpowiedź na leczenie była oceniana w skali 3-stopniowej jako: pogorszenie, stabilizacja lub poprawa stanu miejscowego na podstawie dokumentacji fotograficznej w odstępie rocznym. Częściowy odrost włosów zaobserwowano u 15 % (8/54) pacjentów, a stabilizację choroby u ponad połowy z nich (59%, 32/54). Co ciekawe, w omawianym badaniu zahamowanie progresji FFA stwierdzono u wszystkich pacjentów (120/120) przyjmujących leki z grupy inhibitorów 5-alfa

reduktazy (finasteryd, dutasteryd), co może świadczyć o wadliwości systemu oceny efektów terapii.

Pomimo leczenia HCQ u części pacjentów dochodzi do progresji zmian skórnych i powiększania się obszaru utraty włosów. Niepowodzenia terapeutyczne są często przedstawiane na przykładzie przypadków klinicznych. Heppt i wsp. opisali przypadek pacjenta, u którego pomimo codziennego przyjmowania HCQ po 13 miesiącach terapii linia włosów przesunęła się o 0,7 cm (Heppt i wsp. 2018) Cranwell i Sinclair udokumentowali stopniową progresję zmian skórnych w przebiegu FFA u pacjentki stosującej HCQ, u której nastąpiło zagęszczenie włosów w okolicy czołowo-skroniowej dopiero po zaprzestaniu stosowania kremów z filtrem przeciwsłonecznym (Cranwell i Sinclair 2019).

W prezentowanej pracy odnotowano zaskakująco wysoki odsetek odpowiedzi klinicznej w trakcie terapii HCQ (64%, 7/11) w grupie pacjentów z niespecyficznym łysieniem bliznowaciejącym stanowiącym prawdopodobnie końcowy etap rozwoju różnych chorób z grupy PCA. W doniesieniach naukowych niewiele uwagi poświęca się terapii tej jednostki chorobowej. Whiting podaje, że zarówno leczenie miejscowe jak i systemowe często okazują się nieskuteczne (Whiting 2001). Ze względu na bardzo wolną progresję choroby, inni autorzy zalecają odstawienie leczenia systemowego oraz obserwację pacjentów (Villablanca i wsp. 2017). Prezentowany wynik może być zawyżony ze względu na fakt, że niezależnie od wdrożonego leczenia ogólnego, niespecyficzne łysienie bliznowaciejące często przebiega w sposób stacjonarny. Znajomość naturalnej historii choroby jest ważna w celu uniknięcia niepotrzebnej terapii systemowej. Z drugiej strony, w literaturze opisywane są przypadki szybkiej progresji choroby doprowadzającej w ciągu kilku miesięcy do całkowitej utraty włosów na głowie (Villablanca i wsp. 2017).

Hydroksychlorochina okazała się nieskuteczna u pacjenta z mucynozą mieszkową. W grupie dwóch pacjentów z łysieniem rzekomo bliznowaciejącym Brocq skuteczność leczenia HCQ wyniosła 50 procent. Podobnie jak w przypadku niespecyficznego łysienia bliznowaciejącego, doniesienia literaturowe na temat skuteczności terapii PPB są nieliczne. Niektórzy autorzy podają, że przebieg PPB jest samoograniczający i dochodzi do spontanicznego zahamowania progresji choroby (Diwan i wsp. 2014). Leczenie systemowe jest często nieskuteczne, co potwierdza praca Madani i wsp., w której autorzy opisali przypadek pacjenta, u którego w trakcie sześciomiesięcznej terapii HCQ pojawiły się dwa nowe ogniska wyłysienia (Madani i wsp. 2000).

Konkludując, skuteczność leczenia hydroksychlorochiną była największa w grupie pacjentów z DLE, ale wynik nie był istotny statystycznie. Remisja choroby w trakcie terapii została stwierdzona u co drugiej osoby z FFA i tylko co piątej z LPP. Wysoki odsetek odpowiedzi klinicznej na HCQ wśród osób z niespecyficznym łysieniem bliznowaciejącym może mieć związek z powolnym naturalnym przebiegiem choroby.

### ***5.3. Omówienie wyników ekspresji komórek dendrytycznych w poszczególnych jednostkach PCA z naciekiem limfocytarnym.***

Głównym kryterium klasyfikacji PCA jest rodzaj nacieku zapalnego (Olsen i wsp. 2003), a diagnostyka różnicowa chorób powodujących pierwotne łysienie bliznowaciejące z naciekiem limfocytarnym opiera się na ocenie cech klinicznych oraz mikroskopowych. Nierzadko, wyniki badania przedmiotowego oraz histopatologicznego nie są rozstrzygające, dlatego postawienie prawidłowego rozpoznania stanowi duże wyzwanie diagnostyczne. W doniesieniach naukowych jest wiele opisów przypadków początkowo błędnie sklasyfikowanych (Nambudiri i wsp. 2014, Donati i wsp. 2011, Kushner i wsp. 2019). Skoro badanie histopatologiczne jest regularnie przeprowadzane w przypadku podejrzenia łysienia bliznowaciejącego, to wykonanie dodatkowych badań immunohistochemicznych celem dokładniejszego opisu komórek nacieku zapalnego mogłoby ułatwić diagnostykę różnicową PCA. Poza dotychczas poznanymi cechami histopatologicznymi, ocena ekspresji subpopulacji komórek dendrytycznych ma szansę stanowić kolejne kryterium klasyfikacyjne, co częściowo odnajduje potwierdzenie w najnowszych doniesieniach naukowych (Fening i wsp. 2016).

Właściwe rozpoznanie choroby jest kluczowe, gdyż dostarcza informacji o jej naturalnym przebiegu, aktywności, rokowaniu, chorobach współistniejących, czy ewentualnej progresji systemowej oraz ze względu na implikacje terapeutyczne.

- **Plazmacytoidalne komórki dendrytyczne**

Plazmacytoidalne komórki dendrytyczne wywodzą się z prekursorów limfoidalnych oraz uczestniczą w indukowaniu odporności wrodzonej (Collin i Bigley 2018). Główną rolą plazmacytoidalnych komórek dendrytycznych jest produkcja interferonu typu I (I IFN). pDCs wydzielają aż do 1000 razy więcej interferonów alfa i beta niż inne komórki organizmu (Charles i wsp. 2010).

pDCs najprawdopodobniej biorą udział w patogenezie łysienia plackowatego (alopecia areata – AA), za czym przemawia fakt, że terapia interferonem alfa może doprowadzić do pojawienia się nowych ognisk w przebiegu AA (Agesta i wsp. 2002). Rahal i wsp. sugerują, że pDCs uczestniczą we wczesnej fazie rozwoju AA poprzez wzmacnianie odpowiedzi komórkowej mediowanej przez limfocyty Th1, limfocyty T cytotoksyczne oraz komórki NK (Rahal i wsp. 2016). Harries i wsp. jako pierwsi wykazali, że zaburzenie tzw. przywileju immunologicznego ma miejsce nie tylko w łysieniu plackowatym, ale również w łysieniu bliznowaciejącym (Harries i wsp. 2013). Autorzy pracy podali, że w LPP naciek zapalny w obrębie wybrzuszenia oraz lejka był zdominowany przez limfocyty T cytotoksyczne oraz plazmacytoidalne komórki dendrytyczne. Nadprodukcja interferonu gamma przez pDCs w odpowiedzi na dotychczas nieznane czynniki miała wpływ na nabłonkowe komórki macierzyste mieszka włosowego, które wykazywały zwiększoną aktywność proliferacyjną równocześnie ze zwiększoną apoptozą.

W prezentowanym badaniu liczba plazmacytoidalnych komórek dendrytycznych w biopsjach tkankowych była istotnie wyższa w grupie pacjentów z DLE w porównaniu do osób z LLP i FFA. Oceniono nie tylko liczbę, ale i dystrybucję pDCs. W przypadku DLE naciek pDCs lokalizował się głównie okołomieszkowo, ale niewielką liczbę komórek uwidoczono również w skórze właściwej. pDCs nie tworzyły skupisk w skórze właściwej, nie były również rozmieszczone w obrębie połączenia skórno-naskórkowego. W biopsjach pacjentów z LPP komórki CD123 dodatkowo były nieliczne oraz nie tworzyły żadnego wzorca dystrybucji.

Już we wcześniejszych doniesieniach naukowych wykazano przydatność immunohistochemicznego oznaczania receptora CD123, który jest markerem pDCs, w celu ułatwienia rozpoznania tocznia rumieniowatego skórno-od innych dermatoz zapalnych i nowotworów skóry (Walsh i wsp. 2015, Tomasini i wsp. 2010, Brown i wsp. 2014). Prezentowane wyniki częściowo potwierdzają wcześniejsze obserwacje innych autorów (Sleiman i wsp. 2015, Fening i wsp. 2016). Sleiman i wsp. określili, za pomocą barwienia immunohistochemicznego BDCA-2, liczebność i dystrybucję plazmacytoidalnych komórek dendrytycznych w grupie 47 pacjentów z toczniem rumieniowatym krążkowym i liszajem płaskim mieszkowym (Sleiman i wsp. 2015). Autorzy podają, że liczba pDCs była istotnie większa w DLE w porównaniu z LPP. Ponadto, w odróżnieniu od LPP, w DLE plazmacytoidalne komórki dendrytyczne były rozmieszczone w obrębie połączenia skórno-naskórkowego oraz głębokiego splotu naczyniowego, a także tworzyły skupiska złożone z co

najmniej 10 komórek. W badaniu określono również aktywność pDCs za pomocą barwienia MxA, markera lokalnej produkcji interferonu typu I. W łysieniu związanym z DLE stwierdzono rozlaną dystrybucję MxA w porównaniu z ogniskową ekspresją w przypadku LPP i FFA. Do bardzo zbliżonych wniosków doszli Fening i wsp. oznaczając cząsteczkę CD123 (Fening i wsp. 2016). Według autorów patognomicznymi cechami dla DLE są: wysoki odsetek pDCs wśród wszystkich komórek nacieku zapalnego (>20%) oraz obecność skupisk powyżej 20 pDCs. W prezentowanej pracy w grupie pacjentów z DLE nie zaobserwowano grup komórkowych składających się z tak licznych pDCs, natomiast potwierdzono ich tendencję do lokalizacji okołomieszkowej.

W patogenezie toczenia rumieniowatego coraz częściej podkreśla się rolę interferonu alfa, który powoduje wiele dysfunkcji immunologicznych (Sacre i wsp. 2012, Crow 2014). IFN $\alpha$  promuje dojrzewanie monocytów, wpływa na obumieranie keratynocytów i upośledza apoptozę limfocytów T. (Eloranta i wsp. 2013). Ponadto, IFN $\alpha$  zwiększa produkcję przeciwciał przez autoreaktywne limfocyty B, co prowadzi do odkładania się kompleksów immunologicznych z aktywacją układu dopełniacza (Crow 2014). Ostatnio dowiedziono, że IFN I hamuje również metaloproteinazę powierzchniową ADAM17 w komórkach Langerhansa, co w konsekwencji doprowadza do szybszej apoptozy keratynocytów indukowanej promieniowaniem UVB (Rönnblom i Leonard 2019).

