

Korelacija histoloških i imunohistoloških svojstava T-staničnoga limfoma kože (Mycosis fungoides) s kliničkom slikom, stadijem i ishodom bolesti u desetogodišnjem razdoblju

Jerković Gulin, Sandra

Doctoral thesis / Disertacija

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:366045>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-24**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)





Središnja medicinska knjižnica

Jerković Gulin, Sandra (2018) *Korelacija histoloških i imunohistoloških svojstava T-staničnoga limfoma kože (Mycosis fungoides) s kliničkom slikom, stadijem i ishodom bolesti u desetogodišnjem razdoblju [Correlation of histological and immunohistochemical properties of T-cell skin lymphoma (mycosis fungoides) with the clinical picture, stage and patient outcome in ten-year period]. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu*

<http://medlib.mef.hr/3042>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Sandra Jerković Gulin

**Korelacija histoloških i
imunohistoloških svojstava T-
staničnoga limfoma kože (*Mycosis
fungoides*) s kliničkom slikom,
stadijem i ishodom bolesti u
desetogodišnjem razdoblju**

DISERTACIJA

Zagreb, 2018.

Disertacija je izrađena u Klinici za dermatovenerologiju i Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Voditelj rada: prof.dr.sc. Romana Čeović, dr.med.

Zahvaljujem prof.dr.sc. Romani Čeović i dr.sc. Ivani Ilić na nesebičnom dijeljenju znanja, velikoj pomoći i trudu prilikom provođenja ovog istraživanja.

Ovu disertaciju povećujem svojoj djeci Aurori i Marku Rafaelu te svome suprugu Dariju koji me uvijek podržavao u mojim znanstvenim aktivnostima.

SADRŽAJ

1. UVOD I SVRHA RADA	1
1.1. Definicija	1
1.2. Dijagnoza i stadiji bolesti	1
1.3. Liječenje i prognoza	6
2. HIPOTEZA	11
3. CILJEVI RADA	12
4. ISPITANICI, MATERIJAL I METODOLOGIJA ISTRAŽIVANJA	13
5. REZULTATI	15
5.1. Preživljenje	20
5.1.1. Početni stadij bolesti	20
5.1.2. Parapsorijaza	23
5.1.3. Početna klinička slika	24
5.1.4. Trajanje premikotičkog stadija	25
5.1.5. Proširenost kožnih lezija	26
5.1.6. Limfni čvorovi	27
5.1.7. Progresija bolesti	28
5.1.8. Odgovor na terapiju	29
5.1.9. Lihenoidni dermalni infiltrat	30
5.1.10. Pautrierovi mikroapscesi	31
5.1.11. Limfociti „čuvari“	32
5.1.12. Atipija limfocita	33
5.1.13. Gubitak CD2, CD3, CD5 i CD7	34
5.1.14. Razlike u preživljenju bolesnika s obzirom na sve ispitivane varijable	35
5.1.15. Rezultati univarijatne logističke regresije	37
5.2. Preživljenje bez progresije	38
5.2.1. Početni stadij bolesti	38
5.2.2. Parapsorijaza	39
5.2.3. Početna klinička slika	40
5.2.4. Proširenost kožnih lezija	41
5.2.5. Trajanje premikotičkog stadija	42
5.2.6. Limfni čvorovi	43
5.2.7. Odgovor na terapiju	44
5.2.8. Lihenoidni dermalni infiltrat	46
5.2.9. Pautrierovi mikroapscesi	48

5.2.10. Limfociti „čuvari“	50
5.2.11. Atipija limfocita	51
5.2.12. Gubitak CD2, CD3, CD5 i CD7.....	53
5.2.13. Razlike u pojavi progresije bolesti s obzirom na sve ispitivane varijable	54
5.2.14. Rezultati univarijatne logističke regresije	56
6. RASPRAVA.....	57
7. ZAKLJUČCI	63
8. SAŽETAK.....	65
9. SUMMARY	66
10. POPIS LITERATURE	67
11. BIOGRAFIJA.....	76

Popis kratica:

MF - *mycosis fungoides*

TSR - T-stanični receptor

SZO - Svjetska zdravstvena organizacija

HLA - humani leukocitni antigen

1. UVOD I SVRHA RADA

1.1. Definicija

Primarni kožni limfomi su ektranodalne neoplazme T-, NK- ili B-limfocita koje pokazuju poseban tropizam za kožu. Treba ih razlikovati od zahvaćanja kože u ekstrakutanih leukemija i limfoma. Kako patohistološki nalaz primarnih i sekundarnih kožnih limfoma može biti vrlo sličan ili identičan, ponekad je potrebna opsežna obrada za određivanje proširenosti bolesti da bi se utvrdila razlika. Postoji više vrsta primarnih kožnih limfoma koji se razlikuju po patohistološkim značajkama, kliničkoj slici, odgovoru na liječenje i prognozi (1–3).

Svjetska zdravstvena organizacija (SZO, engl. *World Health Organization*) objavila je 2001., a potom 2008. i 2016. godine revidirala Klasifikaciju tumora hematopoetskog i limfatičnog tkiva, općeprihvaćenu kako među patolozima i kliničarima, tako i među znanstvenicima koji se bave biologijom limfoma. Temeljno načelo ove klasifikacije je definiranje različitih bolesti na temelju kombinacije morfoloških, imunofenotipskih, genetičkih, molekularnih i kliničkih značajki. Stoga, da bi se primarni kožni limfom točno klasificirao potrebna je integracija gore navedenih značajki, osobito korelacija kliničke slike i tijeka bolesti s patohistološkim, imunohistokemijskim i molekularnim podacima (1–4).

Mycosis fungoides (MF) je najčešći T-stanični limfom kože i čini 50% svih primarnih limfoma kože (3,5). Entitet je još 1806. godine opisao francuski dermatolog Alibert (6). Prema SZO klasifikaciji naziv MF odnosi se na klasični Alibert-Bazinov tip obilježen stupnjevitom kliničkom slikom u kojoj se razlikuju premikotični, pločasto-infiltrativni i tumorski stadij bolesti (3). Procjenjuje se da oko 90% bolesnika s ranim stadijem MF neće progredirati u tumorski stadij niti će razviti ekstrakutane manifestacije bolesti (7,8). Incidencija bolesti iznosi 6-7/1 000 000, uz brojne regionalne varijacije i porast tijekom zadnjih desetljeća (9,10). Unatoč brojnim istraživanjima, etiologija ove bolesti još je uvijek nejasna. MF je opisan u bolesnika s drugim hematološkim poremećajima, posebice s Hodgkinovim limfomom (11,12). Također, bolesnici koji boluju od MF imaju veći rizik za razvoj druge maligne bolesti, uključujući druge vrste limfoma, melanom, karcinom mokraćnog mjehura i karcinom žučnjaka (13).

1.2. Dijagnoza i stadiji bolesti

Dijagnoza MF se postavlja na temelju korelacije kliničke slike, tijeka bolesti te histološke i imunohistokemijske analize bioptičkih uzoraka kožnih promjena. Vrsta kožnih lezija (*patch*, plak, tumor), lokalizacija kožnih lezija, varijacije u veličini i obliku kožnih lezija,

proširenost kožnih lezija ($\leq 10\%$ površine kože, $>10\%$ površine kože), postojanje/nepostojanje poikiloderme i postojanje/nepostojanje klinički uvećanih limfnih čvorova su parametri kojima definiramo kliničku sliku. Histopatološka dijagnoza ranog stadija MF može biti izuzetno teška te je gotovo nemoguće razlikovati je od određenih upalnih bolesti kože samo na temelju histoloških kriterija (2–4,14).

MF je epidermotropni kožni T-stanični limfom citomorfološki karakteriziran proliferacijom malih do srednje velikih pleomorfnih, cerebriformnih limfocita. Spominje se više histoloških kriterija za dijagnozu premikotičnog stadija MF: Pautrierovi mikroapscesi, limfociti poravnati duž dermoepidermalne granice, intraepidermalni limfociti veći od limfocita u dermisu, nesrazmjern epidermotropizam (epidermotropni limfociti s oskudnom spongiozom), intraepidermalni limfociti sa svijetlim područjem (*halo* limfociti) oko jezgre, prošireni papilarni dermis s blagom fibrozom i grubim nakupinama kolagena i lihenoidni dermalni infiltrat limfocita (4,12,15). Intraepidermalne nakupine limfocita (Pautrierovi mikroapscesi), koje su desetljećima smatrane obilježjem bolesti, prisutne su samo u manjem broju slučajeva premikotičnog stadija i često ne postoje u uznapredovalim stadijima bolesti (14,16). Rane lezije MF u najvećem broju slučajeva pokazuju lihenoidni infiltrat limfocita u proširenom papilarnom dermisu, hiperplastičan, normalan ili atrofičan epidermis uz dominaciju malih limfocita. Atipične stanice se u ranim lezijama nalaze izuzetno rijetko. Također, solitarni epidermotropizam (epidermotropizam pojedinačnih limfocita) se nalazi znatno češće od Pautrierovih mikroapscesa u ranim lezijama. Dijagnostički kriteriji u ranom stadiju MF su: a) epidermotropni limfociti s jezgrama koje su veće od jezgara limfocita u gornjem dermisu, b) limfociti poredani uz bazalnu membranu epidermisa, c) intraepidermalni limfociti u područjima s oskudnom spongiozom (disproporcionalni epidermotropizam) (3), d) ekspresija CD2, CD3 i CD5 u manje od 50% T-limfocita, e) ekspresija CD7 u manje od 10% T-limfocita, f) aberantna ekspresija CD2, CD3, CD5 ili CD7 na epidermalnim i dermalnim T-limfocitima (15). Disproporcionalni epidermotropizam se može vidjeti u mnogim upalnim dermatozama. U oko 5% slučajeva ranog stadija MF epidermotropizam je minimalan ili ne postoji, što može biti posljedica prethodnog liječenja. U papilarnom dermisu nađe se naglašena fibroza s grubim nakupinama kolagenih vlakana uz vrpčasti ili krpičasti lihenoidni infiltrat limfocita. Često se ne nalazi edem dermisa, eozinofili mogu biti prisutni, ali oni nisu uobičajen nalaz u *patch* i plak lezijama ranog stadija MF, dok je broj Langerhansovih stanica uobičajeno povišen (3,15). Nerijetko se nalazi neuobičajan histološki nalaz MF u ranim stadijima koji uključuje: a) prisutnost perivaskularnog površinskog infiltrata, b) značajnu spongiozu, ponekad i s Pautrierovim mikroapscesima (Darierovim gnijezdima), koja imitira spongiotičke vezikule, c)

interface dermatitis, ponekad s nekrotičnim keratinocitima, koji imitira sliku eritema multiforme, d) naglašenu inkontinenciju pigmenta s melanofagima u papilarnom dermisu, e) istaknutu hiperplaziju epidermisa koja imitira sliku *lichen simplex chronicus*, f) istaknutu sklerozu papilarnog dermisa koja imitira *lichen sclerosus*, i g) istaknutu ekstravazaciju eritrocita koja imitira lihenoidnu purpuru (3,16–18). U iznimnim slučajevima, češće u djece, patohistološki kriteriji mogu upućivati na *pityriasis lichenoides et varioliformis acuta* (3).

Plakovi MF su karakterizirani nalazom gustog, vrpčastog infiltrata limfocita u gornjem dermisu uz vrlo čest nalaz Pautrierovih mikroapscesa i dominaciju malih do srednje velikih pleomorfnih, cerebriformnih T-limfocita (3).

U tumorima MF nalazi se gusti, nodularni ili difuzni infiltrat limfocita u cijelom dermisu koji uobičajeno zahvaća i potkožno masno tkivo dok je epidermotropizam često izgubljen. Ravni tumori su patohistološki karakterizirani gustim infiltratom limfocita samo u površinskom i srednjem dermisu, a u nekim slučajevima može dominirati infiltrat u intersticiju. Također, u nekim slučajevima tumorskog stadija MF, u patohistološkom nalazu tumora ponekad se nalazi naglašeno zahvaćanje potkožnog masnog tkiva, koje može imitirati sliku panikulitisa sličnog T-staničnog limfoma (engl. *subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma*), i vrlo rijetko destrukcija krvnih žila (3). U uznapredovalim stadijima MF bolesnici mogu razviti lezije koje sadržavaju brojne velike stanice uključujući imunoblaste, velike pleomorfne stanice i velike anaplastične stanice (3,19,20). Velikostanična transformacija (engl. *large cell transformation*) MF definirana je prisutnošću velikih stanica koje čine više od 25% infiltrata ili velikih stanica koje formiraju mikroskopske čvorove i pronalazi se u oko 50% slučajeva tumorskih stadija MF (3,19). Tijek MF je indolentan sve dok se ne dogodi velikostanična transformacija što je rijetko, a povezano je s agresivnim kliničkim tijekom i skraćenim preživljenjem (21).

MF je karakterizirana infiltratom α/β T-pomoćničkih memorijskih limfocita (β F1+, TSR- γ -, CD3+, CD4+, CD5+, CD8-, CD45Ro+, TIA-1-). Rijetki slučajevi izražavaju T-citotoksični (β F1-, TSR- γ -, CD3+, CD4-, CD5+, CD8+, TIA-1+) ili γ/δ (β F1-, TSR- γ +, CD3+, CD4-, CD5+, CD8+, TIA-1+) fenotip, a ni klinički niti prognostički se ne razlikuju od prethodnih (3,14,15,22). U kasnim stadijima MF može doći do (parcijalnog) gubitka pan-T-staničnih antigena (CD2, CD3, CD5) i/ili gubitka CD4/CD8 ekspresije. Gubitak pan-T-staničnog markera (CD2, CD3, CD5) govori za dijagnozu MF i T-staničnih limfoma, ali je vrlo rijedak u ranim lezijama MF (3,15,23). Rijetko, rani stadij MF pokazuje aberantni CD4+/CD8+ ili CD4-/CD8- fenotip (3,14,24). Slučajevi MF koji su CD4-/CD8- mogu biti pozitivni na PD-1, biljeg folikularnih pomoćničkih T-limfocita (CD2+, CD4-, CD8-, CD30-, β F1+, CXCL13-, TIA-1-, granzyme B-, perforin-, PD-1+) (25). Osim u MF, i maligni limfociti u

Sezaryjevom sindromu mogu biti PD-1 pozitivni (3, 30). Opisani su rijetki slučajevi MF s kompletnim fenotipom folikularnih pomoćničkih T-limfocita (PD-1+, Bcl-6+, CXCL-13+, CD10+) (3,26–28). Imunohistokemijska analiza tumorskih lezija MF u bolesnika s prethodno dokazanim T-pomoćničkim fenotipom (CD3+, CD4+, CD8- ili CD3+, CD4-, CD8-) u ranom stadiju MF (*patch*, plak) pokazala je povišenu ekspresiju biljega TIA-1 i granzima-B nakon progresije bolesti. Takvi slučajevi se ne klasificiraju kao citotoksični limfom, nego kao tumorski stadij MF sa citotoksičnim fenotipom. (3,29). U takvih inačica MF može se naći i ekspresija CD56 koja je vrlo rijetka kod uobičajenog CD4+ fenotipa (3,30). Neoplastične stanice u plakovima i tumorskim lezijama, rjeđe u *patchevima*, netransformirane MF mogu eksprimirati CD30 antigen, takvi slučajevi izgleda imaju lošiju prognozu. S druge strane, CD30- velikostanična transformacija ima lošiju prognozu (3,31). Obzirom na ove diskrepance, prognostička vrijednost CD30 antigena u MF i dalje je kontroverzna (3). T-regulatorne stanice, koje obuhvaćaju populaciju T-limfocita koji mogu utjecati na druge stanice supresijom imunološkog odgovora, najčešće izražavaju CD4+, CD25+, FOXP3+ (engl. *forkhead box P3*) fenotip, prisutne su u reaktivnim infiltratima lezija rane MF i nestaju u tumorskom stadiju. Po rezultatima nekoliko manjih studija povezane su s prognozom bolesti (32–35). Intraepidermalne FOXP3+ stanice se u većem broju pojavljuju u upalnim bolestima nego u MF, no još uvijek to ne predstavlja dijagnostički kriterij za MF (3,36). Povećan broj CD1a+ Langerhansovih stanica kao i drugih dendritičkih stanica opažen je u ranim lezijama MF, ponekad imitirajući histiocitozu Langerhansovih stanica (3,37,38). Iako se nakupine Langerhansovih stanica u epidermisu smatraju diferencijalno dijagnostičkim kriterijem za limfomatoidni kontaktni dermatitis, ponekad se mogu naći u MF (3). U kasnim stadijima MG mogu se u lezijama naći brojni CD20+ B-limfociti koji čak mogu formirati i germinalne centre te maskirati neoplastični infiltrat T-limfocita. Ovakvi slučajevi se ne smiju zamjeniti za B-stanični kožni limfomi. Također, ne smije se zaboraviti na pojavu kompozitnih kožnih limfoma koji su definirani kao neoplazme T-staničnog i B-staničnog porijekla u jednoj anatomskej regiji ili unutar iste lezije (npr. spektar T-staničnih neoplazmi u kombinaciji s različitim B-staničnim limfomima/leukemijama) (3,37,39–42).

Imunohistokemijska obilježja stanica MF slična su onima u mnogim upalnim bolestima kože (29,43). Bojenje biljezima CD3 i CD4 pomoći će istaknuti epidermotropizam T-limfocita, no intraepidermalni limfociti se ne mogu smatrati patognomoničnima za MF. Smatra se da u ranom stadiju MF, za razliku od mnogih upalnih dermatoza, dolazi do gubitka CD7 antigena (44,45). Ipak, neke su studije pokazale da i upalne dermatoze u nekim slučajevima mogu pokazati gubitak CD7 antigena (45–47).

Molekularna analiza preuredbe gena za TSR (T-stanični receptor) je metoda koja pomaže u diferencijaciji MF od upalnih dermatozama. Monoklonalna preuredba TSR gena se često nalazi u plakovima i tumorima MF. Korištenjem PCR-a (engl. *polymerase chain reaction*) više od 80% *patch* lezija također pokazuje monoklonalnost TSR gena. Utvrđivanje klonalnosti T-stanica u prvoj dijagnostičkoj biopsiji nije povezano s prognozom bolesti u slučaju ranog stadija MF (3, 52). Monoklonalna populacija T-limfocita može se naći u krvi bolesnika s ranim stadijem MF. U mnogih bolesnika klonovi u krvi i koži se razlikuju (razlika u preuredbi gena za TSR γ -lanac, $V\gamma$ i $J\gamma$ oligonukleotidi- PCR γ -*imprint*). Ponekad se prisustvo klona može dokazati i nakon uspješnog liječenja i potpune remisije bolesti (53). I dalje je nejasna točna dijagnostička i prognostička vrijednost molekularne genetske analize preuredbe TSR gena u krvi u bolesnika s ranim stadijem MF (3). Monoklonalnost T-limfocita u limfnim čvorovima koji klinički i/ili patohistološki nisu zahvaćeni bolešću je povezana s lošijom prognozom. Detekcija istog klona u lezijama različitih kožnih lokalizacija je visokospecifična za MF u odnosu na upalne bolesti. Ipak, u nekim upalnim dermatozama (npr. *lichen planus*, *lichen sclerosus*...) mogu se naći monoklonske populacije T-limfocita. Stoga se nepostojanje klonalnosti ne treba smatrati sigurnim kriterijem za isključenje, a prisutnost za potvrdu dijagnoze MF (3,14,48,49). Analiza preuredbe TSR gena u krvi i nezahvaćenim limfnim čvorovima nije dio rutinske obrade bolesnika u ranom stadiju MF.