Konkludując, oznaczanie pDCs za pomocą markera CD123 jest przydatne w diagnostyce łysienia bliznowaciejącego w przebiegu toczenia rumieniowatego krążkowego szczególnie, gdy obraz kliniczny i mikroskopowy nie są rozstrzygające. Wyniki prezentowej pracy mają również implikacje terapeutyczne. TNF- $\alpha$  hamuje aktywność plazmacytoidalnych komórek dendrytycznych (Palucka i wsp. 2005), a zatem leki z grupy inhibitorów TNF- $\alpha$  mogą powodować nadmierną produkcję interferonu typu I, co w konsekwencji prowadzi do nasilenia objawów w przebiegu chorób indukowanych przez pDCs (Kirshen i Kanigsberg 2009)(Levine i wsp. 2010).

- Konwencjonalne komórki dendrytyczne

Poza różnicą w liczbie pDCs, w prezentowanej pracy zaobserwowano również istotnie więcej konwencjonalnych komórek dendrytycznych cDC2 w grupie badanych z DLE w porównaniu do LPP i FFA. Naciek cDC2 był większy od pDCs i w obu przypadkach lokalizował się głównie w obrębie blizny (okołomieszkowo) oraz w skórze właściwej. Jest to pierwsza praca, w której badano liczebność oraz dystrybucję konwencjonalnych komórek dendrytycznych w łysieniu bliznowaciejącym.

Wyniki prezentowanego badania odnajdują potwierdzenie w pracy Mendez-Reguera i wsp., w której analizowano fenotyp konwencjonalnych komórek dendrytycznych w grupie 42 pacjentów z toczniem rumieniowatym krążkowym (Méndez-Reguera i wsp. 2013). Autorzy wykazali zwiększoną obecność cDCs produkujących cytokiny prozapalne (TNF- $\alpha$ , iNOS) w skórze objętej procesem chorobowym w przebiegu DLE w porównaniu do grupy kontrolnej. Co więcej, badacze dowiedli, że ekspresja receptora chemokin CCR6 na powierzchni cDCs koreluje z aktywnością choroby.

Konwencjonalne komórki dendrytyczne cDC2 stanowią główną populację DCs pochodzenia mieloidalnego. Wyposażone w wiele różnych receptorów rozpoznających wzorce, cDCs mają zdolność stymulowania natywnych limfocytów T w odpowiedzi na antygeny zewnątrzpochodne (Collin i Bigley 2018). Dotychczas nie badano funkcji konwencjonalnych komórek dendrytycznych w łysieniu bliznowaciejącym i niebliznowaciejącym. Obecność zwiększonego nacieku cDCs w toczniu rumieniowym krążkowym można próbować wyjaśnić odwołując się do roli komórek dendrytycznych w patogenezie tocznia rumieniowatego układowego (ang. systemic lupus erythematosus – SLE). W przebiegu SLE kluczowe znaczenia ma zaburzony proces apoptozy oraz klirensu apoptotycznego, co w konsekwencji doprowadza do utraty tolerancji wobec własnych antygenów (Klarquist i wsp. 2016). Endogenne składniki, takie jak autoantygeny jądrowe, czy nukleosomy mogą zostać rozpoznane przez receptory żetonowe (TLRs) obecne wewnątrz cDC2, które następnie stymulują komórki Th17 o działaniu prozapalnym (Klarquist i wsp. 2016).

- Komórki Langerhansa

Komórki Langerhansa są komórkami dendrytycznymi pochodzenia szpikowego, których największa liczba występuje w warstwie podstawnej i kolczystej naskórka (Collin i Bigley 2018). LCs uczestniczą w zainicjowaniu odpowiedzi immunologicznej poprzez prezentację egzogennych antygenów limfocytom T. Moresi i Horn opisali wzorzec dystrybucji komórek Langerhansa w obrębie mieszków włosowych w zdrowej skórze (Moresi i Horn 1997). Badacze wykazali dużą koncentrację komórek CD1a dodatnich w okolicy lejka, wybrzuszenia oraz nabłonka gruczołów łojowych z oszczędzeniem dolnej części mieszka włosowego zawierającej opuszkę. Obecność komórek Langerhansa w lokalizacji typowego nacieku limfocytarnego w przebiegu łysienia bliznowaciejącego może świadczyć o ich roli w patogenezie PCA. Do podobnych wniosków doszli autorzy badania, w którym wykazano istotnie większy naciek z LCs w biopsjach tkankowych pacjentów z łysieniem płaskim mieszkowym w porównaniu do łysienia z pociągania (Hutchens i wsp. 2011). Łysienie z



pociągania może doprowadzić do wtórnego łysienia bliznowaciejącego, natomiast w odróżnieniu od LPP, w patomechanizmie włóknienia nie stwierdza się podłoża immunologicznego.

W prezentowanym badaniu nie zaobserwowano istotnych różnic w całkowitej liczbie komórek Langerhansa pomiędzy LPP i DLE. W obu przypadkach LCs były rozmieszczone w obrębie naskórka, ale w DLE stwierdzono zwiększoną obecność komórek Langerhansa również w obrębie mieszków włosowych.

Doniesienia naukowe na temat LCs w różnych typach chorób z grupy PCA są nieliczne. Prezentowane wyniki są częściowo niezgodne z obserwacjami innych autorów, którzy porównywali cechy immunohistochemiczne LPP i DLE (Lee i wsp. 1996, Nasiri i wsp. 2018). Lee i wsp. stwierdzili istotnie więcej komórek Langerhansa w naskórku i skórze właściwej w przypadku liszaja płaskiego w porównaniu do tocznia rumieniowatego krążkowego (Lee i wsp. 1996). Nasiri i wsp. jako pierwsi porównali liczbę oraz dystrybucję komórek CD1a dodatnich w skórze objętej procesem chorobowym w przebiegu liszaja płaskiego mieszkowego oraz DLE (Nasiri i wsp. 2018). Badacze podają, że w LPP naciek z komórek Langerhansa był zlokalizowany głównie w obrębie naskórka, natomiast w DLE w obszarze okołomieszkowym. Inni autorzy stwierdzili brak komórek Langerhansa w obszarze blizny powstałej w przebiegu LPP (Kinoshita i wsp. 2019). W prezentowanym badaniu LCs wykazywały tendencję do lokalizacji naskórkowej, a w DLE komórki Langerhansa były również obecne wewnątrz mieszków włosowych.

- Komórki dendrytyczne pochodzenia monocytarnego

Do tej pory jest to pierwsza praca, w której analizowano moDCs w skórnych wycinkach tkankowych u pacjentów z łysieniem bliznowaciejącym. W prezentowanym badaniu również naciek komórek zapalnych złożony z moDCs był większy w biopsjach skórnych pacjentów z DLE względem LPP. W obu jednostkach komórki CD206+ lokalizowały się w obszarze okołomieszkowym oraz w obrębie skóry właściwej. W toczniu rumieniowatym krążkowym stwierdzono zdecydowanie większy naciek moDCs w skórze właściwej w porównaniu do LPP. Zastosowanie receptora mannozowego CD206 w badaniu immunohistochemicznym pozwoliło na odróżnienie komórek dendrytycznych pochodzenia monocytarnego od LCs, z którymi moDCs dzielą wiele molekularnych podobieństw (Collin i Bigley 2018).

W warunkach fizjologicznych obserwuje się niewielką ilość moDCs rezydujących w skórze (McGovern i wsp. 2014), natomiast w trakcie stanu zapalnego ich liczba wzrasta wielokrotnie (Collin i Bigley 2018). Populacja komórek dendrytycznych pochodzenia monocytarnego jest

zróznicowana zarówno funkcjonalnie jak i fenotypowo (Klarquist i wsp. 2016). Hansel i wsp. jako pierwsi stwierdzili naciek zapalny złożony z moDCs w biopsjach skórnych pacjentów ze skórą postacią tocznia rumieniowatego (Hänsel i wsp. 2013). Autorzy pracy badali komórki dendrytyczne wykazujące wysoką ekspresję MHC II, CD16 oraz markera powierzchniowego SLAN (6-sulfo LacNAc). Tzw. komórki dendrytyczne SLAN wykazywały zdolność produkcji wielu cytokin prozapalnych (IL-12, IL-23, TNF- $\alpha$ ) oraz promowały różnicowanie limfocytów T w kierunku Th1 i Th17. Autorzy badania podkreślają, że poprzez produkcję IL-23 oraz aktywację patogennych limfocytów Th17, moDCs odgrywają ważną rolę w immunopatogenezie tocznia rumieniowatego.

Podsumowując, w biopsjach skórnych pacjentów z DLE stwierdzono istotnie większą liczbę plazmacytoidalnych i konwencjonalnych DCs, a także komórek dendrytycznych pochodzenia monocytarnego względem osób z LPP. Ponadto, w DLE naciek komórek CD123+ był istotnie większy w okolicy okołomieszkowej, a w przypadku komórek CD206+ w skórze właściwej. Wzorec dystrybucji komórek CD11c+ w obu chorobach był podobny. Nie odnotowano istotnych różnic w całkowitej liczbie komórek Langerhansa, ale w DLE w porównaniu do LPP stwierdzono ich zwiększoną obecność w obrębie mieszków włosowych.

#### ***5.4. Omówienie wyników ekspresji komórek dendrytycznych u pacjentów odpowiadających oraz nieodpowiadających na terapię hydroksychlorochiną.***

Hydroksychlorochina często stanowi leczenie systemowe z wyboru dla pacjentów z łysieniem bliznowaciejącym (Filbrandt i wsp. 2013). Z wyników prezentowanego badania, a także z obserwacji innych autorów (Chang i wsp. 2011, Chiang i wsp. 2010, Wahie i Meggitt 2013), wynika, że nie wszyscy pacjenci odnoszą jednakowe korzyści z leczenia. Dotychczas nie opublikowano badań dotyczących czynników mogących wpływać na odpowiedź kliniczną w trakcie terapii HCQ u chorych na PCA. Jak do tej pory jest to pierwsze badanie, w którym podjęto próbę odpowiedzi na pytanie, czy obecność komórek dendrytycznych może być biomarkerem odpowiedzi na terapię lekami przeciwmalarycznymi u pacjentów z łysieniem bliznowaciejącym.

W prezentowanym badaniu w biopsjach skórnych pacjentów odpowiadających na leczenie w porównaniu do grupy osób bez poprawy klinicznej stwierdzono istotnie większą

ekspresję plazmacytoidalnych i konwencjonalnych komórek dendrytycznych, a także komórek Langerhansa. W przypadku moDCs różnica pomiędzy grupami była bardzo bliska istotności statystycznej ( $p=0,059$ ). Ponadto, na bazie analizy krzywej ROC, wykazano, że wartości dotyczące nacieku złożonego z plazmacytoidalnych komórek dendrytycznych mogą być brane pod uwagę jako marker odpowiedzi na terapię HCQ.

Doniesienia naukowe na temat wpływu HCQ na subpopulacje DCs są nieliczne i ograniczają się do badań nad etiopatogenezą tocznia rumieniowatego układowego.

Woźniacka i wsp. po raz pierwszy zbadali wpływ hydroksychlorochiny na komórki Langerhansa u pacjentów z SLE (Woźniacka i wsp. 2007). Autorzy badania stwierdzili zwiększoną liczbę komórek CD1a<sup>+</sup> w skórze pozornie niezmięnionej u pacjentów z SLE w porównaniu do grupy kontrolnej. Co więcej, po ekspozycji na promieniowanie UVB, zaobserwowano zwiększony i rozlany naciek z komórek Langerhansa w obrębie naskórka w grupie badanych z SLE względem zmniejszonej ekspresji receptora CD1a w grupie kontrolnej. Po zastosowaniu terapii lekiem przeciwmalarycznym odnotowano istotny spadek liczby LCs. Komórki Langerhansa biorą również udział w patogenezie wielopostaciowych osutek świetlnych (ang. Polymorphous light eruptions – PLE) (Kölgen i wsp. 1999). U pacjentów z PLE także stwierdzono zwiększoną liczbę komórek Langerhansa w badaniu immunohistopatologicznym pomimo ekspozycji na promieniowanie UV, które w warunkach fizjologicznych ma działanie immunosupresyjne i indukuje migrację LCs do węzłów chłonnych (Kölgen i wsp. 1999, Kölgen i wsp. 2004). W PLE, podobnie jak w SLE, z powodzeniem stosuje się leki przeciwmalaryczne, co może świadczyć o ich supresyjnym działaniu na populację komórek Langerhansa (Pareek i wsp. 2008). Dokładny mechanizm oddziaływania HCQ na LCs jest dotychczas słabo poznany, ale na przykładzie danych literaturowych oraz wyników prezentowanego badania można się zastanowić nad wyborem terapii lekami przeciwmalarycznymi w przypadku chorób dermatologicznych ze zwiększonym naciekiem z komórek Langerhansa w badaniu mikroskopowym.

Według doniesień literaturowych HCQ upośledza również aktywność pDCs, które stanowią główne źródło interferonów typu I (Means i wsp. 2005, Sacre i wsp. 2012, Gardet i wsp. 2019). W warunkach *in vitro* wykazano, że po stymulacji agonistą TLR-9 HCQ hamuje produkcję IFN $\alpha$  przez pDCs (Means i wsp. 2005). Podobne wyniki, ale w warunkach *in vivo*, opisali Sacre i wsp., którzy stwierdzili upośledzoną zdolność pDCs do produkcji kluczowych cytokin prozapalnych (IFN $\alpha$ , TNF $\alpha$ ) po zastosowaniu terapii HCQ w grupie badanych z SLE (Sacre i wsp. 2012). Produkcja interferonu typu I jest warunkowana aktywacją pDCs poprzez

receptory Toll-podobne. HCQ upośledza przekazywanie sygnału wewnątrz pDCs szczególnie za pośrednictwem TLR-9, w mniejszym stopniu TLR-7 i 8 (Gardet i wsp. 2019). HCQ, która jest substancją o charakterze zasadowym, neutralizuje pH w pęcherzykach endosomalnych, w których transportowane są receptory żetonowe. Autorzy badania sugerują, że prawidłowe funkcjonowanie TLR-9 jest w większym stopniu zależne od zmian pH w porównaniu z innymi receptorami Toll-podobnymi, co może tłumaczyć skuteczniejszą supresję tego receptora przez HCQ.

Jak dotąd jedynym doniesieniem naukowym, w którym autorzy badali komórki dendrytyczne i wydzielane przez nie cytokiny w kontekście opracowania modelu predykcyjnego odpowiedzi na terapię HCQ, jest praca Zeidi i wsp. w grupie pacjentów z toczniem rumieniowatym skórny (Zeidi i wsp. 2019). Autorzy badania wykazali, że zwiększona liczba mieloidalnych komórek dendrytycznych oraz zwiększona ekspresja TNF- $\alpha$  w skórze objętej procesem chorobowym są związane ze słabszą odpowiedzią kliniczną na HCQ i koniecznością wprowadzenia drugiego leku antymalarycznego (chinakryna).

Spostrzeżenia Zeidi i wsp. są sprzeczne z wynikami prezentowanej pracy, w której wykazano, że średnia liczba mieloidalnych komórek dendrytycznych cDC2 była istotnie wyższa w grupie odpowiadającej na leczenie HCQ względem grupy z progresją choroby. Celem oceny mieloidalnych komórek dendrytycznych w obu badaniach zastosowano barwienie immunohistochemiczne wobec CD11c. Różnice w wynikach mogą być efektem przyjętych założeń metodologicznych takich jak kryteria podziału do grup oraz czas, po którym oceniano efekty leczenia. W badaniu Zeidi i wsp. nie wyodrębniono grupy pacjentów z progresją choroby w trakcie terapii, a grupa badana została podzielona na osoby odpowiadające na monoterapię HCQ oraz na terapię skojarzoną z dwóch leków przeciwmalarycznych (ale nie na monoterapię HCQ). Ponadto, efekty leczenia HCQ oceniano bardzo szybko (już po 2 miesiącach od rozpoczęcia terapii) pomimo że, aby uzyskać maksymalne działanie leku konieczne jest kilkumiesięczne leczenie (Kalia i Dutz 2007). Zeidi i wsp. wykazali również zwiększoną obecność wzorców ekspresji genów (tzw. sygnatur genowych) interferonów typu I w biopsjach skórnych pacjentów uzyskujących remisję w trakcie monoterapii HCQ. IFN typu I jest wydzielany głównie przez plazmacytoidalne komórki dendrytyczne, a zatem obserwacje autorów są zgodne z wynikami prezentowanego badania, w którym stwierdzono zwiększoną liczbę pDCs w grupie pacjentów odpowiadających na leczenie.

Mechanizm działania hydroksychlorochiny na komórki dendrytyczne nie został w pełni wyjaśniony, ale wydaje się, że jego kluczowym elementem jest blokowanie przekaźnictwa wewnątrzkomórkowych receptorów Toll-podobnych (Kalia i Dutz 2007, Schrezenmeier i

Dörner 2020). 10 receptorów żetonowych można podzielić na zewnątrzkomórkowe oraz wewnątrzkomórkowe. Zewnątrzkomórkowe TLRs rozpoznają elementy komórkowe patogenów, natomiast aktywacja TLR 3, TLR 7/8, TLR 9 (TLRs wewnątrzkomórkowe) zachodzi po przyłączeniu odpowiednio wirusowego dsRNA, ssRNA, a także niemetylowanej sekwencji CpG DNA (Kuznik i wsp. 2011). TLR-7 i TLR-9 zlokalizowane w komórkach dendrytycznych mogą być pobudzane przez kompleksy immunologiczne złożone z peptydów przeciwbakteryjnych oraz niezdegradowanych kwasów nukleinowych (Lande i wsp. 2007). Zwiększona obecność katelicydyny i ludzkiej beta-defenzyny w mieszkcu włosowym (Reithmayer i wsp. 2009) może stanowić argument potwierdzający tę hipotezę. Kompleksy immunologiczne przyłączone do receptorów żetonowych prowadzą do aktywacji limfocytów T na przykład poprzez produkcję IFN typu I przez plazmacytoidalne komórki dendrytyczne (Lövgren i wsp. 2006). Hydroksychlorochina blokuje komórki dendrytyczne na co najmniej dwa sposoby. Leki przeciwmalaryczne posiadają boczny łańcuch alkilowy, który stanowi bezpośrednią blokadę steryczną w interakcji TLRs-ligand (Kuznik i wsp. 2011, Schrezenmeier i Dörner 2020). Ponadto, HCQ podnosi pH w przestrzeniach endosomalnych zawierających wewnątrzkomórkowe TLRs, których funkcjonowanie jest zależne od kwaśnego odczynu środowiska (Ohto i Shimizu 2016).

W prezentowanym badaniu wykazano wyższą skuteczność HCQ u pacjentów z większym naciekiem zapalnym złożonym z komórek dendrytycznych. Ta obserwacja może wynikać z efektywnego blokowania DCs przez leki przeciwmalaryczne. Terapia HCQ jest mniej skuteczna u osób z niższą ekspresją komórek dendrytycznych w badaniu mikroskopowym, co wydaje się logiczne. Skoro HCQ hamuje aktywność DCs, to w przypadku, gdy nie obserwuje się celu biologicznego, ponieważ liczba DCs komórek jest niewielka, lek okazuje się nieskuteczny. Łysienie bliznowaciejące u pacjentów z niską ekspresją DCs w biopsjach skórnych może być efektem innych mechanizmów niezwiązanych z udziałem DCs.

### ***5.5. Podsumowanie i omówienie najważniejszych aspektów uzyskanych wyników badań.***

Pierwotne łysienie bliznowaciejące jest schorzeniem charakteryzującym się złożoną patogenezą, której wiele elementów nie zostało dotychczas wyjaśnionych. Postuluje się, że uszkodzenie mieszków włosowych może być spowodowane aktywacją limfocytów T przez komórki dendrytyczne w odpowiedzi na nieznany antygen, co w konsekwencji prowadzi do utraty przywileju immunologicznego (Harries i Paus 2010). Jedną z kardynalnych cech obrazu histopatologicznego jest naciek komórek zapalnych wokół i wewnątrz mieszków włosowych, a jego typ stanowi główne kryterium klasyfikacji PCA (Olsen i wsp. 2003). Cechy kliniczne i mikroskopowe najczęstszych chorób z grupy PCA, czyli LPP i DLE, często się nakładają, a postawienie prawidłowego rozpoznania może stanowić duże wyzwanie dla dermatologów.

Dostępne do tej pory publikacje dowodziły jedynie, że odsetek plazmacytoidalnych komórek dendrytycznych wśród komórek nacieku zapalnego jest większy w DLE względem pozostałych chorób powodujących łysienie bliznowaciejące (Sleiman i wsp. 2015, Fening i wsp. 2016). W prezentowanej pracy w grupie pacjentów z DLE obserwowano nie tylko nadekspresję komórek CD123+, ale również cDC2 oraz moDCs. Wydaje się zatem, że ocena komórek dendrytycznych może ułatwić diagnostykę różnicową chorób z grupy PCA, szczególnie w przypadkach, gdy obraz kliniczny i mikroskopowy nie jest rozstrzygający.

W prezentowanym badaniu u blisko połowy pacjentów z PCA stwierdzono częściową lub całkowitą poprawę stanu miejscowego w trakcie terapii hydroksychlorochiną (48%, 31/65). HCQ stanowi jedną z ważniejszych opcji leczenia systemowego dla pacjentów z łysieniem bliznowaciejącym (Filbrandt i wsp. 2013). Jak wynika z niniejszej pracy oraz z obserwacji innych autorów (Chang i wsp. 2011, Chiang i wsp. 2010, Wahie i Meggitt 2013), nie wszyscy pacjenci odnoszą jednakowe korzyści z leczenia.

W ostatnich latach nastąpiła zmiana paradygmatu podejścia do medycyny. Obecnie nie tylko w onkologii podkreśla się rolę personalizowanej farmakoterapii, czyli dopasowania leku do pacjenta (Jørgensen 2019). W kontekście medycyny precyzyjnej, postanowiliśmy zbadać komórki nacieku zapalnego, które mogłyby stanowić cel biologiczny działania leku. Dotychczas jedyna praca, w której badano potencjalne biomarkery skuteczności terapii HCQ dotyczyła pacjentów z toczniem rumieniowatym skórny (Zeidi i wsp. 2019).