Studija novijeg datuma koja je ispitala mogućnost razlikovanja premikotičkog stadija MF od benignih kožnih stanja na temelju histoloških kriterija utvrdila je sljedeće: savijeni limfociti, potkožna infiltracija i folikularni mucin su 100% specifični za MF, a nepostojanje edema je 100% osjetljiv i specifični kriterij za razlikovanje MF od upalnih imitatora (50). Spontana regresija nekih lezija i/ili pojava CD30+ neoplastičnih stanica može upućivati na anaplastični velikostanični limfom ili limfomatoidnu papulozu, no takva dijagnoza može biti postavljena samo na temelju uvjerljivih dokaza u bolesnika s MF. Većina slučajeva MF s velikostaničnom transformacijom koji su CD30+ nema translokaciju *IRF4* gena (engl. *interferon regulatory factor-4 gene*), dok se kod primarnih kutanih velikostaničnih anaplastičnih limfoma navedena translokacija uvijek dokaže (3,51,52).

Velika morfološka studija na 754 bioptička uzorka 427 bolesnika s ranim stadijem MF (*patch* lezije) provedena je u Klinici za dermatologiju Medicinskog fakulteta u Grazu. U svih bolesnika dijagnoza je postavljena na temelju kliničko-patohistološke korelacije. Rezultati ove studije su pokazali da je najčešći patohistološki uzorak sadržavao vrpčasti ili krpičasti lihenoidni dermalni infiltrat limfocita pomiješan s grubim nakupinama kolagenih vlakana u površinskom dermisu. U većini slučajeva je nađen neki od oblika epidermotropizma uključujući

epidermotropizam pojedinačnih limfocita, Pautrierove mikroapscese, *halo* limfocite i disproporcionalnu egzocitozu. U 4% slučajeva epidermotropizam je bio odsutan, atipični limfociti bili su prisutni u samo 9% slučajeva, dok je *interface* dermatitis bio prisutan u 59% slučajeva. Tijekom ovog istraživanja opaženo je i nekoliko neobičnih karakteristika: prisutnost nekrotičnih keratinocita (23%), melanofaga (8%) i ekstravaziranih eritrocita (4%). Ova studija je također pokazala da su u brojnim slučajevima kliničko-histološka korelacija i ponavljanje biopsije neophodni za postavljanje dijagnoze (14). Savjetuje se uvijek učiniti više od jedne biopsije različitih lezija kako se bi se osiguralo dovoljno materijala za daljnje imunohistokemijske i molekularne postupke (3,15).

Brojne studije nisu uspjele identificirati pouzdani biljeg za dijagnozu ranog stadija MF. Novija istraživanja su ispitavala vrijednost nekoliko tumorskih biljega (CA27.29, transtiretina, proteina-10 specifičnog za testis), ekspresiju citokina mononukleara u perifernoj krvi i cirkulirajućih CD8+ limfocita MF, ali njihova vrijednost još nije potvrđena (3,53–55).

Određivanje stadija bolesti provodi se prema TNMB klasifikaciji Međunarodnog društva za kožne limfome i Europske organizacije za istraživanje i liječenja raka (*eng. International Society for Cutaneous Lymphoma and European Organization for Research and Treatment of Cancer, ISCL/EORTC*) prilagođenoj za MF. U ranom stadiju MF je dovoljno učiniti fizikalni pregled kojim se procjenjuje postotak zahvaćenosti površine tijela i površinskih limfnih čvorova. Pretrage u svrhu određivanja stadija bolesti u bolesnika s plakovima, tumorskim tvorbama ili eritrodermijom uključuju: fizikalni pregled, laboratorijske pretrage, CT toraksa, abdomena i zdjelice te biopsiju koštane srži. Iskustva s magnetskom rezonancom (MR) i pozitronskom emisijskom tomografijom (PET) su oskudna pa se ove metode ne koriste rutinski.

1.3. Liječenje i prognoza

Liječenje MF se razlikuje obzirom na stadij bolesti i prethodnu terapiju. Unatoč desetljećima istraživanja, liječenje je još uvijek nezadovoljavajuće i dugotrajna remisija je rijetka. Prvi izbor u liječenju ranog stadija MF (stadij IA-IIA) uključuje psoralen u kombinaciji s UV-A (PUVA), interferon- α , retinoide ili kombinaciju navedena tri načina liječenja. PUVA liječenje se također primjenjuje u obliku PUVA kupki. Često se bolesnici s lokaliziranim *patchevima* mogu liječiti lokalnim steroidnim pripravcima. Alternativne terapijske mogućnosti su uskospektralno UVB zračenje (nbUVB, 311nm) i topička primjena citostatika (karmustin, mekloreタミン/dušikov plikavac, metotreksat) (3,56). Kožne promjene u bolesnika s ranim

stadijem MF mogu regresirati i nakon lokalne primjene placeba (57). Od retinoida, beksaroten se oralno i topički primjenjuje u liječenju MF u ranom i kasnom stadiju, samostalno ili u kombinaciji s drugim lijekovima. Velike multicentrične studije koje su uspoređivale samostalnu primjenu PUVA terapije s beksarotenom u ranom stadiju MF nisu pokazale razlike u ishodu liječenja (58). Tazaroten i alitretinoin su retinoidi također dostupni za topičku primjenu. Upalna reakcija je česta nuspojava lokalne primjene retinoida koja značajno ograničava njihovu primjenu na veliku kožnu površinu (3). Ozračenje kože cijelog tijela snopovima elektrona (*total skin electron beam therapy*) trebala bi biti rezervirana samo za liječenje uznapredovalih stadija MF (3,59–61). Postoje i mnogi drugi terapijski protokoli za liječenje rane MF, uključujući fotodinamsku terapiju s 5-aminolevulinskom kiselinom, topičku primjenu novih citostatika i imunomodulator imikvimod. Ne postoji dovoljno podataka o učinkovitosti ovih novih načina liječenja (3).

Za uznapredovali stadij MF također se koriste različiti oblici liječenja. Liječenje transplantacijom alogeničnih matičnih krvotvornih stanica pokazalo je vrlo dobre rezultate u nekoliko studija. Iako je toksičnost vrlo velika, ovaj način liječenja je obećavajući za uznapredovale stadije bolesti (3,62–64). Duarte R.F. i sur. analizirali su ishod prve transplantacije alogeničnih matičnih krvotvornih stanica od podudarnog HLA-identičnog srodnog (*matched related donor*) i nesrodnog darivatelja (*matched unrelated donor*) u bolesnika s uznapredovalim stadijem MF (n=36) i Sezary sindromom (n=24). Analiziran je ishod u vidu mortaliteta bez relapsa (*nonrelapse mortality*), relapsa/progresija (*relapse/progression*), preživljenja bez progresije (*progression-free survival*) i ukupnog preživljenja (*overall survival* - OS). Nakon medijana praćenja preživjelih bolesnika od 36 mjeseci (raspon 3-105 mjeseci), 32 bolesnika su bila živa (53%), a 28 bolesnika je umrlo (47%). Procijenjeno jednogodišnje ukupno preživljenje (*estimated-OS*) iznosilo je 66% dok je trogodišnje iznosilo 53%. Akutna reakcija presatka protiv primatelja (*acute graft-versus-host disease* – aGVHD) razvila se u 24 bolesnika u medijanu vremena od 39 tjedana (raspon od 13 do 96 dana) rezultirajući s 100-dnevnom kumulativnom incidencijom od 40%. Kronična reakcija prestaka protiv primatelja (*chronic GVHD* – cGVHD) razvila se u 16 bolesnika, medijan vremena iznosio je 228 posttransplantacijskih dana rezultirajući kumulativnom incidencijom 32% za jednogodišnje posttransplantacijsko razdoblje i 45% za trogodišnje posttransplantacijsko razdoblje. Mortalitet bez relapsa iznosio je 22% (n=13) s medijanom vremena od 52 dana (raspon od 8 do 403 dana) rezultirajući kumulativnom incidencijom od 20% za jednogodišnje razdoblje i 22% za razdoblje nakon 2 godine. Do relapsa/progresije bolesti došlo je u 26 bolesnika, od kojih je 15 bolesnika umrlo. Kumulativna incidencija

relapsa/progresije nakon transplantacije iznosila je 38% za jednogodišnje razdoblje i 47% za treću godinu i razdoblje nakon. Procijenjeno preživljenje bez progresije iznosilo je 42% za prvu godinu i 34% za treću postransplantacijsku godinu (62). Reakcija presatka protiv limfoma (*graft-versus-lymphoma effect*) vjerojatno pridonosi učinkovitosti ovog načina liječenja (62,63).

Bolesnici u tumorskom stadiju MF obično dobro odgovaraju na monokemoterapiju, sustavnu kemoterapiju (npr. CHOP protokolom) i druge oblike imunomodulatornog liječenja, ali recidivi su nažalost pravilo. Testiran je velik broj lijekova, uključujući inhibitore histon-deacetilaze panobinostat, romidepsin i vorinostat, inhibitor proteasoma bortezomib, citostatike gemcitabin i fludarabin, protu-CD4 monoklonsko protutijelo zanolimumab, pegilirani liposomalni doksorubicin, protu-CD52 monoklonsko protutijelo alemtuzumab, denileukin diftitoks i interleukin 12. Niti jedan od njih nije za sada potisnuo druge, tako da se liječenje obično započinje najmanje agresivnom terapijom, peroralnim metotreksatom (3,58,65–70). U uznapredovalim stadijima bolesti primjenjuju se i ekstrakorporalna fotofereza i zračenje kože cijelog tijela snopovima elektronima. Radioterapija velikih tumorskih lezija je palijativna metoda za poboljšanje kvalitete života. Istraživanja liječenja tumorskim vakcinama nisu dala obećavajuće rezultate (3).

U kontroliranim kliničkim studijima do sada nije sustavno istraživana kvaliteta života bolesnika s MF što predstavlja velik nedostatak i u budućnosti bi trebalo detaljno ispitati sve aspekte kvalitete života bolesnika osobito u kasnom stadiju MF. U nekih, primjerice onih s pilotropnim MF, pruritus je toliko izražen da može inducirati suicid (3).

Posljednjih godina objavljeno je nekoliko slučajeva progresije neprepoznate MF u tumorski stadij nakon što su bolesnici liječeni različitim biološkim lijekovima zbog drugih bolesti. Ovi slučajevi naglašavaju potrebu za točnom i preciznom dijagnozom upalnih kožnih bolesti koje se tretiraju imunomodulatorima jer pogrešna dijagnoza može imati ozbiljne posljedice (71–74).

MF je indolentni limfom, razdoblje od pojave najranijih lezija do tumora i ekstrakutanog širenja može trajati više godina ili čak desetljeća. Razvoj plakova i/ili tumora ili velikostanična transformacija značajke su terminalnog stadija bolesti, no i ti bolesnici nerijetko prežive nekoliko godina. Kako se bolest najčešće javlja u starijoj životnoj dobi, većina bolesnika ne progredira u uznapredovali stadij i umire od uzroka nepovezanih s MF. Smatra se da samo oko 15-20% bolesnika umire od MF (75). U bolesnika u stadiju IA/IB godišnja stopa progresije bolesti u tumorski stadij je oko 1-2% (76). Najvažniji prognostički parametri su stadij bolesti u trenutku postavljanja dijagnoze, odsutnost kompletne remisije nakon prvog liječenja, dob,

serumske vrijednosti LDH i rasa. Dvojbeno je prognostička vrijednost parametra spola. Velikostanična transformacija MF, plakovi, zahvaćenost folikula korijena dlake (folukulotropizam) i dermatopatski limfni čvorovi su povezani s lošijom prognozom (3,8). Smatra se da nema razlike u prognozi između tumorskog oblika bolesti i eritrodermijske (76). Kada dođe do ekstrakutanog širenja MF, inicijalni prognostički parametri više nemaju utjecaj na preživljenje i prognoza je loša (7,77).

Vergier B. i sur. su istraživanjem MF kod 419 bolesnika utvrdili da se velikostanična transformacija dogodila u četrdeset i pet bolesnika. Medijan trajanja kožnih promjena prije velikostanične transformacije iznosio je četrnaest godina. U većini slučajeva velikostanična transformacija je nastupila kada su se pojavili tumori na koži (40/45), a u nekoliko slučajeva (5/45) prije pojave tumorskih stadija i utvrđena je u biopsijskim uzorcima iz *patcheva* i plakova. Velikostanična transformacija u tumorskim lezijama je bila povezana s povećanim brojem velikih stanica (više od 50%) i manje izraženim epidermotropizmom u usporedbi s plakovima. U svim slučajevima (45/45) transformirane velike stanice imale su T-stanični imunofenotip (CD3+), samo jedan slučaj bio je CD8+ (1/45), a svi ostali su bili CD4+ (44/45). Ekspresija CD30 u slučaju velikostanične transformacije utvrđena je u 31% slučajeva (14/45), dok je komponenta velikih histiocita (CD68+) utvrđena u 67% slučajeva (27/40), a komponenta B-limfocita u 45% (18/40). Ekstrakutana progresija MF s velikostaničnom transformacijom utvrđena je u dvadeset bolesnika unutar šest mjeseci. Nakon medijana praćenja od 26,5 mjeseci umrlo je 26 bolesnika, 22 od limfoma, a 4 od drugih uzroka. Medijan preživljenja nakon transformacije iznosio je 36 mjeseci. Studija je pokazala da ni manji postotak velikih stanica niti prisutnost CD30+, CD20+ ili CD68+ stanica nisu povezani s boljom prognozom u slučaju velikostanične transformacije MF (20).

Za procjenu prognoze bolesnika s MF i Sezaryjevim sindromom predložen je internacionalni prognostički indeks za kožne limfome (engl. *Cutaneous Lymphoma International Prognostic index - CLIPi indeks*). Razvijena su dva modela, za rani i kasni stadij MF. Nepovoljni prognostički čimbenici u ranom stadiju su muški spol, dob iznad 60 godina, prisutnost plakova, zahvaćenost folikula korijena dlake i stadij N1/Nx, a u uznapredovalom stadiju muški spol, dob iznad 60 godina, stadij B1/B1 i N2/N3 te zahvaćenost vicerálnih organa. Bolesnici s 0-1 parametrom imaju niski rizik, s 2 umjereni, a s 3-5 visoki (3,78). Novija studija pokazala je da *CLIPi indeks* u bolesnika s ranim stadijem MF nije od prognostičkog značenja pa je njegova vrijednost upitna (79).

Sveukupno uzevši, iako je većina terapija uspješna u ranim fazama bolesti i postignute remisije mogu biti dugotrajne, nema izlječenja. Iznimku mogu predstavljati bolesnici sa solitarnim lezijama, no i njih treba doživotno pratiti.

Obzirom da dosadašnja istraživanja nisu ispitivala postoji li korelacija inicijalnih histoloških i imunohistokemijskih svojstava limfoma (lihenoidni dermalni infiltrat limfocita, postojanje i veličina Pautrierovih mikroapscesa, prisutnost limfocita „čuvara“ u bazalnom sloju epidermisa, količina atipije limfocita, gubitak površinskih biljega T-limfocita CD2, CD3, CD5, CD7) s dobi, spolom, kliničkom slikom, trajanjem premikotičkog stadija, odgovorom na terapiju i pojavom recidiva, proveli smo ovo istraživanje na bolesnicima praćenima i liječenima na Klinici za dermatovenerologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

2. HIPOTEZA

Bolesnici s T-staničnim limfomom kože tipa MF u ranom stadiju (IA, IB i IIA) koji u prvoj biopsiji imaju gust lihenoidni dermalni infiltrat limfocita, velike Pautrierove mikroapscese (Darijerova gnijezda) i gubitak CD2 površinskog biljega, imat će agresivniji tijek bolesti i lošiju prognozu.

3. CILJEVI RADA

Opći je cilj istraživanja korelirati inicijalna histološka, imunohistokemijska i klinička obilježja pri dijagnozi s tijekom bolesti u bolesnika oboljelih od primarnog T-staničnog limfoma kože tipa MF.

Specifični su ciljevi:

- a) odrediti koje morfološke značajke u inicijalnoj biopsiji koreliraju s tijekom bolesti,
- b) odrediti demografska (dob i spol) i klinička obilježja bolesnika koja koreliraju s tijekom bolesti,
- c) odrediti učestalost bolesnika s MF u kojih je primarno postavljena dijagnoza parapsorijaze,
- d) utvrditi trajanje premikotičkog stadija u bolesnika s MF u kojih je primarno postavljena druga histološka dijagnoza poput psorijaze, atopijskog dermatitisa i sl.

4. ISPITANICI, MATERIJAL I METODOLOGIJA ISTRAŽIVANJA

U ovu retrospektivno-prospektivnu studiju bili su uključeni bolesnici kojima je u razdoblju od siječnja 2003. do prosinca 2012. u Klinici za dermatovenerologiju i Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb postavljena dijagnoza MF u ranom stadiju (IA, IB, IIA) i koji su imali potpune kliničke podatke te dovoljno pohranjenog uzorka za dodatnu histološku i imunohistokemijsku analizu. U studiju su bila uključena 83 bolesnika. Iz studije su bili isključeni bolesnici kojima je postavljena sumnja na MF, a histološka analiza i klinički tijek nisu potvrdili dijagnozu te oni koji nisu imali dovoljno uzoraka za dodatne analize.

Iz postojeće medicinske dokumentacije analizirana je dob, spol, klinička slika, trajanje premikotičkog stadija, odgovor na terapiju, pojava recidiva i progresije bolesti. U određivanju stadija bolesti korištena je TNMB klasifikacija za MF/SS Međunarodnog društva za kožne limfome i Europske organizacije za istraživanje i liječenja raka. Klinička slika je definirana vrstom kožnih lezija (*patch*, plak, tumor), proširenošću kožnih lezija ($\leq 10\%$ površine tijela, $>10\%$ površine tijela) i veličinom limfnih čvorova (uvećani, neuvećani). Progresija bolesti je definirana barem jednim od sljedećih kriterija: a) progresija iz plak u tumorsku fazu ili u eritrodermiju, b) histološki potvrđena zahvaćenost limfnog čvora u bolesnika u kojeg je bolest bila ograničena na kožu, c) visceralna zahvaćenost u bolesnika u kojeg je bolest prethodno bila ograničena na kožu ili limfne čvorove, d) smrt zbog limfoma. Odgovor na terapiju definiran je kao a) potpuni odgovor (potpuna klinička regresija svih MF lezija), b) djelomičan odgovor (svaki odgovor manji od potpunog), c) bez odgovora (bez vidljivog kliničkog odgovora na terapiju).

Koristili smo uzorke kože bolesnika koji su pohranjeni u arhivi Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb. Uzorci su fiksirani u 10% puferiranom formalinu, dehidrirani u koncentracijama alkohola, uklopljeni u parafinske blokove te rezani na rezove debljine 4 mikrona nakon čega su bojani standardnom metodom hemalaun eozinom, a potom i imunohistokemijskom metodom koristeći komercijalno dostupna protutijela za CD2 (klon AB75, Novocastra, UK), CD3 (klon F7.2.38, Dako, Danska), CD4 (klon 4B12, Dako, Danska), CD5 (klon 4C7, Dako, Danska), CD7 (klon CBC.37, Dako, Danska) i CD8 (klon C8/144B, Dako, Danska). Za demaskiranje antigena koristili smo mikrovalnu pećnicu (95°C, 15 minuta, Target retrieval otopina pH 9,0). Za vizualizaciju ekspresije biljega koristili smo standardnu avidin-biotin imunohistokemijsku metodu (LSAB, Dako, Glostrup, Denmark) koristeći automatski stroj za bojenje (TechMate, Dako) koji koristi

kapilarnu aktivnost. Pozitivnom reakcijom za protutijela CD2, CD3, CD4, CD5, CD7 i CD8 smatra se membransko obojenje membrane tumorskih stanica. Napravljena su pozitivna kao i negativna kontrolna bojenja. Pozitivna vanjska kontrola je tkivo limfnog čvora.