W prezentowanej pracy po raz pierwszy podjęto próbę zidentyfikowania czynników mogących wpływać na odpowiedź kliniczną w trakcie leczenia HCQ u pacjentów z PCA. Biorąc po uwagę mechanizm działania leku powodujący upośledzenie prezentacji antygeny przez komórki APCs, postanowiliśmy ocenić wartość predykcyjną komórek dendrytycznych jako markera odpowiedzi na terapię. Pomimo, że poprawność wyników badania nie została sprawdzona w innym, niezależnym badaniu kohortowym, to w prezentowanej pracy wykazano, że średnia ekspresja większości subpopulacji komórek dendrytycznych jest istotnie większa w grupie pacjentów z PCA odpowiadających na leczenie HCQ w porównaniu z chorymi nieodpowiadającymi na terapię. Co więcej, na podstawie krzywej ROC wykazano, że zwiększona liczba komórek dendrytycznych (w szczególności plazmacytoidalnych) w badaniu histopatologicznym pacjentów z PCA może stanowić czynnik predykcyjny dobrej odpowiedzi na leczenie hydroksychlorochiną.

Wyniki niniejszej pracy są ważne w celu zindywidualizowania podejścia terapeutycznego oraz wyboru skutecznej metody leczenia. Rola, jaką odgrywają komórki dendrytyczne w patogenezie PCA jest zagadnieniem złożonym i z całą pewnością wymaga dalszych badań uzupełniających.

## 6. WNIOSKI

1. Ocena ekspresji plazmacytoidalnych i mieloidalnych komórek dendrytycznych, a także komórek dendrytycznych pochodzenia monocytarnego w badaniu mikroskopowym jest przydatna w diagnostyce różnicowej pierwotnego łysienia bliznowaciejącego. Wynika to z faktu, że w toczeniu rumieniowatym krążkowym obserwuje się większą liczbę wymienionych komórek w porównaniu do liszaja płaskiego mieszkowego. Ocena komórek dendrytycznych w nacieku zapalnym może zatem stanowić kolejne kryterium klasyfikacyjne pierwotnego łysienia bliznowaciejącego.

2. Ocena komórek dendrytycznych w badaniu histopatologicznym może ułatwić wybór skutecznej i bezpiecznej metody leczenia pacjentów z pierwotnym łysieniem bliznowaciejącym. Ekspresja komórek Langerhansa, plazmacytoidalnych i mieloidalnych komórek dendrytycznych jest większa u pacjentów odpowiadających na leczenie hydroksychlorochiną w porównaniu z chorymi z progresją choroby w trakcie terapii. Ponadto, wartości dotyczące nacieku komórek plazmacytoidalnych mogą być brane pod uwagę jako marker odpowiedzi na terapię HCQ.

3. Komórki dendrytyczne są jednym z celów biologicznych działania hydroksychlorochiny. Dokładny mechanizm oddziaływania leku na komórki dendrytyczne jest dotychczas słabo poznany, ale na przykładzie danych literaturowych oraz wyników prezentowanego badania można się zastanowić nad wyborem terapii lekami przeciwmalarycznymi w przypadku chorób dermatologicznych ze zwiększonym naciekiem z komórek dendrytycznych w badaniu mikroskopowym.



## 7. PIŚMIENNICTWO

1. Abou Rahal J, Kurban M, Kibbi AG i wsp. Plasmacytoid dendritic cells in alopecia areata: Missing link? *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2016;30(1):119-123.
2. Agesta N, Zabala R, Díaz-Pérez JL. Alopecia areata during interferon alpha-2b/ribavirin therapy [2]. *Dermatology.* 2002;205(2-3):300-301.
3. Akinsanya AO, Tschen JA. Follicular Mucinosis: A Case Report. *Cureus.* 2019;11(5)e4746.
4. Al-Bari MAA. Targeting endosomal acidification by chloroquine analogs as a promising strategy for the treatment of emerging viral diseases. *Pharmacol Res Perspect.* 2017;5(1):e00293.
5. Al-Refu K, Edward S, Ingham E, Goodfield M. Expression of hair follicle stem cells detected by cytokeratin 15 stain: implications for pathogenesis of the scarring process in cutaneous lupus erythematosus. *Br J Dermatol.* 2009;160(6):1188-1196.
6. Al-Zaid T, Vanderweil S, Zembowicz A i wsp. Sebaceous gland loss and inflammation in scarring alopecia: a potential role in pathogenesis. *J Am Acad Dermatol.* 2011;65(3):597-603.
7. Alzolibani AA, Kang H, Otberg N i wsp. Pseudopelade of Brocq. *Dermatol Ther.* 2008;21(4):257-263.
8. Amato L, Mei S, Massi D i wsp. Cicatricial alopecia; a dermatopathologic and immunopathologic study of 33 patients (pseudopelade of Brocq is not a specific clinico-pathologic entity). *Int J Dermatol.* 2002;41(1):8-15.
9. Babahosseini H, Tavakolpour S, Mahmoudi H i wsp. Lichen planopilaris: retrospective study on the characteristics and treatment of 291 patients. *J Dermatolog Treat.* 2019;30(6):598-604.
10. Bae YI, Yun S-J, Lee J-B i wsp. A clinical and epidemiological study of lupus erythematosus at a tertiary referral dermatology clinic in Korea. *Lupus.* 2009;18(14):1320-1326.
11. Bains A, Vedant D, Verma A i wsp. Ichthyosis follicularis, alopecia, and photophobia (IFAP) syndrome: A case report and review of cases reported from India. *Indian Dermatol Online J.* 2019;10(6):686.
12. Ben-Zvi I, Kivity S, Langevitz P i wsp. Hydroxychloroquine: From malaria to autoimmunity. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2012;42(2):145-153.
13. Di Blasio S, Wortel IMN, van Bladel DAG i wsp. Human CD1c+ DCs are critical

- cellular mediators of immune responses induced by immunogenic cell death. *Oncoimmunology*. 2016;5(8):e1192739.
14. Bolduc C, Sperling LC, Shapiro J. Primary cicatricial alopecia: Lymphocytic primary cicatricial alopecias, including chronic cutaneous lupus erythematosus, lichen planopilaris, frontal fibrosing alopecia, and Graham-Little syndrome. *J Am Acad Dermatol*. 2016;75(6):1081-1099.
  15. Braun-Falco O, Imai S, Schmoeckel C i wsp. Pseudopelade of Brocq. *Dermatology*. 1986;172(1):18-23.
  16. Brocq L, Lenglet E, Ayrignac J. Recherches sur l'alopecie atrophiante, variete pseudo-pelade. *Ann Dermatol Syphil*. 1905;6:1-32.
  17. Brown TT, Choi EYK, Thomas DG i wsp. Comparative analysis of rosacea and cutaneous lupus erythematosus: histopathologic features, T-cell subsets, and plasmacytoid dendritic cells. *J Am Acad Dermatol*. 2014;71(1):100-107.
  18. Brzezińska-Wcisło L, Lis-Święty A, Kamińska-Winciorek G i wsp. Fizjologia i patologia wzrostu i utraty włosów na głowie u człowieka. *Post Dermatol Alergol*. 2003;20(5):260-266.
  19. Buffoli B, Rinaldi F, Labanca M i wsp. The human hair: from anatomy to physiology. *Int J Dermatol*. 2014;53(3):331-341.
  20. Burgdorf W, Plewig G, Wolff H. *Dermatologia*. Tom II Wyd. Czelej. Lublin 2010. Wydanie II polskie: 1074-1076.
  21. Callen JP. Chronic Cutaneous Lupus Erythematosus: Clinical, Laboratory, Therapeutic, and Prognostic Examination of 62 Patients. *Arch Dermatol*. 1982;118(6):412-416.
  22. Chang AY, Piette EW, Foering KP i wsp. Response to antimalarial agents in cutaneous lupus erythematosus: A prospective analysis. *Arch Dermatol*. 2011;147(11):1261-1267.
  23. Charles J, Chaperot L, Salameire D i wsp. Plasmacytoid dendritic cells and dermatological disorders: Focus on their role in autoimmunity and cancer. *Eur J Dermatology*. 2010;20(1):16-23.
  24. Chasset F, Arnaud L, Costedoat-Chalumeau N i wsp. The effect of increasing the dose of hydroxychloroquine (HCQ) in patients with refractory cutaneous lupus erythematosus (CLE): An open-label prospective pilot study. *J Am Acad Dermatol*. 2016;74(4):693-699.
  25. Chew CY, Mar A, Nikpour M i wsp. Hydroxychloroquine in dermatology: New perspectives on an old drug. *Australas J Dermatol*. 2019:e13168.
  26. Chiang C, Sah D, Cho BK i wsp. Hydroxychloroquine and lichen planopilaris: efficacy

- and introduction of Lichen Planopilaris Activity Index scoring system. *J Am Acad Dermatol.* 2010;62(3):387-392.
27. Chiang YZ, Tosti A, Chaudhry IH i wsp. Lichen planopilaris following hair transplantation and face-lift surgery. *Br J Dermatol.* 2012;166(3):366-370.
  28. Chieragato C, Zini A, Barba A i wsp. Lichen planopilaris: Report of 30 cases and review of the literature. *International Journal of Dermatology.* 2003;42:342-345.
  29. Chung HJ, Goldberg LJ. Histologic features of chronic cutaneous lupus erythematosus of the scalp using horizontal sectioning: Emphasis on follicular findings. *J Am Acad Dermatol.* 2017;77(2):349-355.
  30. Clark RB, Bishop-Bailey D, Estrada-Hernandez T i wsp. The Nuclear Receptor PPAR $\gamma$  and Immunoregulation: PPAR $\gamma$  Mediates Inhibition of Helper T Cell Responses. *J Immunol.* 2000;164(3):1364-1371.
  31. Clayton K, Vallejo AF, Davies J i wsp. Langerhans cells-programmed by the epidermis. *Front Immunol.* 2017;8:1676.
  32. Collier PM, James MP. Pseudopelade of Brocq occurring in two brothers in childhood. *Clin Exp Dermatol.* 1994;19(1):61-64.
  33. Collin M, Bigley V. Human dendritic cell subsets: an update. *Immunology.* 2018;154(1):3-20.
  34. Concha JSS, Werth VP. Alopecias in lupus erythematosus. *Lupus Sci Med.* 2018;5(1):e000291.
  35. Cotsarelis G, Millar SE. Towards a molecular understanding of hair loss and its treatment. *Trends Mol Med.* 2001;7(7):293-301.
  36. Cranwell WC, Sinclair R. Frontal fibrosing alopecia: Regrowth following cessation of sunscreen on the forehead. *Australas J Dermatol.* 2019;60(1):60-61.
  37. Crow MK. Type I Interferon in the Pathogenesis of Lupus. *J Immunol.* 2014;192(12):5459-5468.
  38. Diwan N, Gohil S, Nair PA. Primary idiopathic pseudopelade of Brocq: Five case reports. *Int J Trichology.* 2014;6(1):27-30.
  39. Dlova NC, Jordaan FH, Sarig O i wsp. Autosomal dominant inheritance of central centrifugal cicatricial alopecia in black South Africans. *J Am Acad Dermatol.* 2014;70(4):679-682.
  40. Doche I, Hordinsky M, Wilcox GL i wsp. Substance P in keratosis follicularis spinulosa decalvans. *JAAD Case Reports.* 2015;1(6):327-328.
  41. Donati A, Assouly P, Matard B i wsp. Clinical and photographic assessment of lichen