U navedenim preparatima analizirani su slijedeći histološki i imunohistokemijski parametri 1) količina lihenoidnog dermalnog infiltrata limfocita (klasificiran semikvantitativno kao oskudan, srednje gust ili gust) 2) Pautrierovi mikroapscesi (intraepidermalne nakupine atipičnih limfocita) klasificirani kao nepostojanje, postojanje malih (3-10 atipičnih limfocita u nakupini) ili postojanje velikih (više od 10 atipičnih limfocita, 3) limfociti „čuvari“ u bazalnom sloju epidermisa (najmanje 4 limfocita u nizu) prikazani kao broj uzastopnih limfocita na broj keratinocita, 4) količina atipije limfocita određena semikvantitativno kao nepostojanje atipije limfocita, $\leq 10\%$, $\leq 50\%$ ili $> 50\%$ limfocita pokazuje znakove atipije, 5) gubitak površinskih biljega T limfocita CD2, CD3, CD5 i/ili CD7 (kao kriterij gubitka određenog biljega uzeli smo da je najmanje 30% limfocita izgubilo traženi biljeg). Navedeni histološki kriteriji kvantificirani su u preparatima na 10 vidnih polja.

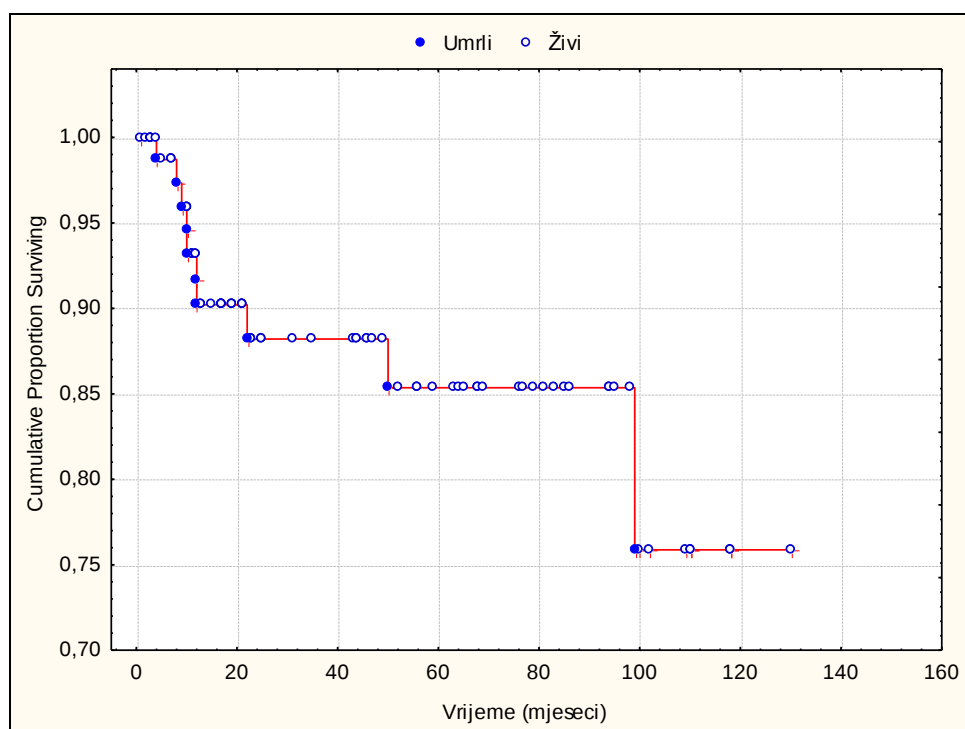
Za statističku analizu korišteni su odgovarajući parametrijski i neparametrijski testovi. Statistički značajnim rezultatima smatrani su rezultati s p vrijednostima manjim od 0,05 ($p < 0,05$). U obradi je analiziran utjecaj svake od promatranih varijabli na progresiju bolesti i na smrtni ishod. Kvalitativne varijable prikazane su apsolutnim brojevima i u postotcima. Njihova povezanost s progresijom i smrtnim ishodom testirana je hi-kvadrat testom. Kvantitativne varijable prikazane su medijanom i pripadajućim rasponom. Njihove razlike obzirom na progresiju i smrtni ishod testirane su neparametrijskim Mann-Whitney U testom. Povezanost početnog stadija bolesti i stadija nakon progresije ispitana je neparametrijskom Spearmanovom korelacijom. Relativan rizik za ispitivani ishod (progresija ili smrt) za svaku varijablu posebno analiziran je logističkom regresijom. Preživljenje i vrijeme do progresije prikazano je Kaplan-Meierovim krivuljama preživljenja, a razlike u preživljenju između pojedinih skupina bolesnika ispitane su log-rank testom i hi-kvadrat testom. Statistička analiza podataka napravljena je na osobnom računalu u programu *Statistica for Windows*, ver. 6.0.

5. REZULTATI

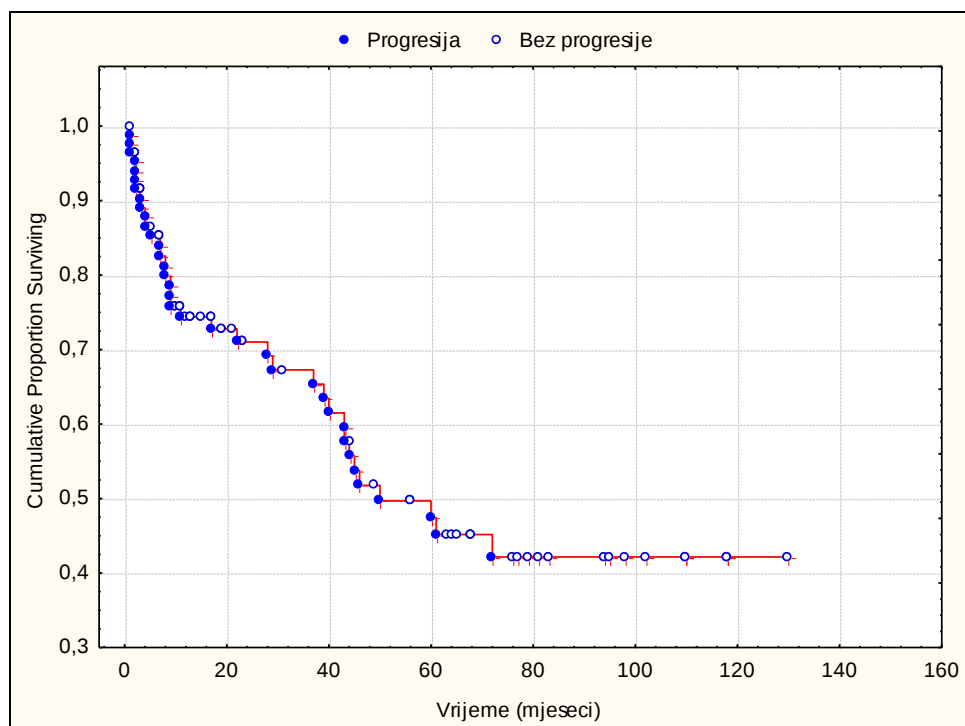
U istraživanje je uključeno 83 bolesnika u dobi od 7 do 85 godina, prosječne starosti 60 godina (Tablica 1). Od toga su 49 bili muškarci prosječne dobi 63 godine (7–85), a 34 žene prosječne dobi 59,5 godina (25–82). Prilikom postavljanja dijagnoze, u stadiju IA je bilo 27 bolesnika, u stadiju IB 35 bolesnika i u stadiju IIA 21 bolesnik. Medijan praćenja bolesnika bio je 25 mjeseci (raspon 1-130). U 36 (43%) bolesnika je došlo do progresije bolesti. Medijan preživljenja bez progresije bolesti je 48 mjeseci (Dijagram 2). Umrlo je 10 bolesnika (12%), svi od limfoma nakon progresije bolesti. Petogodišnje preživljenje je 86%. (Dijagram 1). Medijan preživljenja nakon progresije je 58 mjeseci (Dijagram 3).

Tablica 1. Značajke svih ispitanika u uzorku

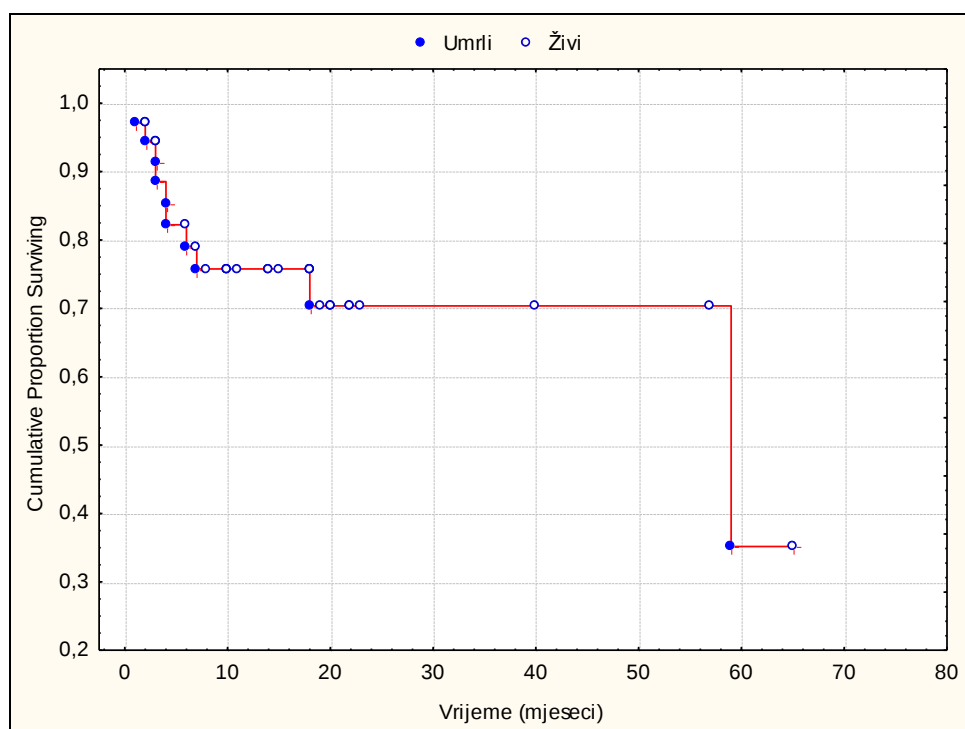
	BOLESNICI N = 83
DOB	60 (7 – 85)
SPOL	
muškarci	49 (59%)
žene	34 (41%)
STADIJ BOLESTI	
Ia	27 (33%)
Ib	35 (42%)
IIa	21 (25%)
PARAPSORIJAZA	60 (72%)
KLINIČKA SLIKA	
<i>patch</i>	27 (33%)
plak	56 (67%)
tumor	0
TRAJANJE PREMIKOTIČKOG STADIJA (mj.)	48 (0 – 240)
PROŠIRENOST LEZIJA	
≤10% površine kože	26 (31%)
>10% površine kože	57 (69%)
POVEĆANI LIMFNI ČVOROV	21 (25%)
PROGRESIJA BOLESTI	36 (43%)
SMRTNI ISHOD	10 (12%)
ODGOVOR NA TERAPIJU	
bez odgovora	9 (11%)
djelomičan odgovor	37 (45%)
potpun odgovor	37 (45%)
LIHENODINI DERMALNI INFILTRAT	
oskudan	22 (26%)
srednje gust	37 (45%)
gust	24 (29%)
PAUTRIEROVI MIKROAPSCESI	
nema	33 (40%)
mali	38 (46%)
veliki	12 (14%)
LIMFOCITI ČUVARI (ima)	63 (76%)
≤30/100 keratinocita	49 (59%)
>30/100 keratinocita	34 (41%)
ATIPIJA LIMFOCITA	
nema	3 (4%)
≤10%	44 (53%)
10 – 50%	23 (28%)
>50%	13 (16%)
GUBITAK CD2	9 (11%)
GUBITAK CD3	0
GUBITAK CD5	9 (11%)
GUBITAK CD7	60 (72%)



Dijagram 1. Krivulja ukupnog preživljenja

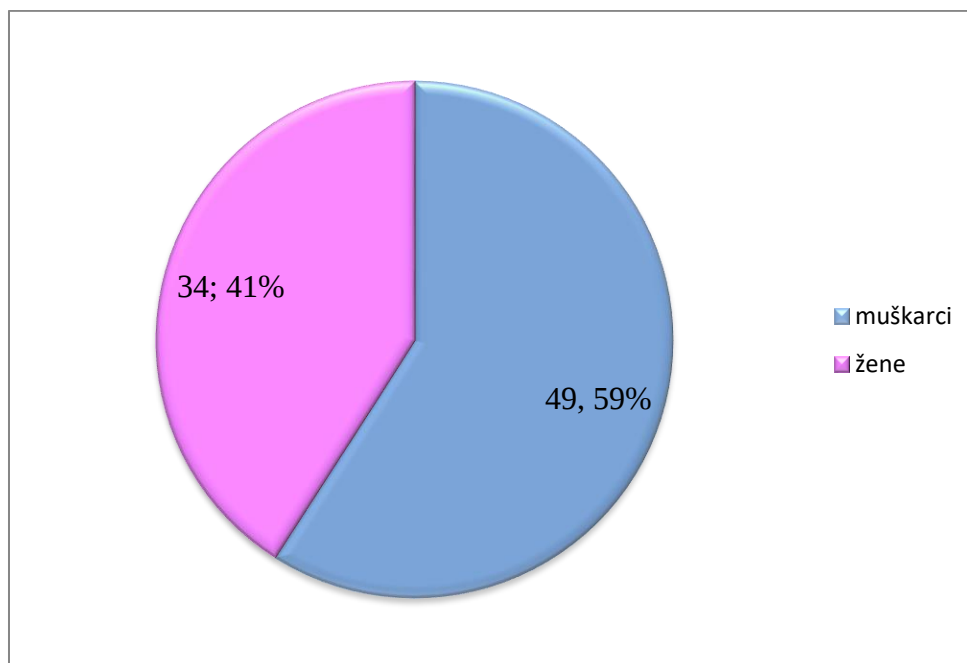


Dijagram 2. Krivulja preživljenja do pojave progresije



Dijagram 3. Krivulja preživljenja nakon progresije

Među bolesnicima je 49 muškaraca prosječne dobi 63 godine (raspon dobi 7 – 85) i 34 žene prosječne dobi 59,5 godina (raspon dobi 25 – 82). Razlika u dobi muškaraca i žena nije statistički značajna.

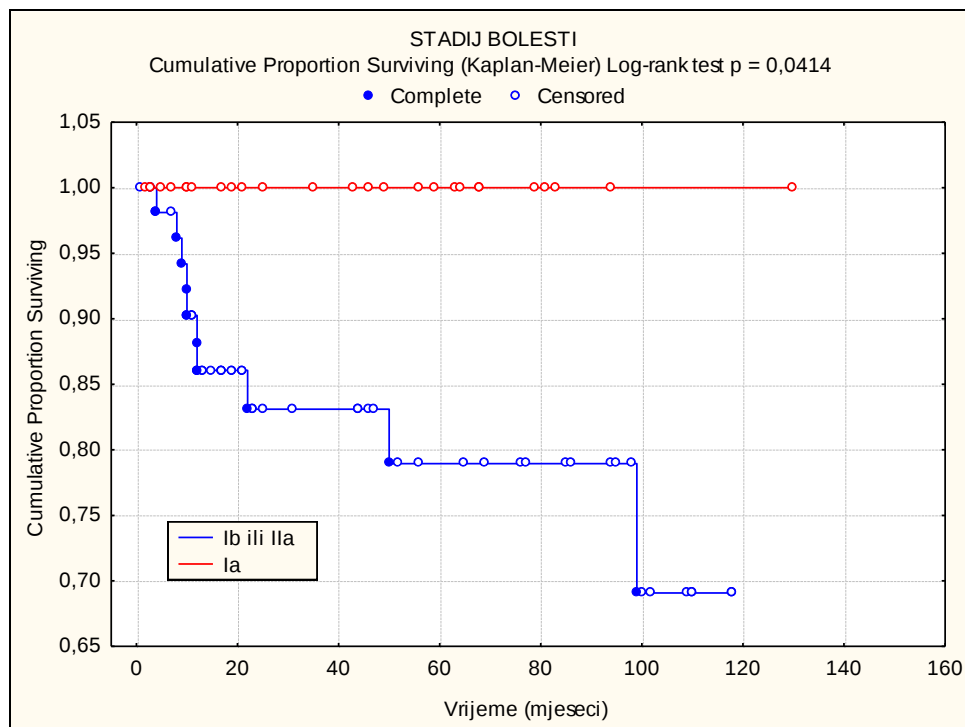


Dijagram 4. Udio bolesnika prema spolu

5.1. Preživljenje

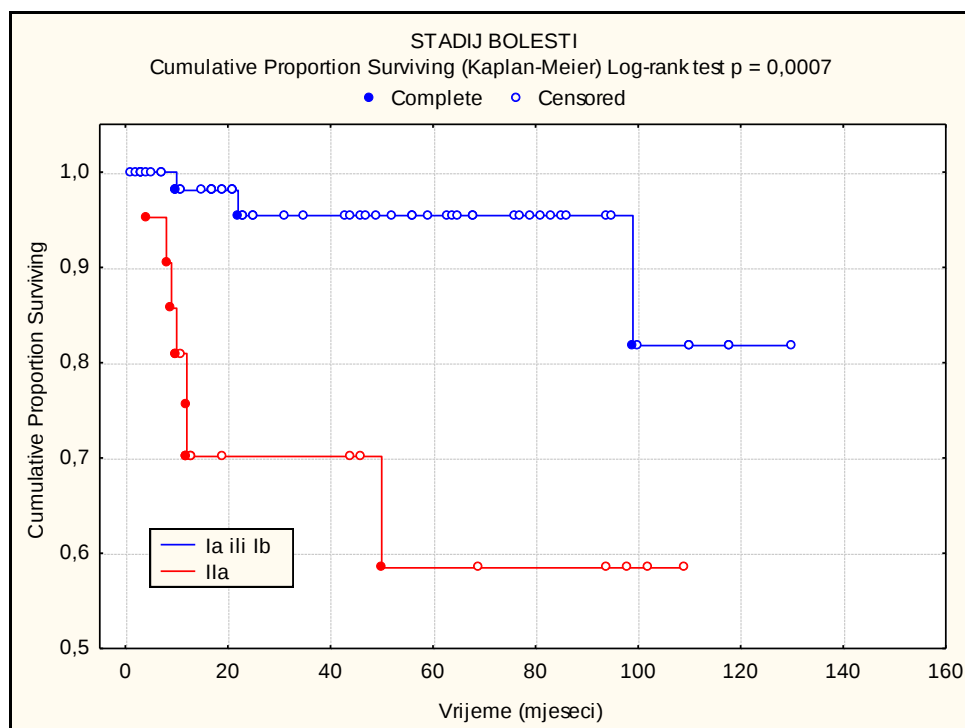
5.1.1. Početni stadij bolesti

Bolesnici s početnim stadijem bolesti IA imali su bolje preživljenje nego oni sa stadijem IB ili IIA. Razlika je statistički značajna.