- planopilaris treatment efficacy. *J Am Acad Dermatol*. 2011;64(3):597-598; author reply 598-9.
42. Eloranta ML, Alm GV, Rönnblom L. Disease mechanisms in rheumatology - Tools and pathways: Plasmacytoid dendritic cells and their role in autoimmune rheumatic diseases. *Arthritis Rheum*. 2013;65(4):853-863.
  43. Elston DM, McCollough ML, Warschaw KE i wsp. Elastic tissue in scars and alopecia. *J Cutan Pathol*. 2000;27(3):147-152.
  44. Elston D, Ferritto F, Polley D i wsp. Central centrifugal cicatricial alopecia. *Indian Dermatol Online J*. 2013;4(1):50.
  45. Errichetti E, Figini M, Croatto M i wsp. Therapeutic management of classic lichen planopilaris: A systematic review. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2018;11:91-102.
  46. Fabbri P, Amato L, Chiarini C i wsp. Scarring alopecia in discoid lupus erythematosus: a clinical, histopathologic and immunopathologic study. *Lupus*. 2004;13(6):455-462.
  47. Fening K, Parekh V, McKay K. CD123 immunohistochemistry for plasmacytoid dendritic cells is useful in the diagnosis of scarring alopecia. *J Cutan Pathol*. 2016;43(8):643-648.
  48. Fernandez AP, Cleveland P. Updated recommendations on the use of hydroxychloroquine in dermatologic practice. *J Am Dermatology*. 2017;76:1176-1182.
  49. Filbrandt R, Rufaut N, Jones L i wsp. Primary cicatricial alopecia: Diagnosis and treatment. *CMAJ*. 2013;185(18):1579-1585.
  50. Fox RI. Mechanism of action of hydroxychloroquine as an antirheumatic drug. *Semin Arthritis Rheum*. 1993;23(2):82-91.
  51. Francès C, Cosnes A, Duhaut P i wsp. Low blood concentration of hydroxychloroquine in patients with refractory cutaneous lupus erythematosus: A French multicenter prospective study. *Arch Dermatol*. 2012;148(4):479-484.
  52. Gardet A, Pellerin A, McCarl CA i wsp. Effect of in vivo Hydroxychloroquine and ex vivo Anti-BDCA2 mAb Treatment on pDC IFN $\alpha$  Production from Patients Affected with Cutaneous Lupus Erythematosus. *Front Immunol*. 2019;10:275.
  53. Geller S, Gomez CJ, Myskowski PL i wsp. Follicular mucinosis in patients with hematologic malignancies other than mycosis fungoides: A clinicopathologic study. *J Am Acad Dermatol*. 2019;80(6):1704-1711.
  54. Ghaoui N, Hanna E, Abbas O i wsp. Update on the use of dapsone in dermatology. *Int J Dermatol*. 2020:e14761.
  55. Green A. Discoid erythematosus in Australian Aborigines. *Australas J Dermatol*.

- 1995;36(3):175-177.
56. Haładyj E, Sikora M, Felis-Giemza A i wsp. Antimalarials - are they effective and safe in rheumatic diseases? *Reumatologia*. 2018;56(3):164-173.
  57. Hamilton T, Otberg N, Wu WY i wsp. Successful hair re-growth with multimodal treatment of early cicatricial alopecia in discoid lupus erythematosus. *Acta Derm Venereol*. 2009;89(4):417-418.
  58. Hänsel A, Günther C, Baran W i wsp. Human 6-sulfo LacNAc (sIa<sup>n</sup>) dendritic cells have molecular and functional features of an important pro-inflammatory cell type in lupus erythematosus. *J Autoimmun*. 2013;40(1):1-8.
  59. Harries MJ, Meyer KC, Chaudhry IH i wsp. Does collapse of immune privilege in the hair-follicle bulge play a role in the pathogenesis of primary cicatricial alopecia? *Clin Exp Dermatol*. 2010;35(6):637-644.
  60. Harries MJ, Trueb RM, Tosti A i wsp. How not to get scar(r)ed: Pointers to the correct diagnosis in patients with suspected primary cicatricial alopecia. *Br J Dermatol*. 2009;160(3):482-501.
  61. Harries MJ, Meyer K, Chaudhry I i wsp. Lichen planopilaris is characterized by immune privilege collapse of the hair follicle's epithelial stem cell niche. *J Pathol*. 2013;231(2):236-247.
  62. Harries MJ, Paus R. The pathogenesis of primary cicatricial alopecias. *Am J Pathol*. 2010;177(5):2152-2162.
  63. Heppt M V, Letulé V, Laniauskaite I i wsp. Frontal Fibrosing Alopecia: A Retrospective Analysis of 72 Patients from a German Academic Center. *Facial Plast Surg*. 2018;34(1):88-94.
  64. Herskovitz I, Miteva M. Central centrifugal cicatricial alopecia: Challenges and solutions. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2016;9:175-181.
  65. Hjorton K, Hagberg N, Israelsson E i wsp. Cytokine production by activated plasmacytoid dendritic cells and natural killer cells is suppressed by an IRAK4 inhibitor. *Arthritis Res Ther*. 2018;20(1):238.
  66. Hordinsky M. Cicatricial alopecia: Discoid lupus erythematosus. *Dermatol Ther*. 2008;21(4):245-248.
  67. Hsu YC, Li L, Fuchs E. Transit-amplifying cells orchestrate stem cell activity and tissue regeneration. *Cell*. 2014;157(4):935-949.
  68. Hutchens KA, Balfour EM, Smoller BR. Comparison between Langerhans cell concentration in lichen planopilaris and traction alopecia with possible immunologic

- implications. *Am J Dermatopathol*. 2011;33(3):277-280.
69. Igari S, Yamamoto T. Dramatic effect of hydroxychloroquine on lupus alopecia. *J Dermatol*. 2018;45(2):194-197.
  70. Imanishi H, Ansell DM, Chéret J i wsp. Epithelial-to-Mesenchymal Stem Cell Transition in a Human Organ: Lessons from Lichen Planopilaris. *J Invest Dermatol*. 2018;138(3):511-519.
  71. Ito M, Liu Y, Yang Z i wsp. Stem cells in the hair follicle bulge contribute to wound repair but not to homeostasis of the epidermis. *Nat Med*. 2005;11(12):1351-1354.
  72. Jørgensen JT. Twenty Years with Personalized Medicine: Past, Present, and Future of Individualized Pharmacotherapy. *Oncologist*. 2019;24(7):e432-e440.
  73. Kalia M, Jameel S. Virus entry paradigms. *Amino Acids*. 2011;41(5):1147-1157.
  74. Kalia S, Dutz JP. New concepts in antimalarial use and mode of action in dermatology. *Dermatol Ther*. 2007;20(4):160-174.
  75. Kanti V, Röwert-Huber J, Vogt A i wsp. Cicatricial alopecia. *JDDG - J Ger Soc Dermatology*. 2018;16(4):435-461.
  76. Karnik P, Tekeste Z, McCormick TS i wsp. Hair follicle stem cell-specific PPARgamma deletion causes scarring alopecia. *J Invest Dermatol*. 2009;129(5):1243-1257.
  77. Katoulis AC, Diamanti K, Sgouros D i wsp. Is there a pathogenetic link between frontal fibrosing alopecia, androgenetic alopecia and fibrosing alopecia in a pattern distribution? *J Eur Acad Dermatology Venereol*. 2018;32(6):e218-e220.
  78. Kawasaki BT, Farrar WL. Cancer stem cells, CD200 and immunoevasion. *Trends Immunol*. 2008;29(10):464-468.
  79. Khumalo NP, Jessop S, Gumedze F i wsp. Hairdressing and the prevalence of scalp disease in African adults. *Br J Dermatol*. 2007;157(5):981-988.
  80. Kiedrowicz M, Kacalak-Rzepka A, Bielecka-Grzela S i wsp. Miejsce leków przeciwmalarycznych we współczesnej terapii dermatologicznej. *Ann Acad Med Stetin*. 2011;57(1):38-44.
  81. Kiekens RCM, Thepen T, Oosting AJ i wsp. Heterogeneity within tissue-specific macrophage and dendritic cell populations during cutaneous inflammation in atopic dermatitis. *Br J Dermatol*. 2001;145(6):957-965.
  82. Kinoshita M, Ogawa Y, Yamamoto S i wsp. Downregulation of integrin- $\alpha\beta6$  on keratinocytes in the scar of lichen planopilaris and folliculitis decalvans: Relevance for the disappearance of epidermal Langerhans cells. *J Dermatol*. 2019;46(7):610-614.

83. Kirshen C, Kanigsberg N. Alopecia areata following adalimumab. *J Cutan Med Surg.* 2009;13(1):48-50.
84. Kitashima DY, Kobayashi T, Woodring T i wsp. Langerhans Cells Prevent Autoimmunity via Expansion of Keratinocyte Antigen-Specific Regulatory T Cells. *EBioMedicine.* 2018;27:293-303.
85. Klarquist J, Zhou Z, Shen N i wsp. Dendritic Cells in Systemic Lupus Erythematosus: From Pathogenic Players to Therapeutic Tools. *Mediators Inflamm.* 2016;2016:5045248.
86. Klechevsky E. Human dendritic cells - stars in the skin. *Eur J Immunol.* 2013;43(12):3147-3155.
87. Kölgen W, Van Meurs M, Jongsma M i wsp. Differential Expression of Cytokines in UV-B-Exposed Skin of Patients with Polymorphous Light Eruption: Correlation with Langerhans Cell Migration and Immunosuppression. *Arch Dermatol.* 2004;140(3):295-302.
88. Kölgen W, Van Weelden H, Den Hengst S i wsp. CD11b+ cells and ultraviolet-B-resistant CD1a+ cells in skin of patients with polymorphous light eruption. *J Invest Dermatol.* 1999;113(1):4-10.
89. Kossard S. Postmenopausal Frontal Fibrosing Alopecia: Scarring Alopecia in a Pattern Distribution. *Arch Dermatol.* 1994;130(6):770-774.
90. Kowalska-Oleńdzka E, Rakowska A, Słowińska M, Rudnicka L. Pierwotne łysienie bliznowaciejące. *Przegl Dermatol.* 2012;99(3):241-251.
91. Kushner CJ, Concha JSS, Pearson DR i wsp. Lichen Planus Pigmentosus and Frontal Fibrosing Alopecia Mimicking Discoid Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheumatol.* 2019;71(3):478.
92. Kuznik A, Bencina M, Svajger U i wsp. Mechanism of endosomal TLR inhibition by antimalarial drugs and imidazoquinolines. *J Immunol.* 2011;186(8):4794-4804.
93. Kyei A, Bergfeld WF, Piliang M i wsp. Medical and environmental risk factors for the development of central centrifugal cicatricial alopecia: A population study. *Arch Dermatol.* 2011;147(8):909-914.
94. Ladizinski B, Bazakas A, Selim MA i wsp. Frontal fibrosing alopecia: a retrospective review of 19 patients seen at Duke University. *J Am Acad Dermatol.* 2013;68(5):749-755.
95. Lande R, Gregorio J, Facchinetti V i wsp. Plasmacytoid dendritic cells sense self-DNA coupled with antimicrobial peptide. *Nature.* 2007;449(7162):564-569.