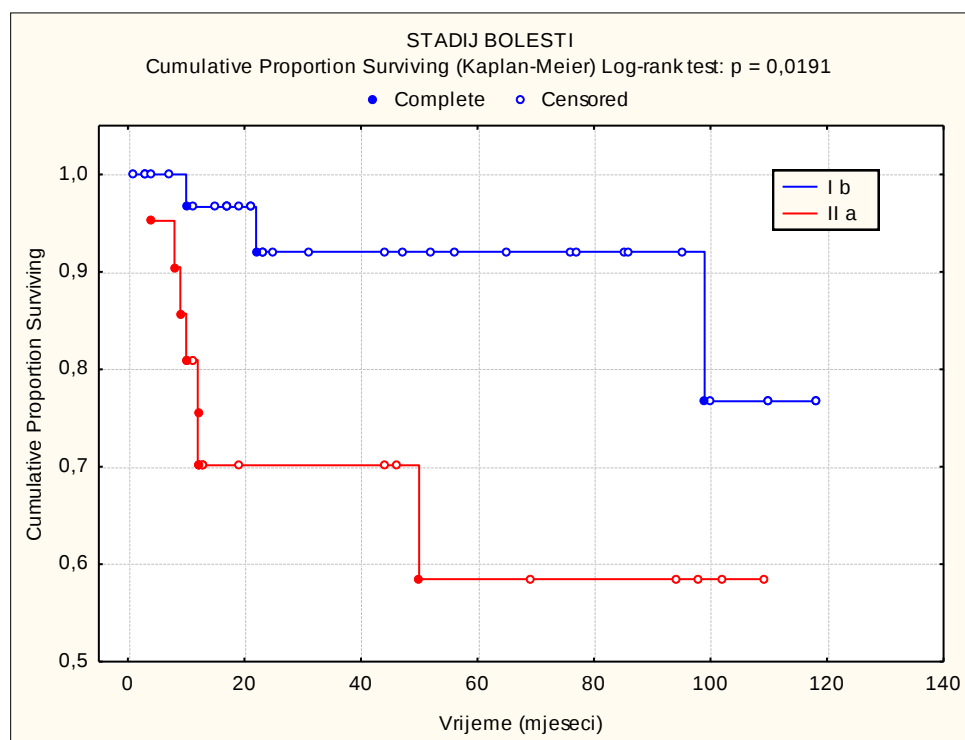
Dijagram 5. Početni stadij bolesti – preživljenje

Bolesnici s početnim stadijem IIA imali su lošije preživljenje od onih s početnim stadijem IA i IB. Razlika je statistički značajna.



Dijagram 6. Početni stadij bolesti – preživljenje

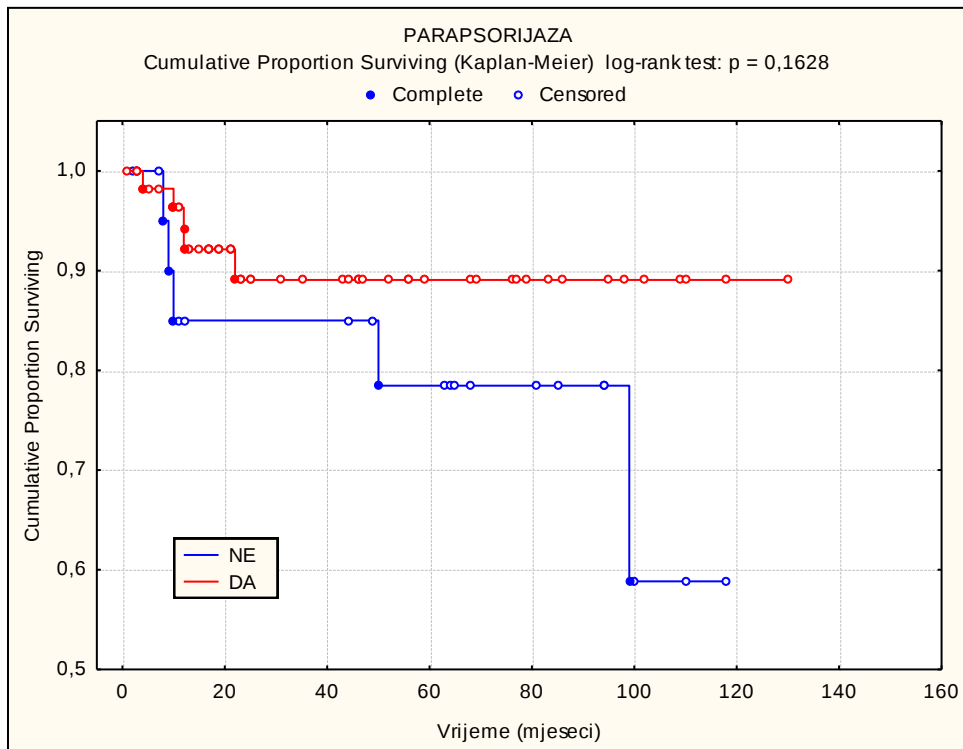
Bolesnici s početnim stadijem bolesti IIA imali su lošije preživljenje od onih sa stadijem IB. Nitko od bolesnika s početnim stadijem IA nije umro.



Dijagram 7. Početni stadij bolesti - preživljenje

5.1.2. Parapsorijaza

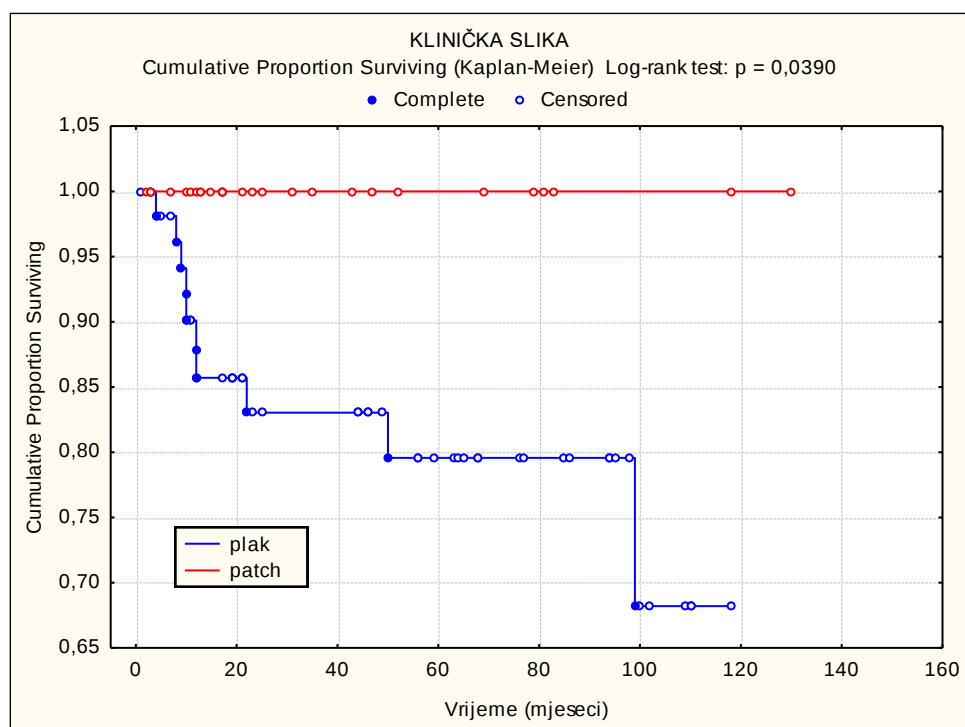
Nema statistički značajne razlike u preživljenju bolesnika s obzirom na parapsorijazu.



Dijagram 8. Parapsorijaza - preživljenje

5.1.3. Početna klinička slika

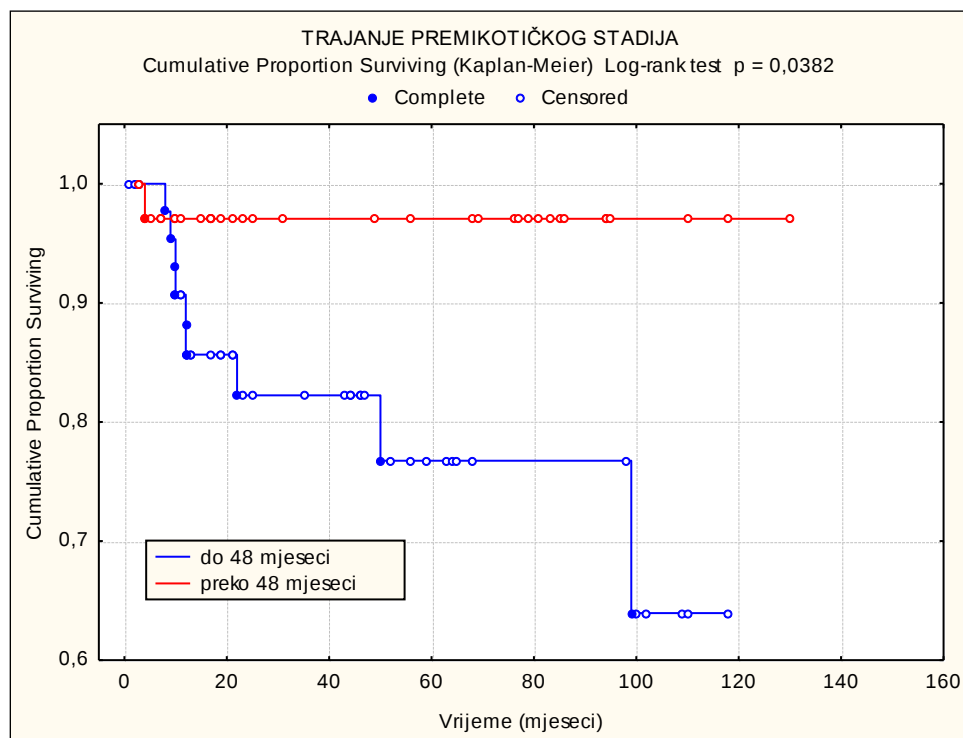
Bolesnici s plakovima u početnoj kliničkoj slici imali su lošije preživljenje u odnosu na one s *patchevima*. Razlika je statistički značajna. Nitko od praćenih bolesnika nije imao tumor prilikom postavljanja dijagnoze.



Dijagram 9. Početna klinička slika - preživljenje

5.1.4. Trajanje premikotičkog stadija

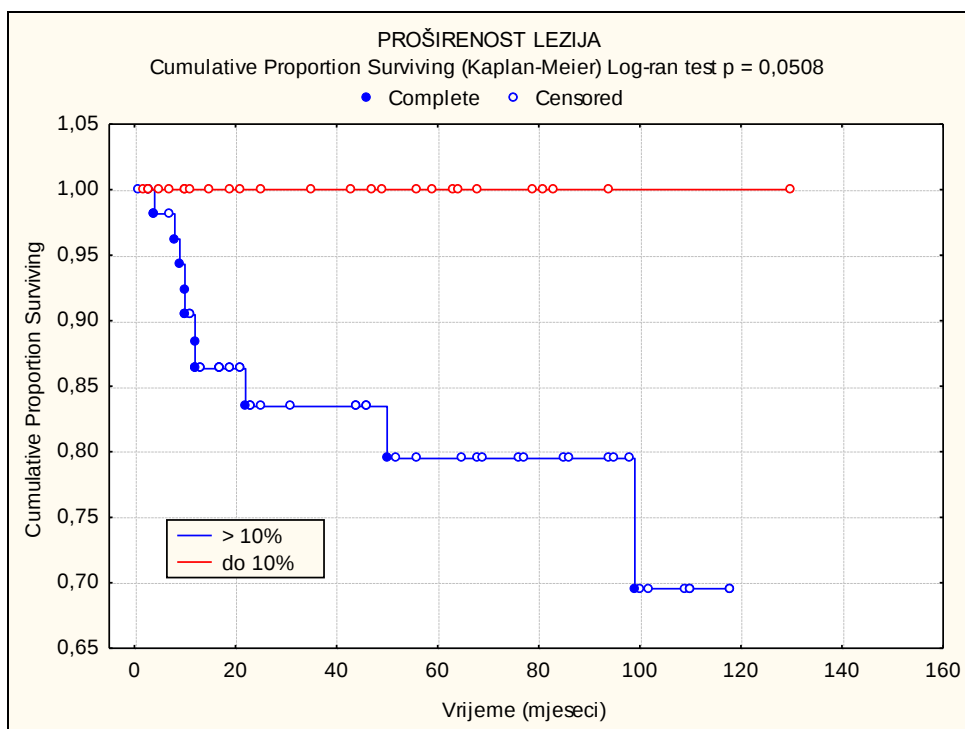
Lošije su preživljenje imali bolesnici u kojih je premikotički stadij trajao 48 mjeseci i kraće u odnosu na one u kojih je trajao više od 48 mjeseci. Razlika je statistički značajna.



Dijagram 10. Trajanje premikotičkog stadija – preživljenje

5.1.5. Proširenost kožnih lezija

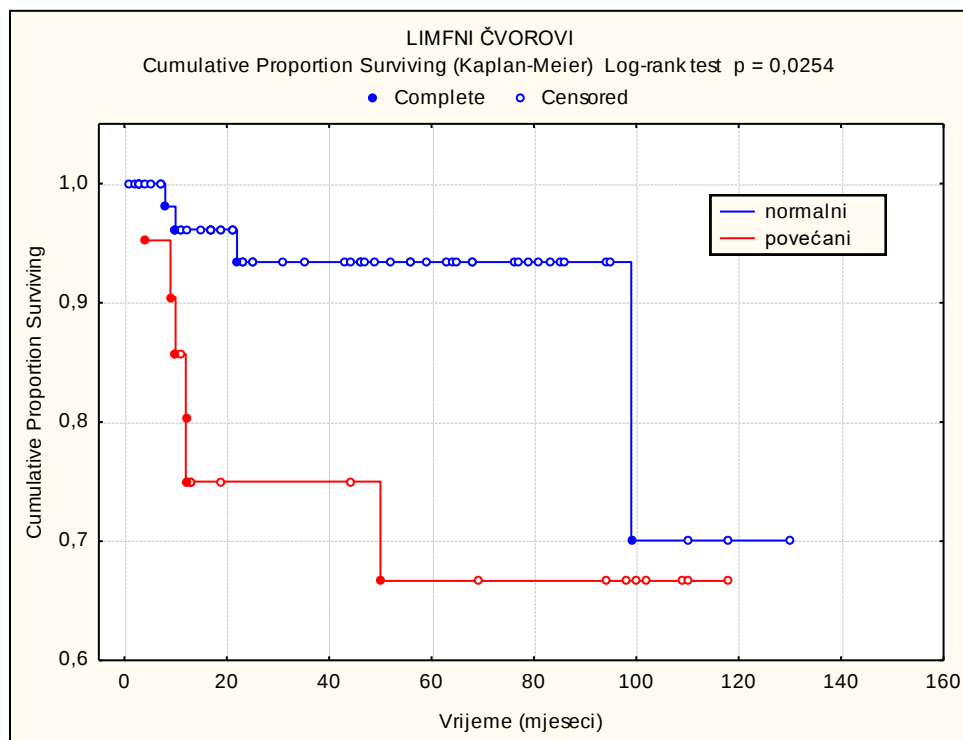
Bolesnici u kojih su kožne lezije zahvaćale više od 10% ukupne površine kože imali su lošije preživljenje od onih u kojih su kožne lezije zahvaćale manje od 10% ukupne površine kože. Razlika u preživljenju je na granici statističke značajnosti.



Dijagram 11. Proširenost kožnih lezija– preživljenje

5.1.6. Limfni čvorovi

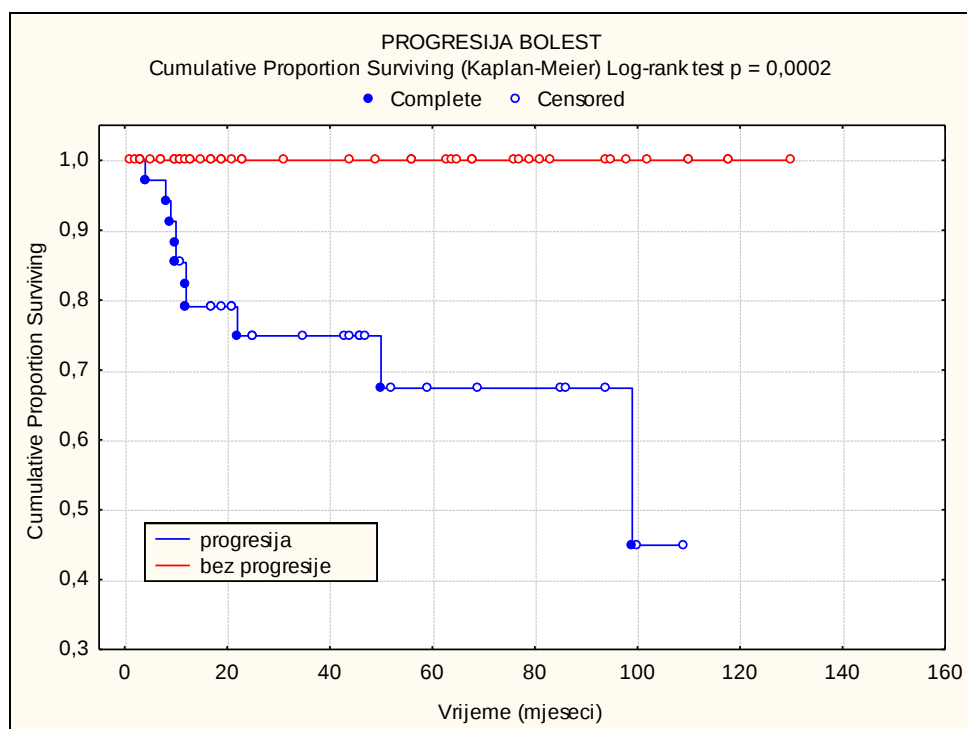
Lošije su preživljenje imali bolesnici s povećanim limfnim čvorovima u odnosu na one s normalnim limfnim čvorovima. Razlika u preživljenju je statistički značajna.



Dijagram 12. Limfni čvorovi - preživljenje

5.1.7. Progresija bolesti

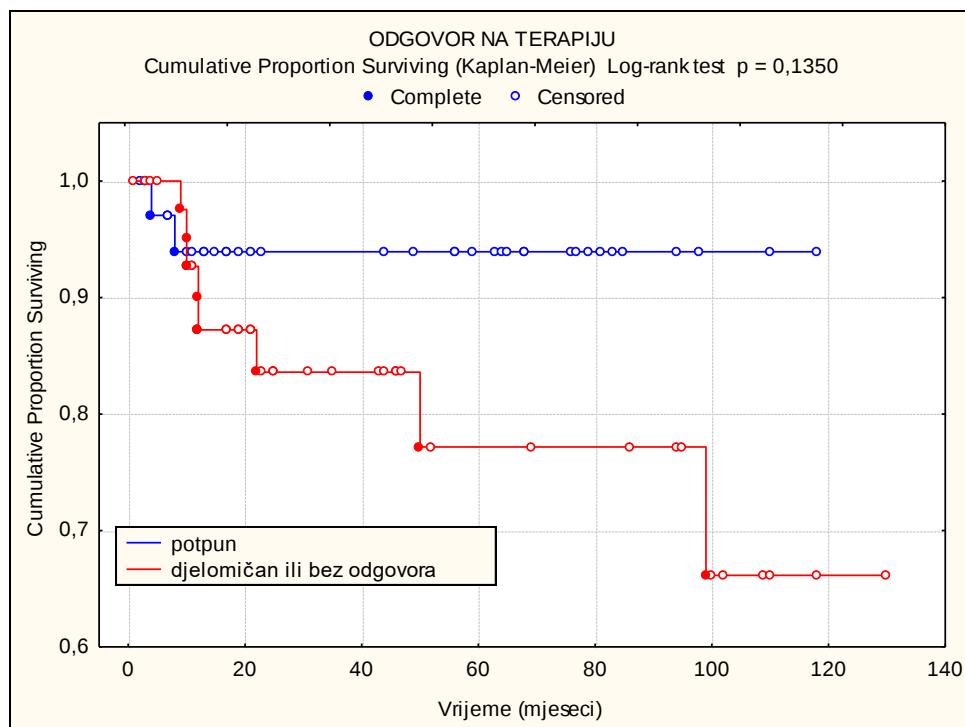
Bolesnici u kojih je došlo do progresije bolesti imali su lošije preživljenje od onih bez progresije. Razlika u preživljenju je statistički značajna.