96. Langlois RA, Legge KL. Respiratory dendritic cells: Mediators of tolerance and immunity. *Immunol Res.* 2007;39(1-3):128-145.
97. Lau CM, Broughton C, Tabor AS i wsp. CD72 negatively regulates B lymphocyte responses to the lupus-related endogenous toll-like receptor 7 ligand Sm/RNP. *J Exp Med.* 2005;202(9):1171-1177.
98. Lauterbach H, Bathke B, Gilles S i wsp. Mouse CD8 $\alpha$ <sup>+</sup> DCs and human BDCA3<sup>+</sup> DCs are major producers of IFN- $\lambda$  in response to poly IC. *J Exp Med.* 2010;207(12):2703-2717.
99. Lawson CN, Hollinger J, Sethi S i wsp. Updates in the understanding and treatments of skin & hair disorders in women of color. *Int J Women's Dermatology.* 2015;1(2):59-75.
100. Lee M Sen, Wilkinson B, Doyle JA i wsp. A comparative immunohistochemical study of lichen planus and discoid lupus erythematosus. *Australas J Dermatol.* 1996;37(4):188-192.
101. Levine D, Switlyk SA, Gottlieb A. Cutaneous lupus erythematosus and anti-TNF- $\alpha$  therapy: A case report with review of the literature. *J Drugs Dermatology.* 2010;9(10):1283-1287.
102. Liu J, Cao R, Xu M i wsp. Hydroxychloroquine, a less toxic derivative of chloroquine, is effective in inhibiting SARS-CoV-2 infection in vitro. *Cell Discov.* 2020;6(1):16.
103. Lövgren T, Eloranta ML, Kastner B i wsp. Induction of interferon- $\alpha$  by immune complexes or liposomes containing systemic lupus erythematosus autoantigen- and Sjögren's syndrome auto antigen - Associated RNA. *Arthritis Rheum.* 2006;54(6):1917-1927.
104. Lyakhovitsky A, Amichai B, Sizopoulou C i wsp. A case series of 46 patients with lichen planopilaris: Demographics, clinical evaluation, and treatment experience. *J Dermatolog Treat.* 2015;26(3):275-279.
105. Ma SA, Imadojemu S, Beer K i wsp. Inflammatory features of frontal fibrosing alopecia. *J Cutan Pathol.* 2017;44(8):672-676.
106. MacDonald A, Clark C, Holmes S. Frontal fibrosing alopecia: A review of 60 cases. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67(5):955-961.
107. Madani S, Trotter MJ, Shapiro J. Pseudopelade of Brocq in beard area. *J Am Acad Dermatol.* 2000;42(5 II):895-896.
108. Malvankar DD, Sacchidanand S. Keratosis follicularis spinulosa decalvans: A report of three cases. *Int J Trichology.* 2015;7(3):125-128.



109. Manatis-Lornell A, Okhovat JP, Marks DH i wsp. Comorbidities in patients with lichen planopilaris: A retrospective case-control study. *J Am Acad Dermatol*. 2020;19:32375-32378.
110. Marks DH, Hagigeorges D, Okhovat J-P i wsp. Association of cicatricial alopecia with chemical hair straightening. *Br J Dermatol*. 2019;181(6):1317-1319.
111. Marmor MF, Kellner U, Lai TYY i wsp. Recommendations on Screening for Chloroquine and Hydroxychloroquine Retinopathy (2016 Revision). *Ophthalmology*. 2016;123(6):1386-1394.
112. Masood Q, Manzoor S, Hassan I i wsp. Psychomotor retardation - an unusual association of keratosis follicularis spinulosa decalvans. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 66(6):320-321.
113. McGovern N, Chan JKY, Ginhoux F. Dendritic cells in humans - from fetus to adult. *Int Immunol*. 2015;27(2):65-72.
114. McGovern N, Schlitzer A, Gunawan M i wsp. Human dermal CD14+ cells are a transient population of monocyte-derived macrophages. *Immunity*. 2014;41(3):465-477.
115. Means TK, Latz E, Hayashi F i wsp. Human lupus autoantibody-DNA complexes activate DCs through cooperation of CD32 and TLR9. *J Clin Invest*. 2005;115(2):407-417.
116. Mehregan DA, Van Hale HM, Muller SA. Lichen planopilaris: Clinical and pathologic study of forty-five patients. *J Am Acad Dermatol*. 1992;27(6):935-942.
117. Melles RB, Marmor MF. The risk of toxic retinopathy in patients on long-term hydroxychloroquine therapy. *JAMA Ophthalmol*. 2014;132(12):1453-1460.
118. Méndez-Reguera A, Pérez-Montesinos G, Alcántara-Hernández M i wsp. Pathogenic CCR6+ dendritic cells in the skin lesions of discoid lupus patients: a role for damage-associated molecular patterns. *Eur J Dermatol*. 2013;23(2):169-182.
119. Merad M, Sathe P, Helft J i wsp. The dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting. *Annu Rev Immunol*. 2013;31(1):563-604.
120. Mesinkovska NA, Tellez A, Dawes D i wsp. The use of oral pioglitazone in the treatment of lichen planopilaris. *J Am Acad Dermatol*. 2015;72(2):355-356.
121. Meyer KC, Klatter JE, Dinh HV i wsp. Evidence that the bulge region is a site of relative immune privilege in human hair follicles. *Br J Dermatol*. 2008;159(5):1077-1085.

122. Milam EC, Ramachandran S, Franks AG. Treatment of scarring alopecia in discoid variant of chronic cutaneous lupus erythematosus with tacrolimus lotion, 0.3%. *JAMA Dermatology*. 2015;151(10):1113-1116.
123. Mir-Bonafé JM, Cañueto J, Fernández-López E i wsp. Follicular mucinosis associated with nonlymphoid skin conditions. *Am J Dermatopathol*. 2014;36(9):705-709.
124. Mirmirani P, Tosti A, Goldberg L i wsp. Frontal Fibrosing Alopecia: An Emerging Epidemic. *Ski appendage Disord*. 2019;5(2):90-93.
125. Mirmirani P, Willey A, Headington JT i wsp. Primary cicatricial alopecia: Histopathologic findings do not distinguish clinical variants. *J Am Acad Dermatol*. 2005;52(4):637-643.
126. Misiak-Galazka M, Olszewska M, Rudnicka L. Lichen planopilaris in three generations: grandmother, mother, and daughter – a genetic link? *Int J Dermatol*. 2016;55(8):913-915.
127. Miteva M, Tosti A. The follicular triad: A pathological clue to the diagnosis of early frontal fibrosing alopecia. *Br J Dermatol*. 2012;166(2):440-442.
128. Miteva M, Tosti A. Dermoscopy guided scalp biopsy in cicatricial alopecia. *J Eur Acad Dermatology Venereol*. 2013;27(10):1299-1303.
129. Miteva M, Sabiq S. A New Histologic Pattern in 6 Biopsies From Early Frontal Fibrosing Alopecia. *Am J Dermatopathol*. 2019;41(2):118-121.
130. Moghadam-Kia S, Franks AG. Autoimmune Disease and Hair Loss. *Dermatol Clin*. 2013;31(1):75-91.
131. Moreno-Arrones OM, Saceda-Corralo D, Rodrigues-Barata AR i wsp. Risk factors associated with frontal fibrosing alopecia: a multicentre case-control study. *Clin Exp Dermatol*. 2019;44(4):404-410.
132. Moresi JM, Horn TD. Distribution of Langerhans cells in human hair follicle. *J Cutan Pathol*. 1997;24(10):636-640.
133. Moretti S, Amato L, Massi D i wsp. Evaluation of inflammatory infiltrate and fibrogenic cytokines in pseudopelade of Brocq suggests the involvement of T-helper 2 and 3 cytokines. *Br J Dermatol*. 2004;151(1):84-90.
134. Naeini FF, Saber M, Asilian A i wsp. Clinical efficacy and safety of methotrexate versus hydroxychloroquine in preventing lichen planopilaris progress: A randomized clinical trial. *Int J Prev Med*. 2017;8:37.
135. Nambudiri VE, Vleugels RA, Laga AC i wsp. Clinicopathologic lessons in distinguishing cicatricial alopecia: 7 Cases of lichen planopilaris misdiagnosed as

- discoïd lupus. *J Am Acad Dermatol*. 2014;71(4):e135-e138.
136. Nasiri S, Bidari Zerehpooch F, Abdollahimajd F i wsp. A comparative immunohistochemical study of epidermal and dermal/perifollicular Langerhans cell concentration in discoïd lupus erythematosus and lichen planopilaris: a cross-sectional study. *Lupus*. 2018;27(14):2200-2205.
  137. Navarro-Belmonte MR, Navarro-López V, Ramírez-Boscà A i wsp. Case series of familial frontal fibrosing alopecia and a review of the literature. *J Cosmet Dermatol*. 2015;14(1):64-69.
  138. Van Neste D, Leroy T, Conil S. Exogen hair characterization in human scalp. *Skin Res Technol*. 2007;13(4):436-443.
  139. Nic Dhonncha E, Foley CC, Markham T. The role of hydroxychloroquine in the treatment of lichen planopilaris: A retrospective case series and review. *Dermatol Ther*. 2017;30(3):e12463.
  140. Nilsson J, Von Euler AM, Dalsgaard. CJ. Stimulation of connective tissue cell growth by substance P and substance K. *Nature*. 1985;315(6014):61-63.
  141. Nizzoli G, Krietsch J, Weick A i wsp. Human CD1c+ dendritic cells secrete high levels of IL-12 and potently prime cytotoxic T-cell responses. *Blood*. 2013;122(6):932-942.
  142. Ogunleye TA, McMichael A, Olsen EA. Central Centrifugal Cicatricial Alopecia: What Has Been Achieved, Current Clues for Future Research. *Dermatol Clin*. 2014;32(2):173-181.
  143. Ohta T, Sugiyama M, Hemmi H i wsp. Crucial roles of XCR1-expressing dendritic cells and the XCR1-XCL1 chemokine axis in intestinal immune homeostasis. *Sci Rep*. 2016;6:e23505.
  144. Ohto U, Shimizu T. Structural aspects of nucleic acid-sensing Toll-like receptors. *Biophys Rev*. 2016;8(1):33-43.
  145. Olsen EA, Bergfeld WF, Cotsarelis G i wsp. Summary of North American Hair Research Society (NAHRS) - Sponsored workshop on cicatricial alopecia, Duke University Medical Center, February 10 and 11, 2001. *J Am Acad Dermatol*. 2003;48(1):103-110.
  146. Otberg N, Wu W-Y, Kang H i wsp. Folliculitis decalvans developing 20 years after hair restoration surgery in punch grafts: case report. *Dermatol Surg*. 2009;35(11):1852-1856.
  147. Palucka AK, Blanck JP, Bennett L i wsp. Cross-regulation of TNF and IFN- $\alpha$  in autoimmune diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(9):3372-3377.