Dijagram 13. Progresija bolesti – preživljenje

5.1.8. Odgovor na terapiju

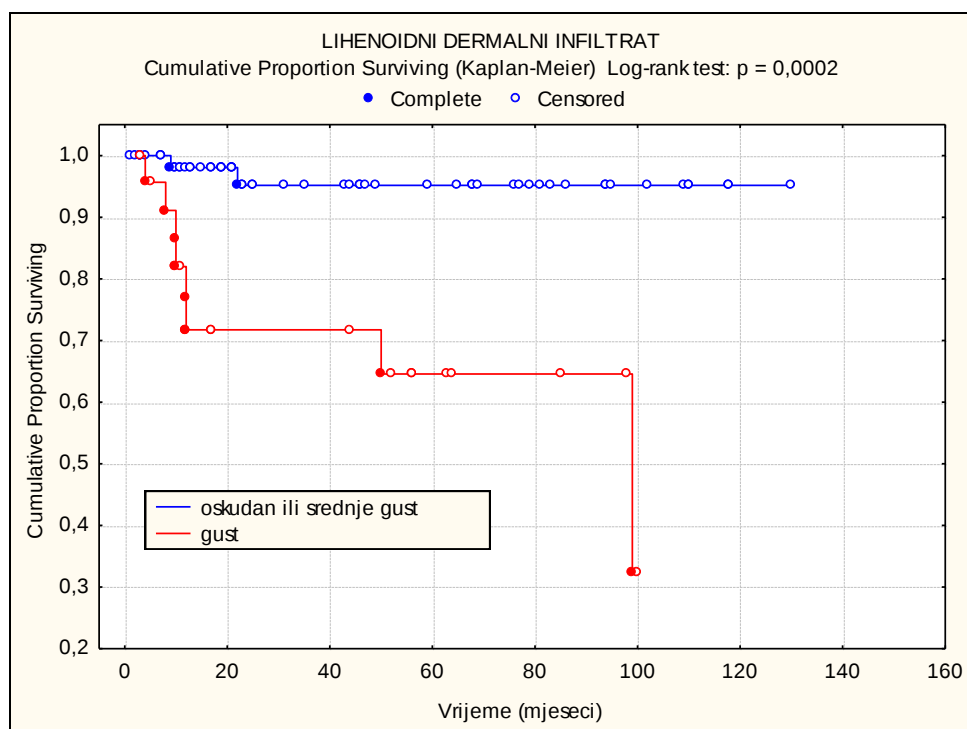
Nema statistički značajne razlike u preživljenju između bolesnika koji jesu i nisu potpuno odgovorili na liječenje, no razlika između onih koji su barem djelomično odgovorili i nisu uopće je izrazito značajna ($p < 0,0001$).



Dijagram 14. Odgovor na terapiju - preživljenje

5.1.9. Lihenoidni dermalni infiltrat

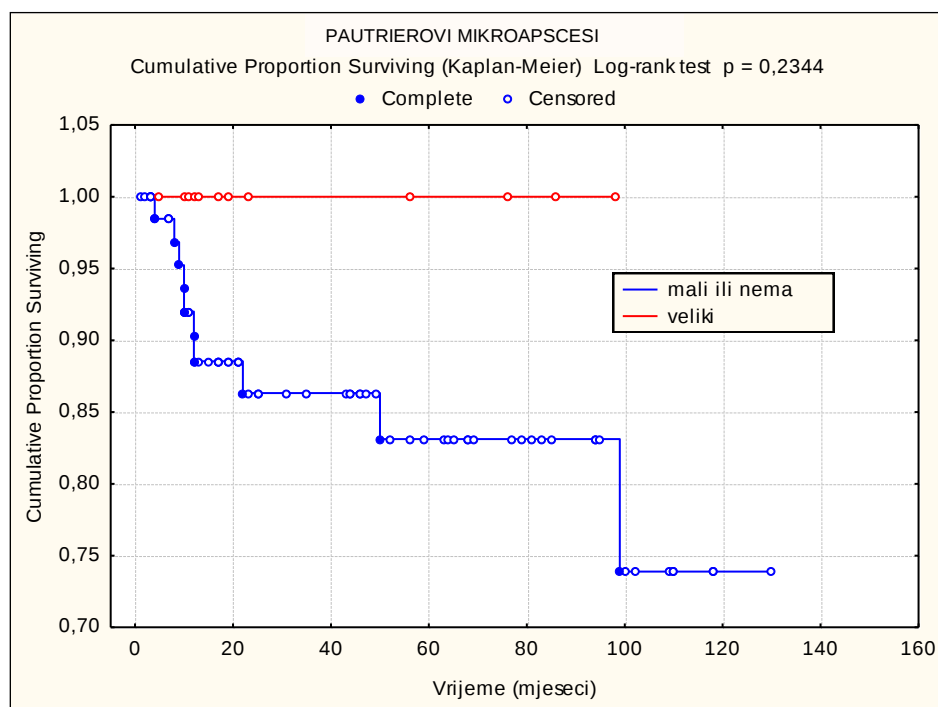
Bolesnici s gustim lihenoidnim dermalnim infiltratom imali su lošije preživljenje od onih s oskudnim i srednje gustim lihenoidnim dermalnim infiltratom. Razlika je statistički značajna.



Dijagram 15. Lihenoidni dermalni infiltrat - preživljenje

5.1.10. Pautrierovi mikroapscesi

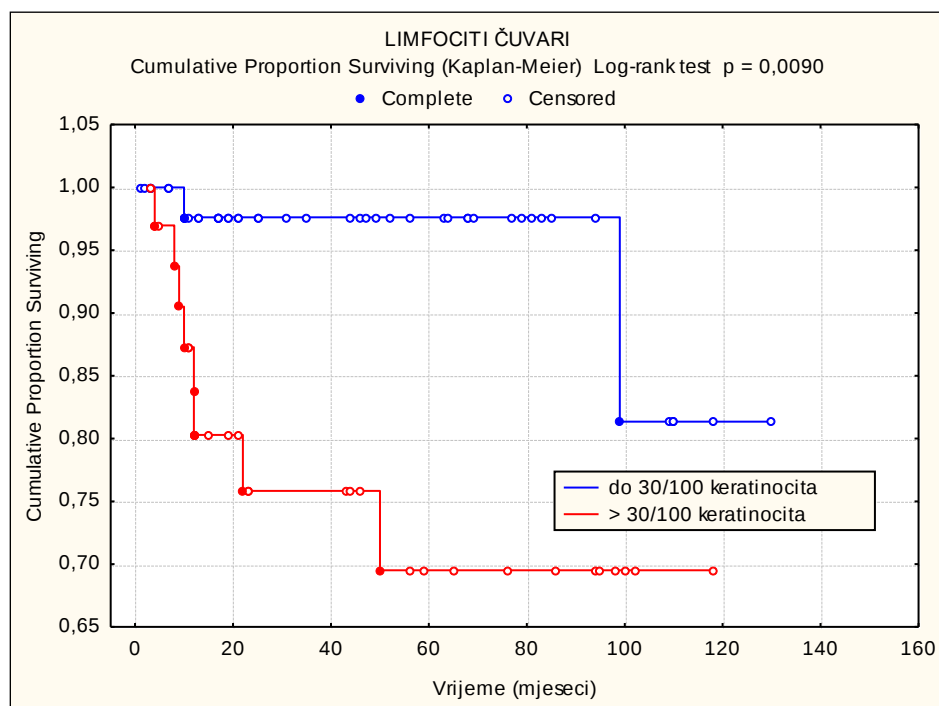
Nitko od bolesnika s velikim Pautrierovim mikroapscesima nije umro u promatranom razdoblju.



Dijagram 16. Pautrierovi mikroapscesi - preživljenje

5.1.11. Limfociti „čuvari“

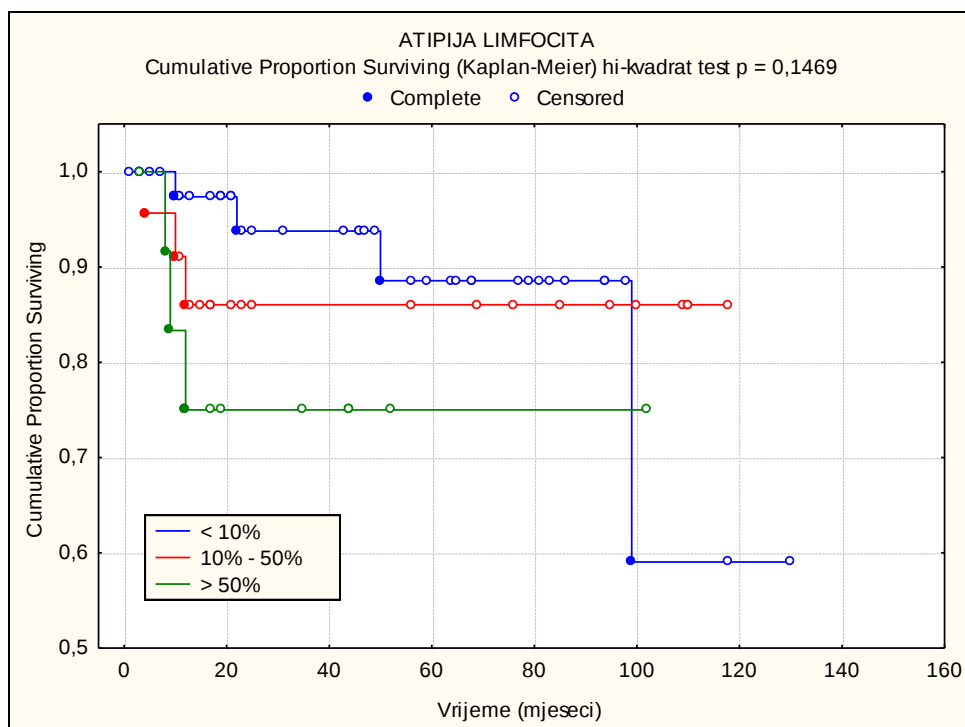
Bolesnici s više od 30 limfocita „čuvara“ na 100 keratinocita imali su lošije preživljenje od onih s 30 i manje limfocita „čuvara“ na 100 keratinocita. Razlika je statistički značajna.



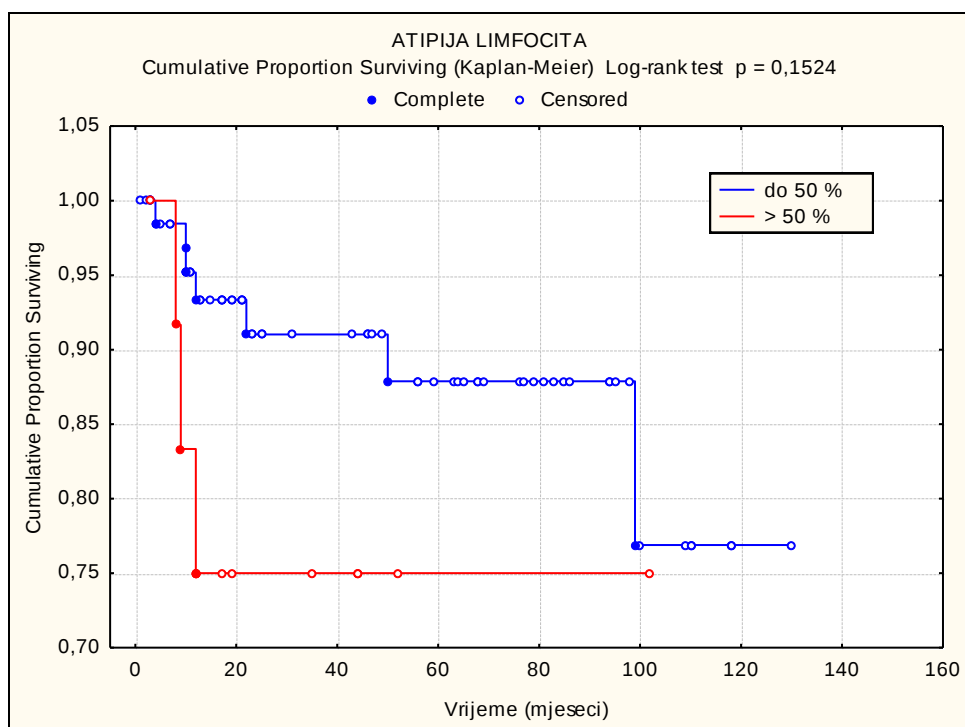
Dijagram 17. Limfociti „čuvari“ - preživljenje

5.1.12. Atipija limfocita

Bolesnici s više od 50% atipičnih limfocita imaju trend lošijeg preživljenja od onih s 50% i manje atipičnih limfocita, ali razlika nije statistički značajna.



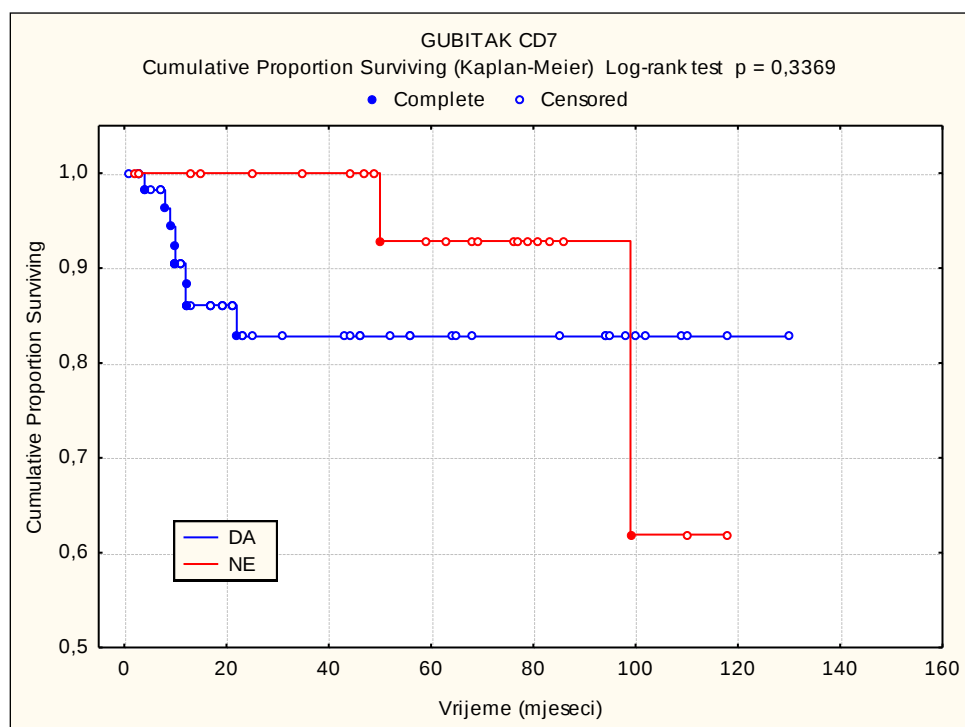
Dijagram 18. Atipija limfocita – preživljenje



Dijagram 19. Atipija limfocita – preživljenje

5.1.13. Gubitak CD2, CD3, CD5 i CD7

Gubitak CD2, CD5 i CD7 ne utječe na preživljenje. Nema statistički značajne razlike u preživljenju bolesnika s obzirom na gubitak CD2 (log-rank: $p = 0,2349$) i CD5 (log-rank: $p = 0,9050$). Nije bilo bolesnika s gubitkom CD3. Nema statistički značajne razlike u preživljenju bolesnika s obzirom na gubitak CD7.



Dijagram 20. Gubitak CD7

5.1.14. Razlike u preživljenju bolesnika s obzirom na sve ispitivane varijable

Tablica 2. Razlike u preživljenju bolesnika s obzirom na sve ispitivane varijable

	ŽIVI N = 73	UMRLI N = 10	log-rank test	
DOB				
≤60 godina	38	4	p = 0,3562	
>60 godina	35	6		
SPOL				
muškarci	44	5	p = 0,7038	
žene	29	5		
STADIJ BOLESTI				
Ia	27	0	p = 0,0414	
Ib	32	3		
Ila	14	7		
PARAPSORIJAZA	55	5	p = 0,1628	
KLINIČKA SLIKA				
patch	27	0	p = 0,0390	
plak	46	10		
tumor	-	-	-	
TRAJANJE PREMIKOTIČNOG STADIJA				
≤48 mj.	38	9	p = 0,0382	
>48 mj.	35	1		
PROŠIRENOST LEZIJA				
≤10%	26	0	p = 0,0508	
>10%	47	10		
LIMFNI ČVOROV				
normalni	58	4	p = 0,0254	
povećani	15	6		
PROGRESIJA BOLESTI	26	10	p = 0,0002	
ODGOVOR NA TERAPIJU				
bez	1	8	p = 0,0000	
djelomičan	37	0		
potpun	35	2		

Tablica 2. Razlike u preživljenju bolesnika s obzirom na sve ispitivane varijable (nastavak)

	ŽIVI N = 73	UMRLI N = 10	statistička značajnost razlike	
LIHENODINI DERMALNI INFILTRAT				
oskudan	22	0	p = 0,0484	
srednje gust	35	2		
gust	16	8		p = 0,0002
PAUTRIEROVI MIKROAPSCESI				
nema	28	5	p = 0,3182	0,2344
mali	33	5		
veliki	12	0		
LIMFOCITI ČUVARI (ima)	55	8	p = 0,8491	
≤30/100 keratinocita	47	2	p = 0,0090	
>30/100 keratinocita	26	8		
ATIPIJA LIMFOCITA				
nema	3	0		p = 0,1524
≤10%	40	4	hi-kvadrat: p = 0,1469	
10 – 50%	20	3		
>50%	10	3		
GUBITAK CD2	9	0	p = 0,2349	
GUBITAK CD3	0	0	-	
GUBITAK CD5	8	1	p = 0,9050	
GUBITAK CD7	52	8	p = 0,3369	

Koristeći log-rank test, statistički značajni nepovoljni prognostički čimbenici za preživljenje bili su: stadij bolesti IIa, plakovi u početnoj kliničkoj slici, premikotička faza kraća od 4 godine, povećanje limfnih čvorova, gust lihenoidni dermalni infiltrat, velik broj limfocita čuvara, izostanak odgovora na liječenje i pojava progresije bolesti. Od navedenih je najznačajniji bio izostanak odgovora na liječenje, a od preterapijskih čimbenika gust lihenoidni dermalni infiltrat.

5.1.15. Rezultati univarijatne logističke regresije

Tablica 3. Univarijatna logistička regresija za osnovni model **smrtnog ishoda unutar 5 godina** u bolesnika s mycosis fungoides

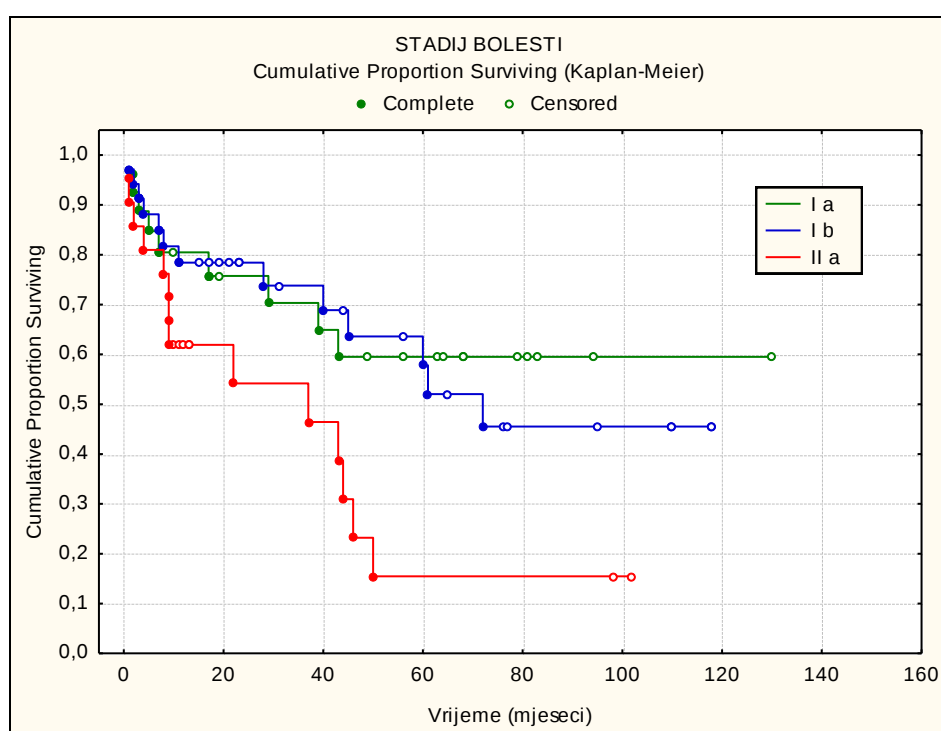
	RR	95 % CI		p
		donja	gornja	
stadij bolesti IIa	15,17	2,58	89,00	0,0032
parapsorijaza	0,213	0,04	1,03	0,0544
klinička slika - plak	5,756E+11	-	-	0,0024
proširenost lezija >10% ukupne površine kože	4,58	-	-	0,0059
povećani limfni čvorovi	11,71	2,28	60,21	0,0017
progresija bolesti	4,486E+11	-	-	0,0002
bez odgovora na terapiju	164,5	12	2183	0,0000
lihenodini dermalni infiltrat - gust	11,77	2,05	67,61	0,0065
limfociti čuvari >30/100 keratinocita	14,59	1,60	132,99	0,0184

Ako se podatci analiziraju univarijatnom logističkom regresijom, svi parametri navedeni u tablici 3, osim parapsorijaze, povećavaju rizik od smrtnog ishoda u prvih pet godina nakon postavljanja dijagnoze. Najznačajniji nepovoljni prognostički faktor je izostanak odgovora na terapiju (RR = 164,5; 95% CI, p = 0,0000). Varijable „klinička slika - plak“ i proširenost lezija >10% ukupne površine kože“ nemaju navedene 95%-tne granice CI zbog toga što nitko od bolesnika bez tih značajki nije umro.

5.2. Preživljenje bez progresije

5.2.1. Početni stadij bolesti

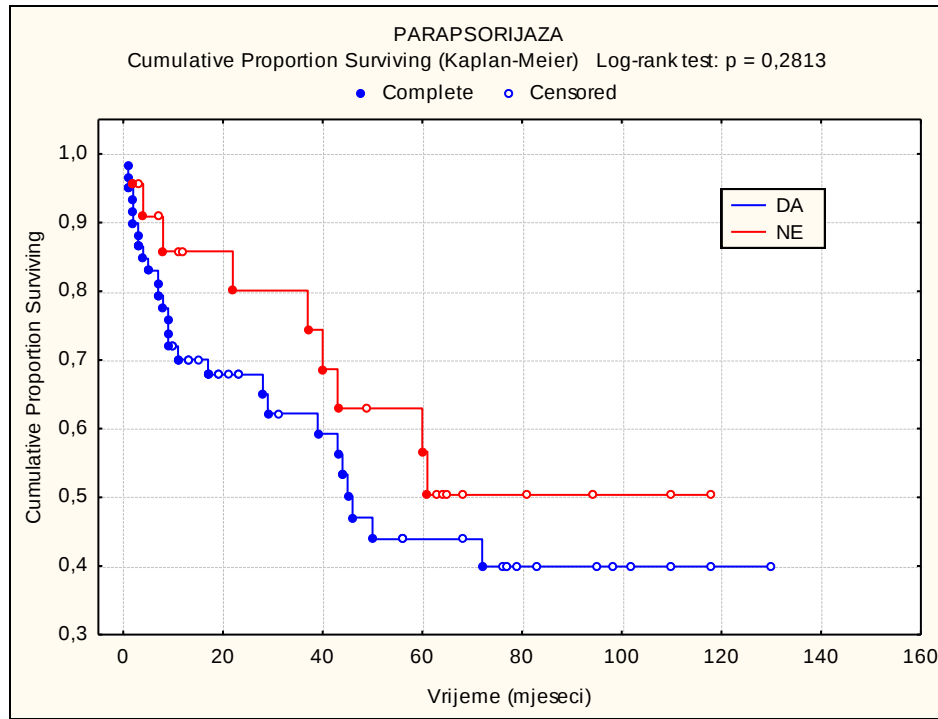
Nema razlike u vremenu do progresije bolesti između bolesnika s početnim stadijem bolesti IA i IB (log-rank test: $p = 0,7767$). U bolesnika s početnim stadijem bolesti IIA dolazi do brže progresije bolesti u odnosu na one s početnim stadijem bolesti IA (log-rank: $p = 0,0139$) i od onih s početnim stadijem IB (log-rank: $p = 0,0290$).



Dijagram 21. Početni stadij bolesti - progresija

5.2.2. Parapsorijaza

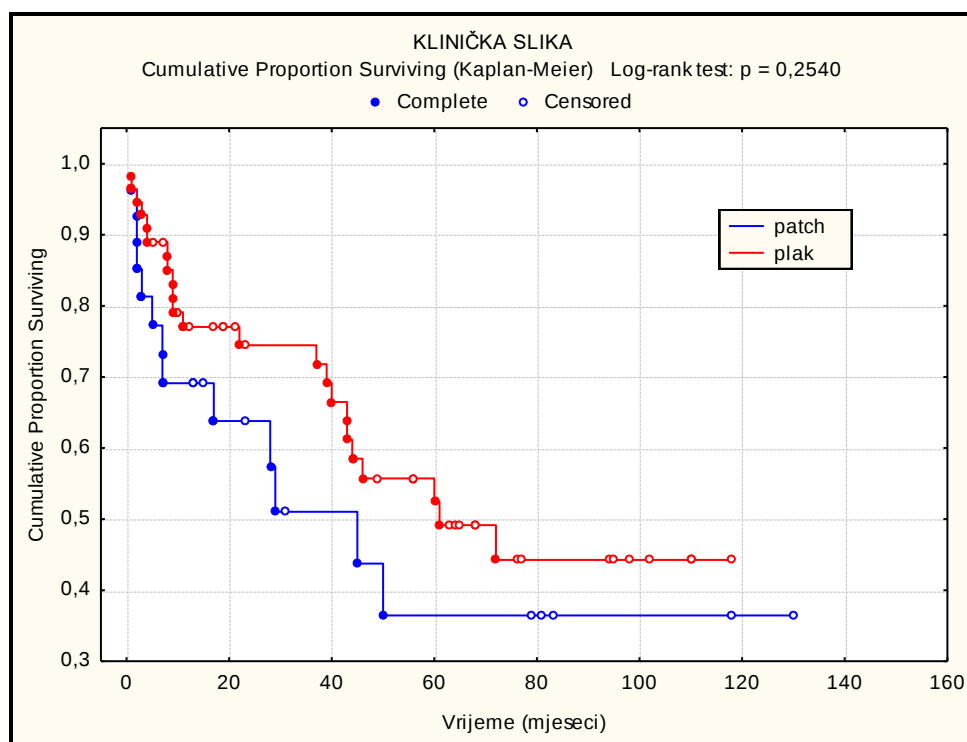
Nema statistički značajne razlike u preživljenju bez progresije bolesti s obzirom na parapsorijazu.



Dijagram 22. Parapsorijaza- progresija

5.2.3. Početna klinička slika

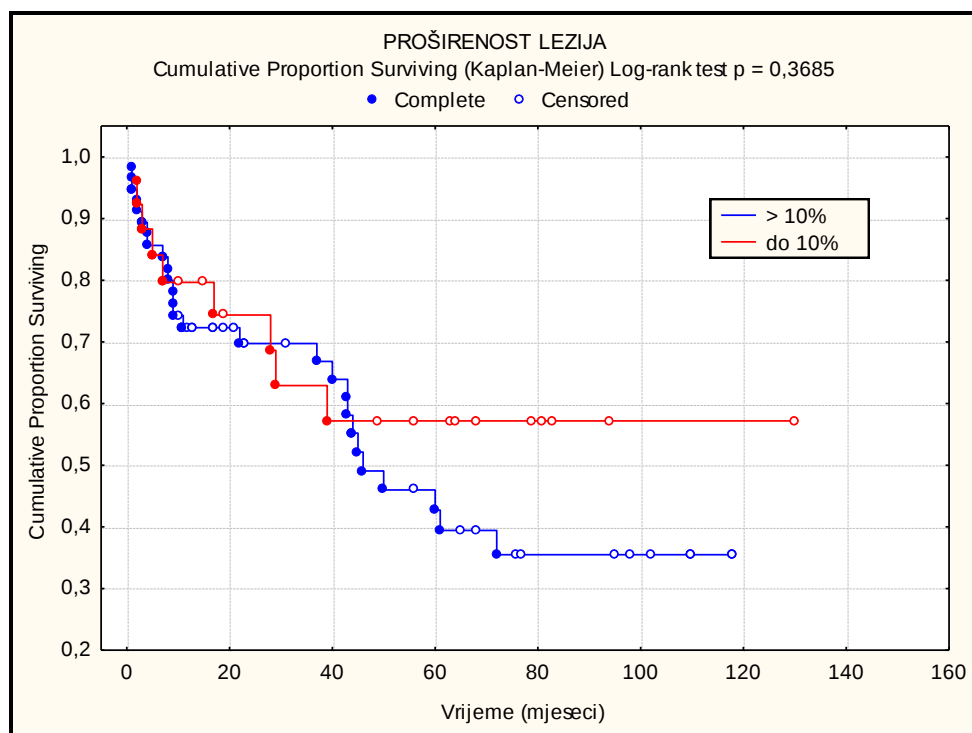
Nema statistički značajne razlike u preživljenju bez progresije s obzirom na *patch*eve ili plakove u početnoj kliničkoj slici bolesnika. Niti jedan bolesnik pri dijagnozi nije imao tumorski oblik bolesti.



Dijagram 23. Početna klinička slika – progresija

5.2.4. Proširenost kožnih lezija

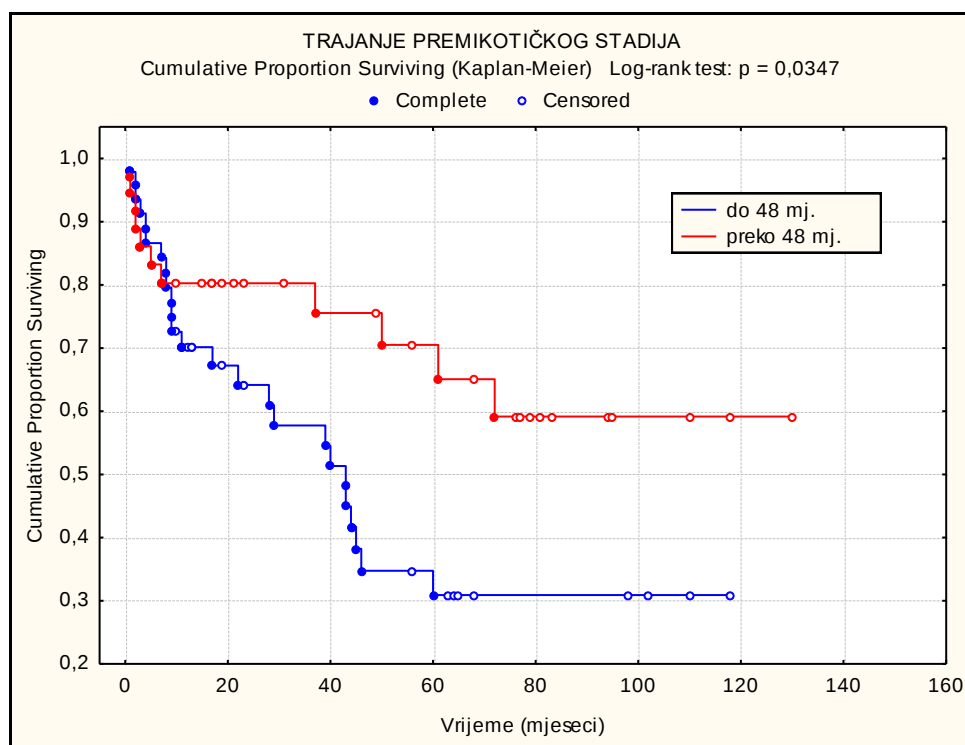
Nema statistički značajne razlike u pojavi progresije bolesti s obzirom na proširenost kožnih lezija (<10% ukupne površine kože i >10% ukupne površine kože) u početnoj kliničkoj slici (log-rank test: $p = 0,3685$).



Dijagram 24. Proširenost kožnih lezija – progresija

5.2.5. Trajanje premikotičkog stadija

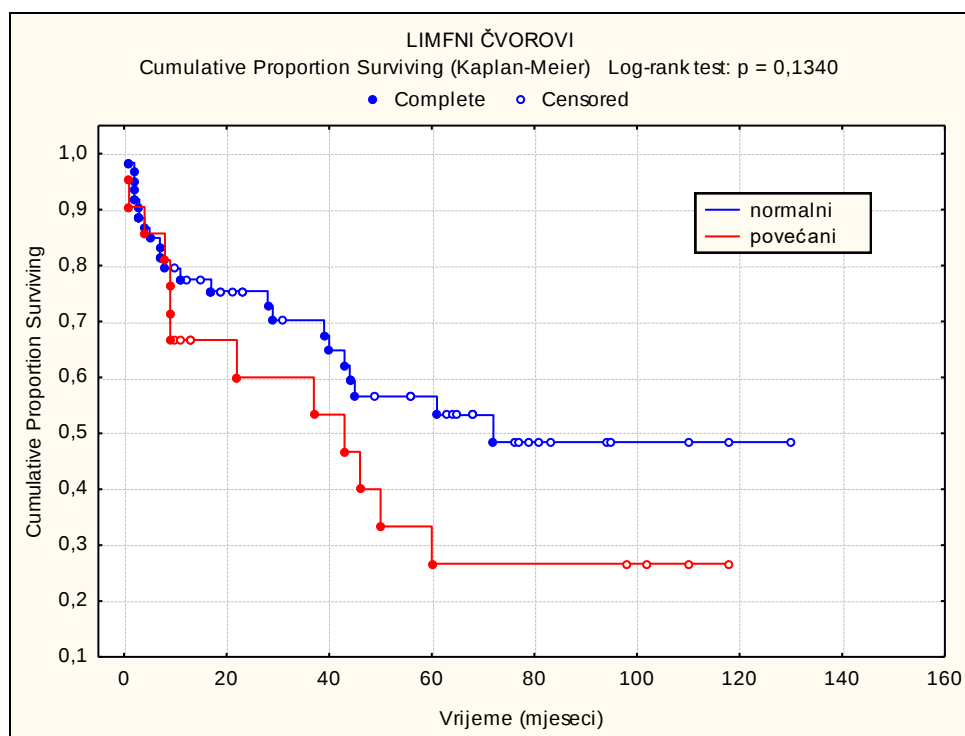
Bolesnici u kojih je premikotički stadij trajao 48 mjeseci i kraće imaju bržu progresiju bolesti od onih u kojih je trajao duže od 48 mjeseci. Razlika je statistički značajna.



Dijagram 25. Trajanje premikotičkog stadija – progresija

5.2.6. Limfni čvorovi

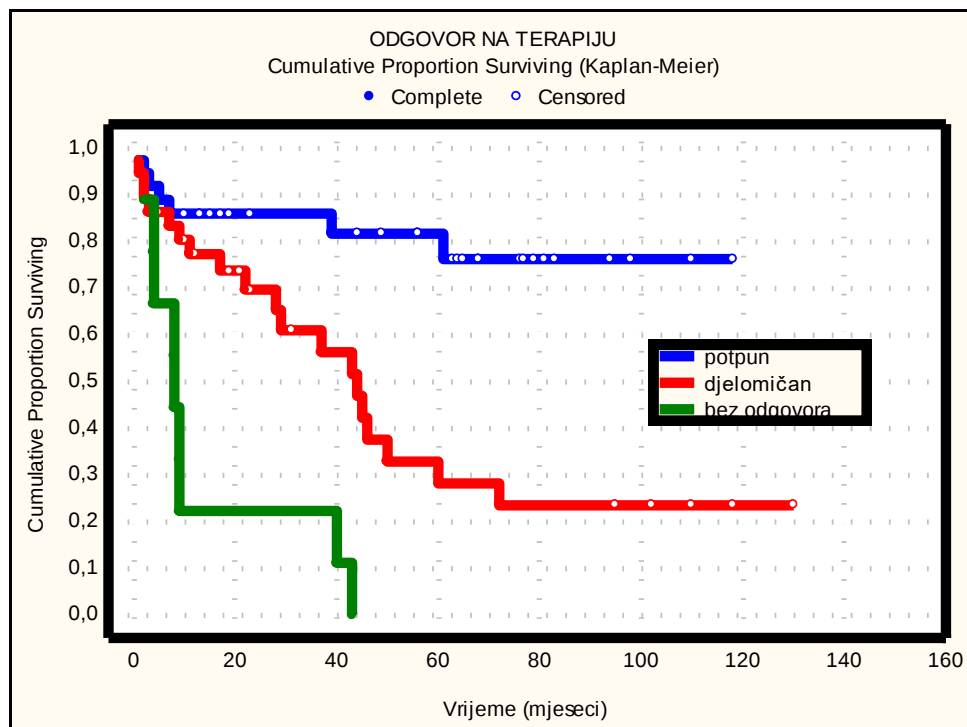
Nema razlike u pojavi progresije bolesti s obzirom na povećane limfne čvorove.