148. Pareek A, Khopkar U, Sacchidanand S i wsp. Comparative study of efficacy and safety of hydroxychloroquine and chloroquine in polymorphic light eruption: A randomized, double-blind, multicentric study. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2008;74(1):18-22.
149. Paus R, Nickoloff BJ, Ito T. A “hairy” privilege. *Trends Immunol.* 2005;26(1):32-40.
150. Pavlovsky L, Israeli M, Sagy E i wsp. Lichen planopilaris is associated with HLA DRB1\*11 and DQB1\*03 alleles. *Acta Derm Venereol.* 2015;95(2):177-180.
151. Pedrosa AF, Duarte AF, Haneke E i wsp. Yellow facial papules associated with frontal fibrosing alopecia: A distinct histologic pattern and response to isotretinoin. *J Am Acad Dermatol.* 2017;77(4):764-766.
152. Peters EMJ, Arck PC, Paus R. Hair growth inhibition by psychoemotional stress: a mouse model for neural mechanisms in hair growth control. *Exp Dermatol.* 2006;15(1):1-13.
153. Petri M, Orbai AM, Alarcón GS i wsp. Derivation and validation of the systemic lupus international collaborating clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012;64(8):2677-2686.
154. Photinos P. Les alopecies du cuir chevelu et leur diagnostic differential avec la pseudopelade. *Press Med.* 1930:456-460.
155. Pinkus H, Macaulay WL, Lund HZ i wsp. Alopecia Mucinosa: Inflammatory Plaques with Alopecia Characterized by Root-Sheath Mucinoses. *A M A Arch Dermatology.* 1957;76(4):419-426.
156. Poblet E, Jiménez F, Pascual A i wsp. Frontal fibrosing alopecia versus lichen planopilaris: A clinicopathological study. *Int J Dermatol.* 2006;45(4):375-380.
157. Porriño-Bustamante ML, López-Nevot MÁ, Aneiros-Fernández J i wsp. Familial frontal fibrosing alopecia: A cross-sectional study of 20 cases from nine families. *Australas J Dermatol.* 2019;60(2):e113-e118.
158. Powell J, Dawber RP. Folliculitis decalvans and tufted folliculitis are specific infective diseases that may lead to scarring, but are not a subset of central centrifugal scarring alopecia. *Arch Dermatol.* 2001;137(3):373-374.
159. Pozdnyakova O, Mahalingam M. Involvement of the bulge region in primary scarring alopecia. *J Cutan Pathol.* 2008;35(10):922-925.
160. Pradhan P, Désouza M, Bade B i wsp. Psychosocial impact of cicatricial alopecias. *Indian J Dermatol.* 2011;56(6):684-688.
161. Rakowska A, Slowinska M, Kowalska-Oledzka E i wsp. Trichoscopy of cicatricial

- alopecia. *J Drugs Dermatology*. 2012;11(6):753-758.
162. Reithmayer K, Meyer KC, Kleditzsch P i wsp. Human hair follicle epithelium has an antimicrobial defence system that includes the inducible antimicrobial peptide psoriasin (S100A7) and RNase 7. *Br J Dermatol*. 2009;161(1):78-89.
163. Ronchese F. Pseudopelade. *Arch Dermatol*. 1960;82(3):336-343.
164. Rongioletti F, De Lucchi S, Meyes D i wsp. Follicular mucinosis: a clinicopathologic, histochemical, immunohistochemical and molecular study comparing the primary benign form and the mycosis fungoides-associated follicular mucinosis. *J Cutan Pathol*. 2010;37(1):15-19.
165. Rönnblom L, Leonard D. Interferon pathway in SLE: One key to unlocking the mystery of the disease. *Lupus Sci Med*. 2019;6(1):e000270.
166. Rosenblum MD, Olasz EB, Yancey KB i wsp. Expression of CD200 on epithelial cells of the murine hair follicle: a role in tissue-specific immune tolerance? *J Invest Dermatol*. 2004;123(5):880-887.
167. Ross EK, Shapiro J. Primary cicatricial alopecia. In: *Hair, Hair Growth and Hair Disorders*. Springer-V. Berlin; 2008:187-225.
168. Ross EK, Tan E, Shapiro J. Update on primary cicatricial alopecias. *J Am Acad Dermatol*. 2005;53(1):1-37.
169. Rudnicka L, Olszewska M, Rakowska A i wsp. Trichoscopy update 2011. *J Dermatol Case Rep*. 2011;5(4):82-88.
170. Ruzicka T, Sommerburg C, Goerz G i wsp. Treatment of cutaneous lupus erythematosus with acitretin and hydroxychloroquine. *Br J Dermatol*. 1992;127(5):513-518.
171. Sacre K, Criswell LA, McCune JM. Hydroxychloroquine is associated with impaired interferon-alpha and tumor necrosis factor-alpha production by plasmacytoid dendritic cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2012;14(3):R155.
172. Saha A, Seth J, Das A i wsp. Graham-Little-Piccardi syndrome: A lens through beyond what is known. *Int J Trichology*. 2016;8(4):173-175.
173. Samrao A, Chew AL, Price V. Frontal fibrosing alopecia: A clinical review of 36 patients. *Br J Dermatol*. 2010;163(6):1296-1300.
174. Sanke S, Mendiratta V, Singh A i wsp. Keratosis follicularis spinulosa decalvans with associated mental retardation: Response to isotretinoin. *Int J Trichology*. 2017;9(3):138-139.
175. Satpathy AT, Wu X, Albring JC i wsp. Re(de)fining the dendritic cell lineage. *Nat*

- Immunol.* 2012;13(12):1145-1154.
176. Schrezenmeier E, Dörner T. Mechanisms of action of hydroxychloroquine and chloroquine: implications for rheumatology. *Nat Rev Rheumatol.* 2020;16(3):155-166.
  177. Segura E, Touzot M, Bohineust A i wsp. Human Inflammatory Dendritic Cells Induce Th17 Cell Differentiation. *Immunity.* 2013;38(2):336-348.
  178. Sellheyer K, Bergfeld WF. Histopathologic evaluation of alopecias. *Am J Dermatopathol.* 2006;28(3):236-259.
  179. Serbina NV, Salazar-Mather TP, Biron CA i wsp. TNF/iNOS-producing dendritic cells mediate innate immune defense against bacterial infection. *Immunity.* 2003;19(1):59-70.
  180. Silberberg I, Baer RL, Rosenthal SA. The role of langerhans cells in allergic contact hypersensitivity. A review of findings in man and guinea pigs. *J Invest Dermatol.* 1976;66(4):210-217.
  181. Singh TP, Zhang HH, Borek I i wsp. Monocyte-derived inflammatory Langerhans cells and dermal dendritic cells mediate psoriasis-like inflammation. *Nat Commun.* 2016;7:e13581.
  182. Sittig SP, Bakdash G, Weiden J i wsp. A Comparative Study of the T Cell Stimulatory and Polarizing Capacity of Human Primary Blood Dendritic Cell Subsets. *Mediators Inflamm.* 2016;2016:e3605643.
  183. Skazik C, Heise R, Ott H i wsp. Active transport of contact allergens in human monocyte-derived dendritic cells is mediated by multidrug resistance related proteins. *Arch Biochem Biophys.* 2011;508(2):212-216.
  184. Sleiman R, Kurban M, Abbas O. Evaluation of the Diagnostic Value of Plasmacytoid Dendritic Cells in Differentiating the Lymphocytic Cicatricial Alopecias. *Dermatology.* 2015;231(2):158-163.
  185. Somani N, Bergfeld WF. Cicatricial alopecia: classification and histopathology. *Dermatol Ther.* 2008;21(4):221-237.
  186. Spencer LA, Hawryluk EB, English JC. Lichen planopilaris: retrospective study and stepwise therapeutic approach. *Arch Dermatol.* 2009;145(3):333-334.
  187. Steinman RM. Decisions About Dendritic Cells: Past, Present, and Future. *Annu Rev Immunol.* 2012;30(1):1-22.
  188. Strumia M. Experimental acne varioliformis. *Arch Derm Syphilol.* 1924;10:702.
  189. Sulica VI, Kao GF. Squamous-cell carcinoma of the scalp arising in lesions of discoid lupus erythematosus. *Am J Dermatopathol.* 1988;10(2):137-141.

190. Sundberg JP, Boggess D, Sundberg BA i wsp. Asebia-2J (Scd1(ab2j)): A new allele and a model for scarring alopecia. *Am J Pathol.* 2000;156(6):2067-2075.
191. Szczygieł A, Pajtasz-Piasecka E. Between biology and medicine: perspectives on the use of dendritic cells in anticancer therapy. *Postepy Hig Med Dosw.* 2017;71(0):921-941.
192. Tan E, Martinka M, Ball N i wsp. Primary cicatricial alopecias: Clinicopathology of 112 cases. *J Am Acad Dermatol.* 2004;50(1):25-32.
193. Tan KT, Messenger AG. Frontal fibrosing alopecia: Clinical presentations and prognosis. *Br J Dermatol.* 2009;160(1):75-79.
194. To D, Beecker J. Frontal fibrosing alopecia: Update and review of challenges and successes. *J Cutan Med Surg.* 2018;22(2):182-189.
195. Tomasini D, Mentzel T, Hantschke M i wsp. Plasmacytoid dendritic cells: an overview of their presence and distribution in different inflammatory skin diseases, with special emphasis on Jessner's lymphocytic infiltrate of the skin and cutaneous lupus erythematosus. *J Cutan Pathol.* 2010;37(11):1132-1139.
196. Tosti A, Miteva M, Torres F. Lonely hair: a clue to the diagnosis of frontal fibrosing alopecia. *Arch Dermatol.* 2011;147(10):1240.
197. Tziotzios C, Petridis C, Dand N i wsp. Genome-wide association study in frontal fibrosing alopecia identifies four susceptibility loci including HLA-B\*07:02. *Nat Commun.* 2019;10(1):1150.
198. Vaño-Galván S, Molina-Ruiz AM, Serrano-Falcón C i wsp. Frontal fibrosing alopecia: A multicenter review of 355 patients. *J Am Acad Dermatol.* 2014;70(4):670-678.
199. Vashi N, Newlove T, Chu J i wsp. Graham-Little-Piccardi-Lassueur syndrome. *Dermatol Online J.* 2011;17(10):30.
200. Villablanca S, Fischer C, García-García SC i wsp. Primary Scarring Alopecia: Clinical-Pathological Review of 72 Cases and Review of the Literature. *Ski Appendage Disord.* 2017;3(3):132-143.
201. Villadangos JA, Schnorrer P. Intrinsic and cooperative antigen-presenting functions of dendritic-cell subsets in vivo. *Nat Rev Immunol.* 2007;7(7):543-555.
202. Vogt A, McElwee KJ, Blume-Peytavi U. Biology of the hair follicle. In: *Hair, Hair Growth and Hair Disorders*. Berlin: Wyd. Springer; 2008:1-20.
203. Vollmer J, Tluk S, Schmitz C i wsp. Immune stimulation mediated by autoantigen binding sites within small nuclear RNAs involves Toll-like receptors 7 and 8. *J Exp Med.* 2005;202(11):1575-1585.