Dijagram 26. Limfni čvorovi - progresija

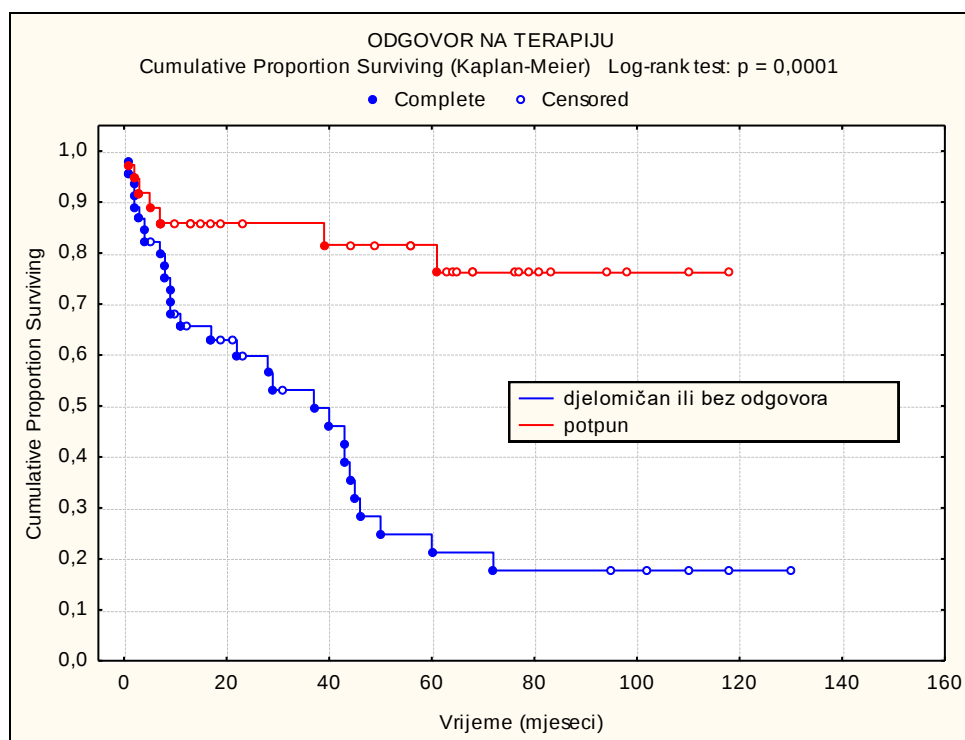
5.2.7. Odgovor na terapiju

Ako se odgovor na terapiju klasificira u tri skupine, razlika u pojavi progresije bolesti ne doseže statističku značajnost (hi-kvadrat test: $p = 0,0513$).



Dijagram 27. Odgovor na terapiju – progresija

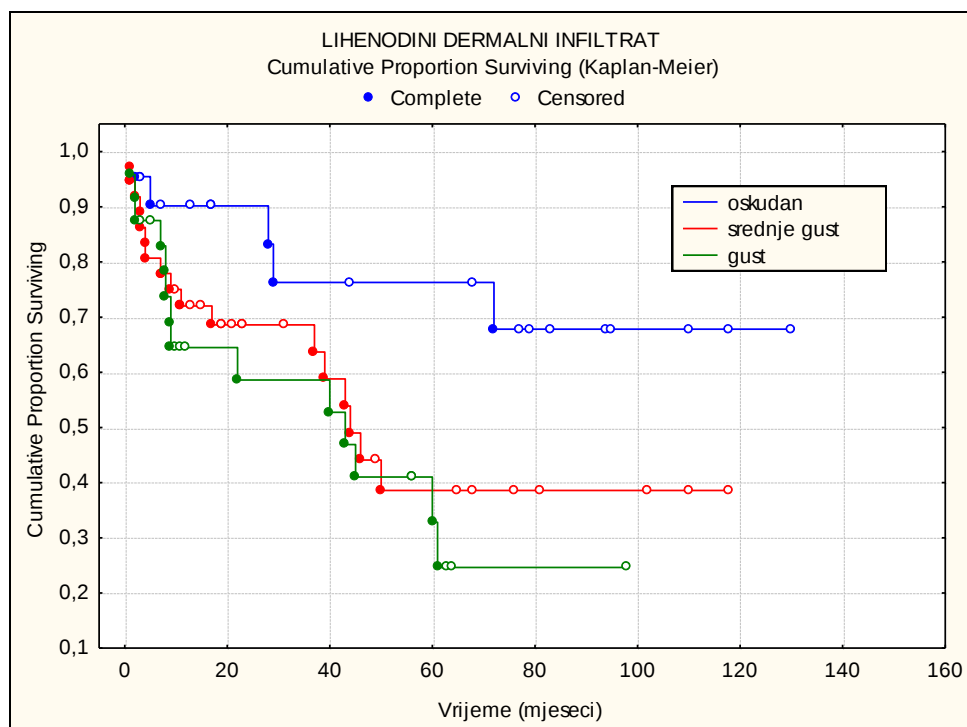
U bolesnika koji su imali samo djelomičan odgovor na terapiju ili ga nisu imali, brže dolazi do progresije bolesti u odnosu na one s potpunim odgovorom na terapiju. Razlika je statistički značajna.



Dijagram 28. Odgovor na terapiju – progresija

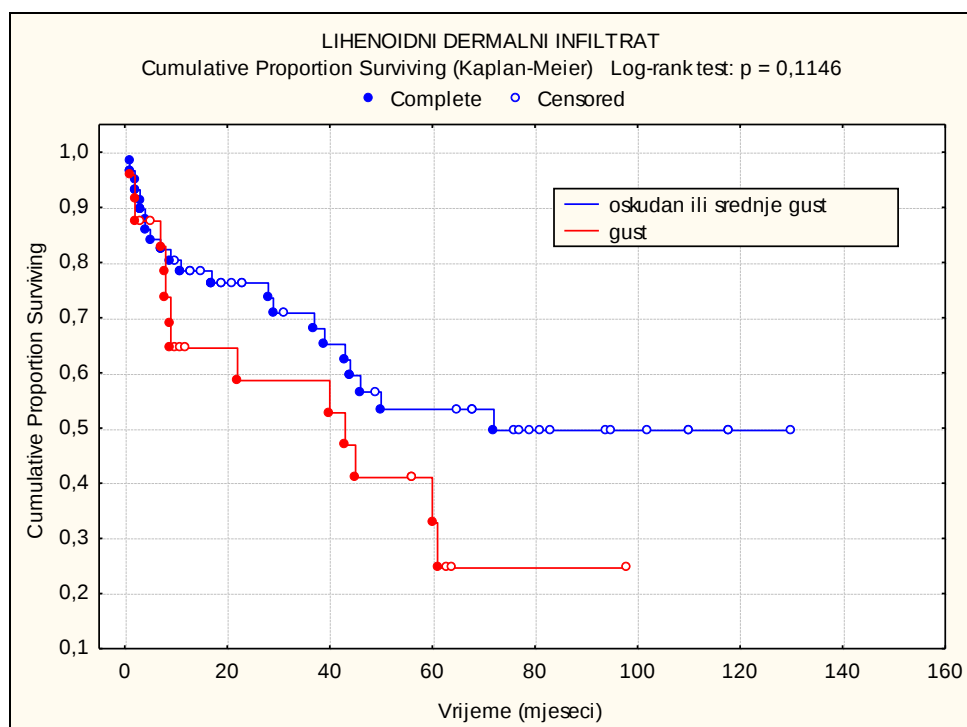
5.2.8. Lihenoidni dermalni infiltrat

Nema statistički značajne razlike u pojavi progresije bolesti u bolesnika podijeljenih u tri skupine na temelju značajki lihenoidnog dermalnog infiltrata (hi-kvadrat test: $p = 0,0881$).



Dijagram 29. Lihenoidni dermalni infiltrat – progresija.

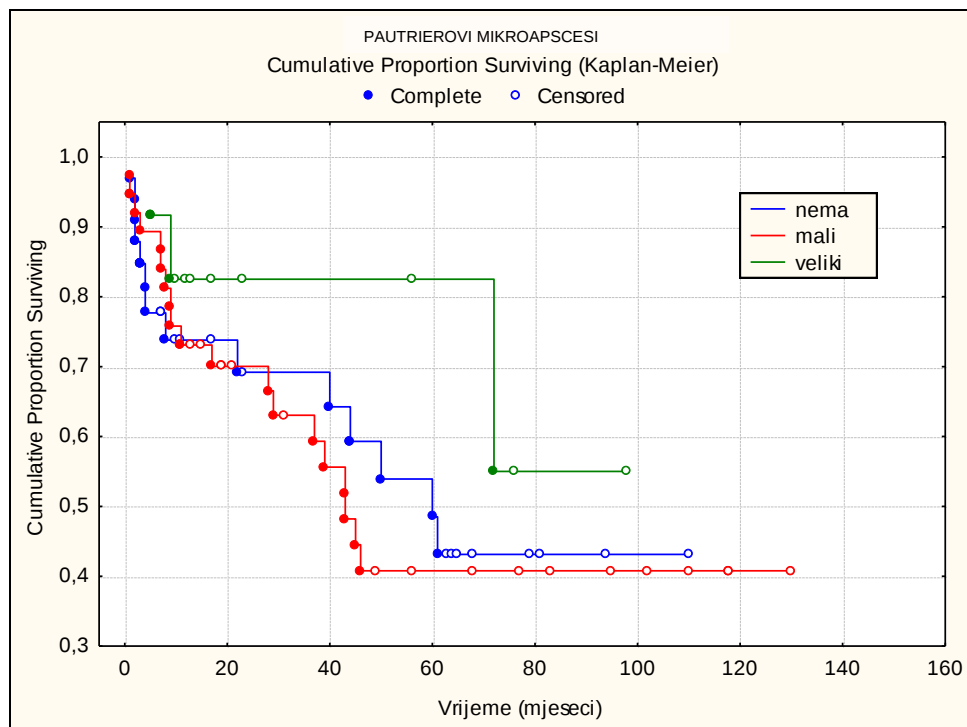
Nema statistički značajne razlike u pojavi progresije bolesti ni u bolesnika podijeljenih na dvije skupine na temelju značajki lihenoidnog dermalnog infiltrata



Dijagram 30. Lihenoidni dermalni infiltrat - progresija

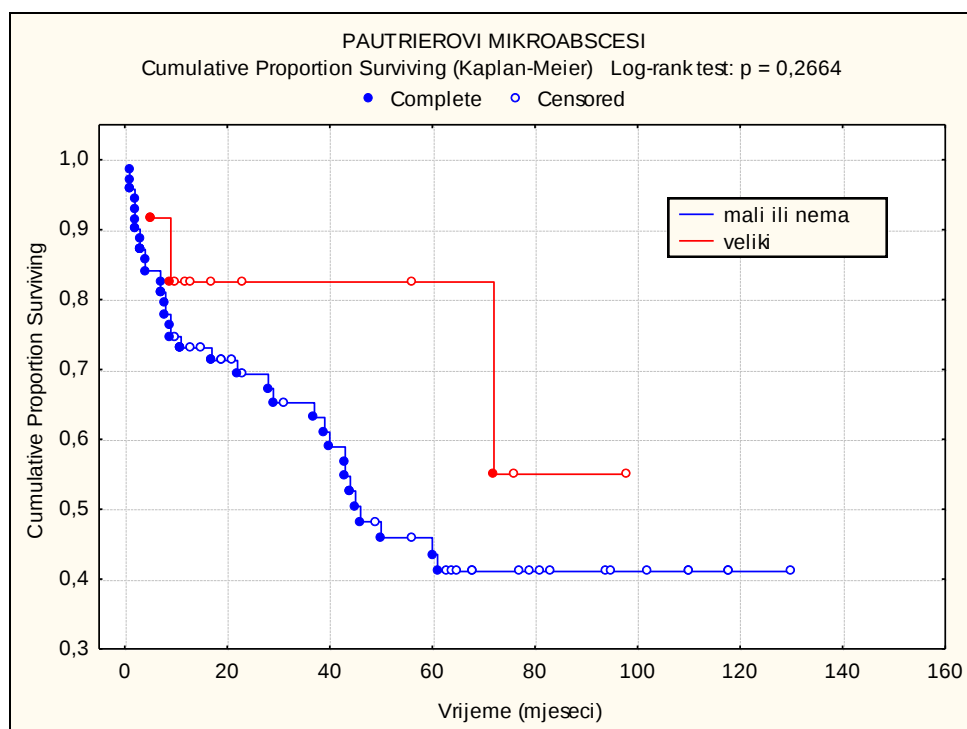
5.2.9. Pautrierovi mikroapscesi

Nema statistički značajne razlike u progresiji bolesti s obzirom na Pautrierove mikroapscese ako su bolesnici podijeljeni u tri skupine (hi-kvadrat: $p = 0,4708$).



Dijagram 31. Pautrierovi mikroapscesi – progresija

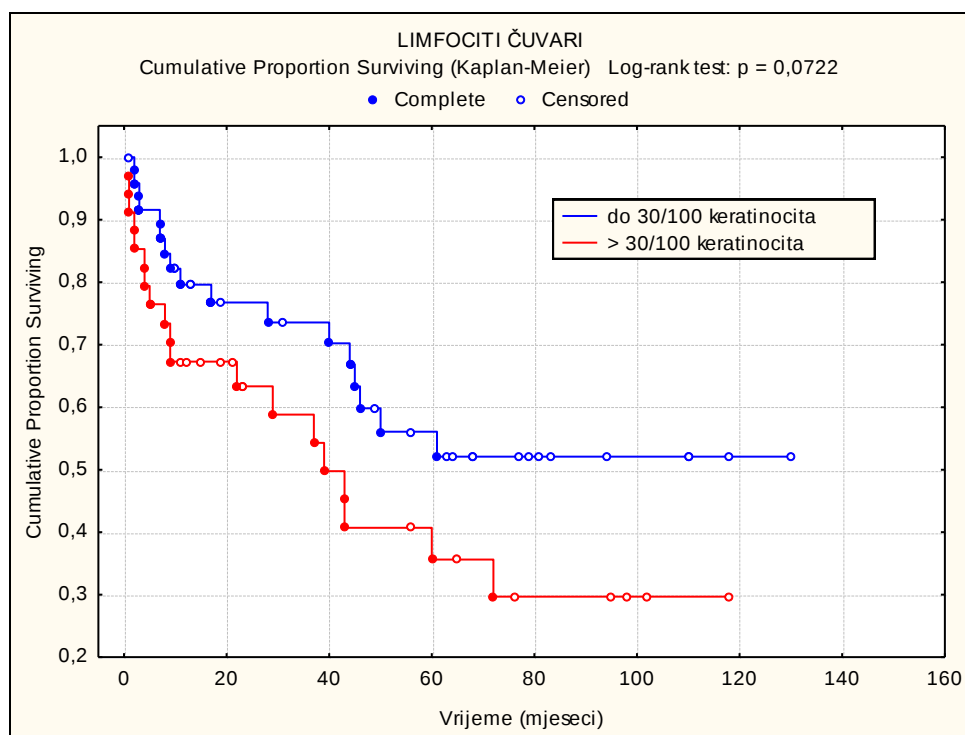
Nema statistički značajne razlike u progresiji s obzirom na Pautrierove mikroapscese ni ako su bolesnici podijeljeni u dvije skupine.



Dijagram 32. Pautrierovi mikroapscesi – progresija

5.2.10. Limfociti „čuvvari“

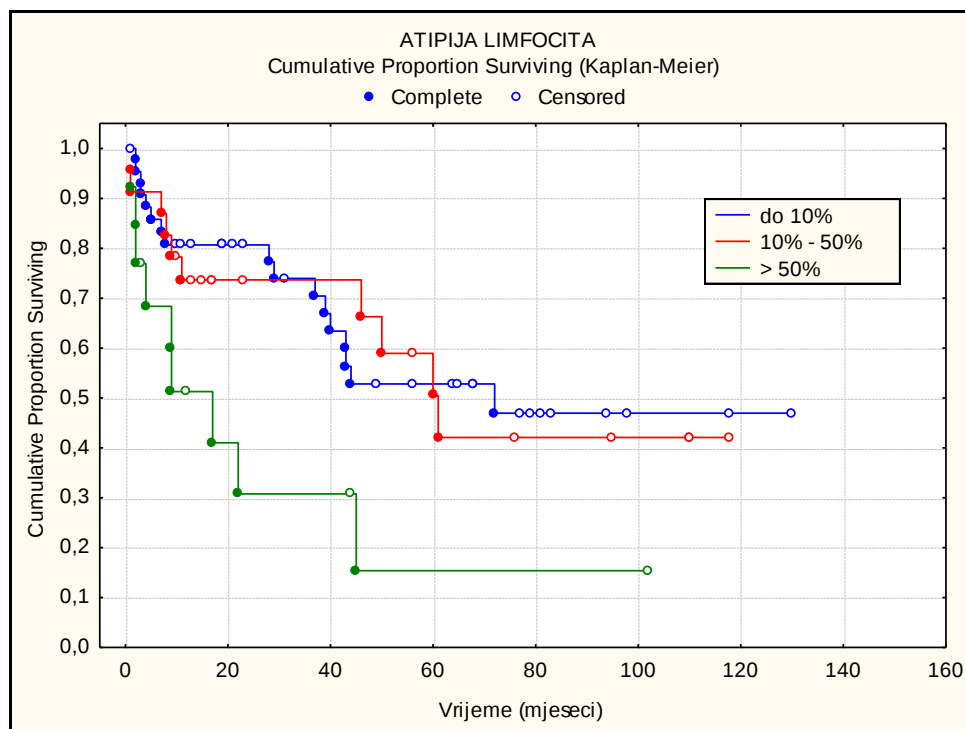
Bolesnici s više od 30 limfocita „čuvara“ na 100 keratinocita imaju trend brže progresije od onih s 30 i manje limfocita „čuvara“ na 100 keratinocita. Razlika je na granici statističke značajnosti.



Dijagram 33. Limfociti „čuvvari“ – progresija

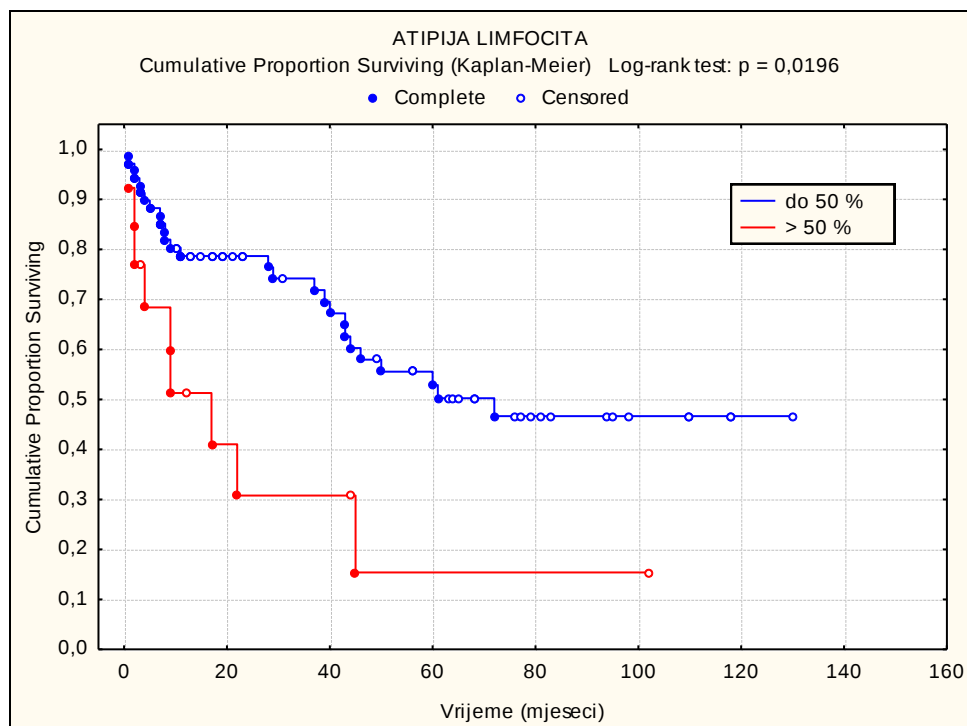
5.2.11. Atipija limfocita

Razlika u preživljavanju bez progresije između tri skupine bolesnika podijeljenih prema udjelu atipičnih limfocita na granici je statističke značajnosti (hi-kvadrat: $p = 0,0513$).



Dijagram 34. Atipija limfocita - progresija

Bolesnici s više od 50% atipičnih limfocita imaju bržu progresiju od onih s 50% i manje atipičnih limfocita. Razlika je statistički značajna.