204. Van der Aar AMG, Sylva-Steenland RMR, Bos JD i wsp. Cutting Edge: Loss of TLR2, TLR4, and TLR5 on Langerhans Cells Abolishes Bacterial Recognition. *J Immunol.* 2007;178(4):1986-1990.
205. Wahie S, Meggitt SJ. Long-term response to hydroxychloroquine in patients with discoid lupus erythematosus. *Br J Dermatol.* 2013;169(3):653-659.
206. Wahie S, Daly AK, Cordell HJ i wsp. Clinical and pharmacogenetic influences on response to hydroxychloroquine in discoid lupus erythematosus: A retrospective cohort study. *J Invest Dermatol.* 2011;131(10):1981-1986.
207. Waldmann H. Immunology: Protection and privilege. *Nature.* 2006;442(7106):987-988.
208. Wallace DJ, Linker-Israeli M, Hyun S i wsp. The effect of hydroxychloroquine therapy on serum levels of immunoregulatory molecules in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 1994;21(2):375-376.
209. Walsh NM, Lai J, Hanly JG i wsp. Plasmacytoid dendritic cells in hypertrophic discoid lupus erythematosus: an objective evaluation of their diagnostic value. *J Cutan Pathol.* 2015;42(1):32-38.
210. Waśkiel A, Rakowska A, Sikora M i wsp. Trichoscopy in lichen planopilaris: an update. *Przegl Dermatol.* 2018;105(1):63-75.
211. Whiting DA. Cicatricial alopecia: Clinico-pathological findings and treatment. *Clin Dermatol.* 2001;19(2):211-225.
212. Willis R, Seif AM, McGwin G i wsp. Effect of hydroxychloroquine treatment on proinflammatory cytokines and disease activity in SLE patients: data from LUMINA (LXXV), a multiethnic US cohort. *Lupus.* 2012;21:830-835.
213. Wilson CL, Burge SM, Dean D i wsp. Scarring alopecia in discoid lupus erythematosus. *Br J Dermatol.* 1992;126(4):307-314.
214. Wozniacka A, Lesiak A, Narbutt J i wsp. Chloroquine treatment reduces the number of cutaneous HLA-DR+ and CD1a+ cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2007;16(2):89-94.
215. Wozniacka A, Lesiak A, Narbutt J i wsp. Chloroquine treatment influences proinflammatory cytokine levels in systemic lupus erythematosus patients. *Lupus.* 2006;15(5):268-275.
216. Yin X, Yu H, Jin X i wsp. Human Blood CD1c + Dendritic Cells Encompass CD5 high and CD5 low Subsets That Differ Significantly in Phenotype, Gene Expression, and Functions . *J Immunol.* 2017;198(4):1553-1564.



217. Yoon J, Choi JW. Primary cicatricial alopecia in a single-race Asian population: A 10-year nationwide population-based study in South Korea. *J Dermatol*. 2018;45(11):1306-1311.
218. Yu KK, Crew AB, Messingham KAN i wsp. Omalizumab therapy for bullous pemphigoid. *J Am Acad Dermatol*. 2014;71(3):468-474.
219. Zeidi M, Kim HJ, Werth VP. Increased Myeloid Dendritic Cells and TNF- $\alpha$  Expression Predicts Poor Response to Hydroxychloroquine in Cutaneous Lupus Erythematosus. *J Invest Dermatol*. 2019;139(2):324-332.
220. Zinkernagel MS, Trüeb RM. Fibrosing alopecia in a pattern distribution: Patterned lichen planopilaris or androgenetic alopecia with a lichenoid tissue reaction pattern? *Arch Dermatol*. 2000;136(2):205-211.

## 8. STRESZCZENIE

Pierwotne łysienie bliznowaciejące (ang. primary cicatricial alopecia PCA) obejmuje zróżnicowaną grupę zaburzeń powodujących trwałą i klinicznie nieodwracalną utratę włosów, która często prowadzi do obniżenia jakości życia i problemów psychicznych u pacjenta. PCA stanowi około 10 procent przypadków pacjentów zgłaszających się do dermatologa z powodu nasilonego wypadania włosów. Postuluje się, że uszkodzenie mieszków włosowych jest spowodowane aktywacją autoreaktywnych limfocytów w odpowiedzi na nieznany antygen zlokalizowany w obrębie wybrzuszenia mieszka włosowego zawierającego nabłonkowe komórki macierzyste włosa. Zgodnie z obowiązującą klasyfikacją *North American Hair Research Society* z 2001 roku poszczególne jednostki chorobowe diagnozuje się na podstawie rodzaju nacieku zapalnego dominującego w obrazie histopatologicznym. Cechy kliniczne i mikroskopowe najczęstszych chorób z grupy PCA, czyli liszaja płaskiego mieszkowego (lichen planopilaris – LPP) i tocznia rumieniowatego krążkowego (ang. discoid lupus erythematosus – DLE), często się nakładają, a postawienie prawidłowego rozpoznania może stanowić duże wyzwanie dla dermatologów.

Hydroksychlorochina stanowi jedną z opcji systemowego leczenia pierwotnego łysienia bliznowaciejącego z naciekiem limfocytarnym. Uważa się, że do najważniejszych elementów jej działania należy supresja mechanizmów prezentacji antygeny poprzez hamowanie aktywności komórek dendrytycznych. Najbardziej niekorzystnym i nieodwracalnym powikłaniem terapii hydroksychlorochiną jest retinopatia. Autorzy licznych doniesień naukowych wykazali, że nie u wszystkich pacjentów terapia HCQ powoduje remisję choroby.

Celem pracy była identyfikacja czynników predykcyjnych odpowiedzi na terapię hydroksychlorochiną u pacjentów z pierwotnym łysieniem bliznowaciejącym z naciekiem limfocytarnym. Podjęto również próbę odpowiedzi na pytanie, czy ocena komórek dendrytycznych może być przydatna w różnicowaniu poszczególnych chorób z grupy PCA.

Badanie miało charakter retrospektywnego badania kohortowego w grupie 65 pacjentów ze zweryfikowanym histopatologicznie PCA z naciekiem limfocytarnym. Na podstawie analizy rekordów medycznych oceniano odpowiedź na terapię hydroksychlorochiną. Pacjenci zostali zaklasyfikowani do dwóch grup: odpowiadający oraz nieodpowiadający na leczenie. W wycinkach tkankowych pobranych przed wdrożeniem leczenia dokonano analizy

ekspresji receptorów subpopulacji komórek dendrytycznych za pomocą immunofluorescencji bezpośredniej.

W prezentowanym badaniu wykazano, że średnia ekspresja komórek Langerhansa, plazmacytoidalnych i mieloidalnych komórek dendrytycznych jest istotnie większa u pacjentów odpowiadających na leczenie HCQ w porównaniu z chorymi z progresją choroby w trakcie terapii. Co warto podkreślić, na bazie analizy krzywej ROC, wykazano, że wartości dotyczące nacieku komórek plazmacytoidalnych mogą być brane pod uwagę jako marker odpowiedzi na terapię HCQ. Ponadto, w grupie pacjentów z DLE w porównaniu do LPP obserwowano zwiększoną liczbę plazmacytoidalnych i konwencjonalnych komórek dendrytycznych, a także komórek dendrytycznych pochodzenia monocytarnego. Wydaje się zatem, że ocena komórek dendrytycznych może również ułatwić diagnostykę różnicową chorób z grupy PCA, szczególnie w przypadkach, gdy obraz kliniczny i mikroskopowy nie jest rozstrzygający.

Wyniki niniejszej pracy są ważne w celu zindywidualizowania podejścia terapeutycznego oraz wyboru skutecznej metody leczenia. Rola, jaką odgrywają komórki dendrytyczne w patogenezie PCA jest zagadnieniem złożonym i z całą pewnością wymaga dalszych badań uzupełniających.

## 9. SUMMARY

Primary cicatricial alopecia (PCA) encompasses a diverse group of inflammatory diseases characterized by the replacement of hair follicle structures by fibrous tissue. The incidence of PCA is increasing over the last few decades. Although the pathogenesis of PCA remains not fully understood, the key to its understanding might be the location of the peri-follicular inflammatory infiltrate. In PCA the hair follicle itself is the key target of autoaggressive immunity because the infiltrate is centered around the bulge region. Due to the destruction of epithelial hair follicle stem cells in the bulge region, PCA is an irreversible condition. According to the working classification of the North American Hair Research Society primary cicatricial alopecia is divided into four groups based on the prominent inflammatory infiltrate. Unfortunately, the clinical and histopathological features of the most common conditions – discoid lupus erythematosus and lichen planopilaris – often overlap and become indistinguishable.

The treatment of choice for PCA patients is hydroxychloroquine (HCQ) although not all patients are equally responsive. It has been demonstrated in prior works by others that HCQ treatment is effective only in 50 percent of patients. The exact mechanism of action of antimalarials remains not completely understood, but is postulated to consist of multiple interrelated anti-inflammatory and immunomodulatory effects, such as lysosomal stabilization, suppression of antigen presentation, inhibition of cytokine synthesis and endosomal toll-like receptor (TLR) signaling to limit dendritic cell activation.

We hypothesized that dendritic cells (DCs) are implicated in PCA pathogenesis as their expression was upregulated in lesional skin of PCA patients and they might constitute the biological target of HCQ treatment. For these reasons we investigated whether dendritic cells could affect the antimalarial responsiveness, and if dendritic cells might be used as predictive factor of responsiveness to hydroxychloroquine. Moreover, we analyzed the differences in dendritic cells populations in lesional skin of discoid lupus erythematosus and lichen planopilaris patients.

In this retrospective cohort study 65 PCA patients were grouped accordingly to their response to hydroxychloroquine therapy. Skin biopsies had been taken before the treatment was started. On immunohistochemistry, we analyzed the population and distribution of Langerhans cells, plasmacytoid, myeloid and monocyte-derived dendritic cells by employing antibodies against CD1a, CD11c, CD123, CD206.

We have demonstrated that the number of plasmacytoid and myeloid dendritic cells as well as Langerhans cells in lesional skin of HCQ responders was higher in comparison with HCQ non-responders. Moreover, in a predictive model (ROC curve) we showed that plasmacytoid dendritic cells might be used as a predictive factor of responsiveness to HCQ. Last but not the least, we demonstrated that almost all subpopulations of dendritic cells were highly expressed in lesional skin of discoid lupus erythematosus patients in comparison with lichen planopilaris ones. In the light of this observation, dendritic cells might be used as an additional clue in differential diagnosis of PCA.

Permanent hair loss in the course of PCA can be damaging for affected individual's self-esteem. Finding the pathogenetic pathway of PCA is crucial in developing new treatment strategies for this irreversible condition. The results of this study are important as identifying biomarkers for responsiveness to a HCQ therapy will be helpful to individualize treatment, minimize the side effects and improve patient's compliance.