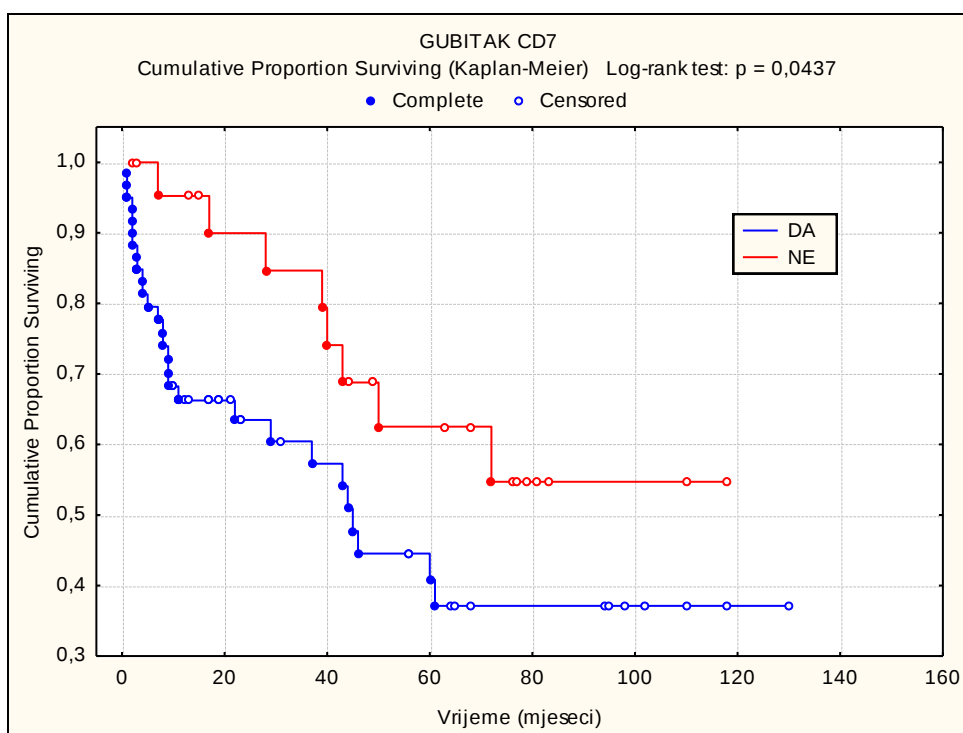
Dijagram 35. Atipija limfocita - progresija

5.2.12. Gubitak CD2, CD3, CD5 i CD7

Gubitak CD2 i CD5 ne utječe na progresiju.

Nema statistički značajne razlike u u pojavi progresije bolesti s obzirom na gubitak CD2 (log-rank: $p = 0,1218$) i CD5 (log-rank: $p = 0,9837$). Nitko od bolesnika u kojih je bolest progredirala nije imao gubitak CD3.

Bolesnici koji imaju gubitak CD7 imaju bržu progresiju od onih bez gubitka CD7. Razlika je statistički značajna.



Dijagram 36. Gubitak CD7 - progresija

5.2.13. Razlike u pojavi progresije bolesti s obzirom na sve ispitivane varijable

Tablica 4. Razlike u pojavi progresije bolesti s obzirom na sve ispitivane varijable

	PROGRESIJA N = 36	BEZ PROGRESIJE N = 47	log-rank test	
DOB				
≤60 godina	17	25	p = 0,2397	
>60 godina	19	22		
SPOL				
muškarci	18	31	p = 0,3044	
žene	18	16		
STADIJ BOLESTI				
Ia	9	18	p = 0,2138	p = 0,0139
Ib	13	22		
Ila	14	7		
PARAPSORIJAZA	27	33	p = 0,2813	
KLINIČKA SLIKA				
patch	13	14	p = 0,2540	
plak	23	33		
tumor	0	0	-	
TRAJANJE PREMIKOTIČNOG STADIJA				
≤48 mj.	25	22	p = 0,0347	
>48 mj.	11	25		
PROŠIRENOST LEZIJA				
≤10%	9	17	p = 0,3685	
>10%	27	30		
LIMFNI ČVOROV				
normalni	23	39	p = 0,1340	
povećani	13	8		
ODGOVOR NA TERAPIJU				
bez	9	0	p = 0,0003	p = 0,0001
djelomičan	20	17		
potpun	7	30		

Tablica 4. Razlike u pojavi progresije bolesti s obzirom na sve ispitivane varijable (nastavak)

	PROGRESIJA N = 36	BEZ PROGRESIJE N = 47	log-rank test	
LIHENODINI DERMALNI INFILTRAT				
oskudan	5	17	hi-kvadrat p = 0,0881	p = 0,1146
srednje gust	17	20		
gust	14	10		
PAUTRIEROVI MIKROAPSCESI				
nema	14	19	hi-kvadrat p = 0,4708	p = 0,2664
mali	19	19		
veliki	3	9		
LIMFOCITI ČUVARI (ima)	30	33	p = 0,1438	
≤30/100 keratinocita	17	32	p = 0,0722	
>30/100 keratinocita	19	15		
ATIPIJA LIMFOCITA				
nema	0	3		
≤10%	17	27	hi-kvadrat p = 0,0513	p = 0,0196
10 – 50%	10	13		
>50%	9	4		
GUBITAK CD2	6	3	p = 0,1218	
GUBITAK CD3	0	0	-	
GUBITAK CD5	4	5	p = 0,9837	
GUBITAK CD7	28	32	p = 0,0437	

Koristeći log-rank test, statistički značajni nepovoljni prognostički čimbenici za preživljenje bez progresije bolesti bili su: stadij bolesti IIA, premikotička faza kraća od 4 godine, velik broj atipičnih limfocita, gubitak CD7 i izostanak odgovora na liječenje. Od navedenih je najznačajniji bio izostanak odgovora na liječenje, a od preterapijskih čimbenika velik broj atipičnih limfocita.

5.2.14. Rezultati univarijatne logističke regresije

Tablica 5. Univarijatna logistička regresija za osnovni model **progresije bolesti unutar 5 godina** kod mycosis fungoides

	RR	95% CI		p
		donja	gornja	
veliki Pautrierovi mikroapscesi	0,222	0,040	1,228	0,0834
bez odgovora na terapiju	2,86E+11	-	-	0,0006
potpuni odgovor na terapiju	0,196	0,059	0,647	0,0084
limfociti čuvari (postojanje)	4,105	0,947	17,794	0,0588
limfociti čuvari >30/100 keratinocita	2,598	0,862	7,833	0,0885
atipija limfocita >50%	3,750	0,866	16,230	0,0761

Od svih ispitivanih varijabli navedenih u tablici 5 samo odgovor na terapiju statistički značajno utječe na pojavu progresije bolesti u prvih 5 godina nakon postavljanja dijagnoze. Ostale varijable navedene u tablici 6 su granično značajne za rizik pojave progresije bolesti. Ako je bolesnik bez odgovora na terapiju, to statistički značajno povećava rizik od progresije bolesti, a ako je odgovor na terapiju potpun, to statistički značajno smanjuje rizik od progresije bolesti. Rizik od progresije bolesti kod neodgovora na terapiju je izrazito velik, (RR=2,86E+11) jer su svi bolesnici koji su bili bez odgovora na terapiju (n=9) imali progresiju stoga varijabla „bez odgovora na terapiju“ nema navedene 95% granice CI.

6. RASPRAVA

Naše jednocentrično kohortno retrospektivno-prospektivno istraživanje uključilo je 83 bolesnika s medijanom praćenja od oko 2 godine. Jednocentričnost, razmjerno kratak medijan praćenja i relativno mali uzorak predstavljaju nedostatke ovog istraživanja zbog čega neka ispitivana obilježja nisu nađena (gubitak CD3) ili su bila prisutna u vrlo malom broju bolesnika (npr. gubitak površinskog biljega CD2 i CD5). Osim toga, mali broj umrlih bolesnika (n=10) predstavlja ograničavajuću okolnost kod izračunavanja logističke regresije po tom parametru.

Prednost istraživanja je što su svi ispitanici imali podatke za sve ispitivane varijable tako da je svaka analiza rađena za sve ispitanike (n=83). Iako je studija bila retrospektivno-prospektivna, za sve ispitanike su postojali točni datumi pojave progresije bolesti odnosno smrti što je omogućilo precizno korištenje Kaplan-Meierove metode.

U našem istraživanju do progresije bolesti je došlo u 43% ispitanika (n=36), a medijan preživljenja nakon progresije bolesti iznosio je 58 mjeseci. Petogodišnje preživljenje iznosilo je 86%. Dosadašnja istraživanja dokazala su da rani stadij MF (IA-IIA) najčešće ima dobru prognozu i preživljenje od 10-35 godina, no u oko 25% slučajeva dolazi do progresije bolesti u kasne stadije s medijanom preživljenja manjim od 4 godine. U bolesnika sa zahvaćenim limfnim čvorovima medijan preživljenja iznosi samo 13 mjeseci (3,80,81). Prema tome, naši rezultati su u skladu s očekivanjima.

Sve dosadašnje studije su dokazale da bolesnici s uznapredovalijom bolešću imaju lošiju prognozu, bez obzira radi li se o stadiju bolesti, TNMB klasifikaciji, zahvaćenosti kože ili izgledu promjena (7,76-88). Kim Y.H. i sur. su proveli restropektivnu studiju u koju je bilo uključeno 525 bolesnika s MF i Sezary sindromom s ciljem identifikacije kliničkih prognostičkih čimbenika i rizika za progresiju bolesti. MF se navodi kao uzrok smrti u 43% bolesnika s T3 ili T4, a bolesnici s višim T stadijem prema TNMB klasifikaciji imaju lošije preživljenje. Relativni rizik (RR) za smrtni ishod u bolesnika s MF je bio viši u odnosu na kontrolnu skupinu za sve stadije bolesti osim T1 ili IA stadij (RR 2,2 u stadiju IB/IIA, 3,9 u stadiju IIB/III, 12,8 u stadiju IV). Najznačajniji klinički prognostički faktori bili su dob bolesnika, TNMB klasifikacija, stadij bolesti, prisutnost ili odsutnost ekstrakutane bolesti, dok su u multivarijantnoj analizi viša životna dob bolesnika, T-stadij i prisutnost ekstrakutane bolesti bili najznačajniji nezavisni faktori. Rizik od progresije bolesti, smrtnog ishoda i ekstrakutane bolesti korelirao je s inicijalnom težinom T stadija. Nitko od bolesnika nije bio u T1 stadiju bolesti kada mu je dijagnosticirana ekstrakutana bolest (7). Agar N.S. i sur. su utvrdili

da postoji značajna razlika u preživljenju i prognozi u bolesnika s ranim stadijem MF koji imaju samo *patcheve* u kliničkoj slici (T1a/T2a) u usporedbi s bolesnicima koji imaju *patcheve* i plakove (T1b/T2b). Ista studija je pokazala da su viši klinički stadij, povišena LDH i velikostanična transformacija povezani s lošijim preživljenjem i progresijom bolesti (84). Marti R.M. i sur. su proveli studiju koja je uključivala 43 bolesnika u ranom i kasnom stadiju bolesti (TNMB klasifikacija IA-IVB). Glavni prognostički faktori u bolesnika s primarnim kožnim T staničnim limfomima su bili: a) u kliničkom modelu kategorija T (iz TNMB klasifikacije) i serumska LDH, te b) u kliničko - patološkom modelu T kategorija (iz TNMB klasifikacije) i debljina kožnog infiltrata (mjereno u 10^{-1} mm od znatog sloja do donje granice infiltrata) u klinički najdebljoj leziji (85). Talpur R. i sur. su utvrdili da plak stadij, razina LDH i rasprostranjenost tumora (generalizirani tumori) predstavljaju rizične faktore povezane s progresijom bolesti i smrtnim ishodom (88).

S tim su u skladu i rezultati naše studije koji su pokazali da bolesnici s početnim stadijem IIA imali lošije preživljenje i bržu progresiju bolesti od onih s početnim stadijem IA i IB. Nitko od bolesnika s početnim stadijem IA nije umro. Bolesnici u kojih su kožne lezije zahvaćale više od 10% ukupne površine kože imali su lošije preživljenje od onih u kojih su kožne lezije zahvaćale manje od 10% ukupne površine kože no razlika u preživljenju je na granici statističke značajnosti. Bolesnici s plakovima u početnoj kliničkoj slici su imali lošije preživljenje u odnosu na one s *patchevima*. Nitko od bolesnika nije imao tumor prilikom postavljanja dijagnoze. Iako dosadašnji rezultati pokazuju da bolesnici s debljim plakovima imaju lošiju prognozu u odnosu na one s tanjim plakovima (8), u našem smo se istraživanju odlučili na razlikovanje samo *patcheva*, plakova i tumora kako bi se izbjegle teškoće i pogreške u određivanju tankih i debelih plakova. Ovaj rezultat je potrebno posebno naglasiti jer TNM klasifikacija ne klasificira različito *patcheve* i plakove, već se kategorije T1 i T2 razlikuju s obzirom na zahvaćenost površine kože (<10% i >10%).

U nekim, ali ne svim studijama su starija dob i muški spol bili nepovoljni prognostički faktori (7,78, 84-87). Agar N. i sur. su proveli studiju koja je uključivala 1502 bolesnika s MF i SS i dokazali su da starija dob i muški spol predstavljaju rizične faktore povezane s lošijim preživljenjem i progresijom bolesti (84). U dvije studije starija dob i muški spol nisu bili nepovoljni prognostički parametri (84,85). Retrospektivna studija Kim Y.H. i sur. na 525 bolesnika s MF i SS (7), restrospektivna studija Tobisawa S. i sur. na 105 bolesnika s MF i SS (87) i velika prospektivna studija Talpur R. i sur. na 1263 bolesnika s MF i SS (88) su utvrdile

da starija životna dob, ali ne i muški spol, predstavlja rizični faktor povezan s progresijom bolesti i smrtnim ishodom. U našoj studiji dob i spol se nisu pokazali statistički značajni.

Velikožarišni oblik parapsorijaze u oko 10% bolesnika progredira u MF (88). Danas postoje kontroverze oko terminologije i neki autori smatraju da velikožarišni oblik parapsorijaze predstavlja najraniji stadij MF- *patch* stadij. Trajanje parapsorijaze je varijabilno. Maložarišni oblik parapsorijaze može trajati od nekoliko mjeseci do nekoliko godina, a zatim se kožne promjene mogu sponatno povući. Kod velikožarišnog oblika liječenje je potrebno jer je moguća progresija u MF (89,90). Dosadašnje studije nisu istražile povezanost postojanja parapsorijaze i trajanja premikotičnog stadija s progresijom bolesti i smrtnim ishodom niti utjecaj na preživljenje i vrijeme do progresije. Naše istraživanje je pokazalo da nema statistički značajne razlike u preživljenju bolesnika ni u progresiji bolesti s obzirom na prethodno dijagnosticiranu parapsorijazu. Međutim, kako smo na temelju kliničkog iskustva i očekivali, lošije preživljenje i bržu progresiju su imali bolesnici u kojih je premikotički stadij trajao 48 mjeseci ili kraće u odnosu na one u kojih je trajao više od 48 mjeseci.

U našem smo istraživanju pokušali odrediti histološke kriterije koji utječu na preživljenje i progresiju bolesti. U bolesnika s gustim lihenoidnim infiltratom bolest češće završava smrtnim ishodom u odnosu na bolesnike sa srednje gustim i oskudnim lihenoidnim dermalnim infiltratom. Nitko od bolesnika s oskudnim lihenoidnim dermalnim infiltratom nije umro. Suprotno našim očekivanjima, nema statistički značajne razlike u pojavi progresije bolesti s obzirom na oskudan, srednje gust i gust lihenoidni dermalni infiltrat. Do sada objavljene studije nisu istraživale utjecaj lihenoidnog dermalnog infiltrata limfocita na preživljenje i progresiju bolesti stoga ove rezultate smatramo iznimo vrijednima.

Suprotno očekivanjima, nismo našli statistički značajnu razliku u preživljenju i progresiji bolesti s obzirom na postojanje malih i velikih Pautrierovih mikroapscesa. Nitko od bolesnika s velikim Pautrierovim mikroapscesima nije umro u promatranom vremenu. Vonderheid E.C. i sur. objavili su rezultate studije u koju su bila uključena 33 ispitanika s ranim stadijem MF i u kojih je bolest progredirala (kao kontrolu uzeli su 70 bolesnika u ranom stadiju bez progresije bolesti). Identificirali su negativne prognostičke faktore koji su povezani s progresijom bolesti: a) prisutnost velikih Pautrierovih mikroapscesa (10 ili više atipičnih limfocita u nakupini), b) prisutnost atipičnih limfocita s hiperkromatskim i vezikularnim jezgrama u dermalnom infiltratu, c) manje od 20% CD8⁺ stanica u dermalnom infiltratu i d) IgE u serumu iznad 122U/ml (91). Naši rezultati samo dijelomično potvrđuju rezultate ove studije. Naša je studija utvrdila da bolesnici s više od 50% atipičnih limfocita imaju bržu

progresiju od onih s 50% i manje atipičnih limfocita, no nije identificirala velike Pautrierove mikroapscese kao negativni prognostički faktor povezan s bržom progresijom bolesti.

Analiza broja limfocita „čuvara“ pokazala je vrijednost ovog histološkog kriterija. Bolesnici s više od 30 limfocita „čuvara“ na 100 keratinocita imaju lošije preživljenje i bržu progresiju bolesti od onih s 30 i manje limfocita „čuvara“ na 100 keratinocita. U dosadašnjim studijama nije analiziran utjecaj ovog kriterija na preživljenje i progresiju bolesti stoga ove rezultate smatramo iznimno vrijednima.

Bolesnici s više od 50% atipičnih limfocita u prvoj biopsiji imaju bržu progresiju od onih s 50% i manje atipičnih limfocita. Iako rezultati usporedbe progresije tri skupine bolesnika (<10%, 10-50% i >50%) nisu statistički značajni, treba uzeti u obzir da u našem uzorku imamo mali broj umrlih bolesnika (n=10). Rezultati su u skladu s dosadašnjim istraživanjima (92).

Dosadašnje studije sugeriraju da se gubitak određenih biljega T-limfocita često nalazi u uznapređovalim stadijima bolesti, ali da u ranom stadiju nije povezan s progresijom bolesti i smrtnim ishodom (78,92,93). U skladu s tim su i naši rezultati po kojima gubitak CD2 i CD5 nemaju prognostičko značenje. Nismo našli niti jednog bolesnika s gubitkom CD3, a samo je gubitak CD7 bio povezan s bržom progresijom bolesti, ali bez utjecaja na preživljavanje.

Prema očekivanju, razlika u preživljenju između onih bolesnika koji su barem djelomično odgovorili na terapiju i nisu uopće je izrazito značajna. U bolesnika koji su imali samo djelomičan odgovor na terapiju ili ga nisu imali, brže dolazi do progresije bolesti u odnosu na one s potpunim odgovorom na terapiju. Rezultati naše studije u skladu s rezultatima dosad objavljenih studija (12,75).

Rezultati univarijantne logističke regresije za osnovni model smrtnog ishoda unutar 5 godina od postavljanja dijagnoze za MF pokazuju da početni stadij bolesti IIA, prisutnost plakova u početnoj kliničkoj slici, proširenost kožnih lezija >10%, povećani limfni čvorovi, progresija bolesti, bolest bez odgovora na terapiju, gust lihenoidni dermalni infiltrat i >30 limfocita „čuvara“ na 100 keratinocita povećavaju rizik od smrtnog ishoda u prvih pet godina nakon postavljanja dijagnoze. Samo parapsorijaza smanjuje taj rizik, ali njen utjecaj je na granici statističke značajnosti. Najveći rizik nosi neodgovor na terapiju, a potom slijede progresija bolesti, povećani limfni čvorovi, plakovi u početnoj kliničkoj slici, početni stadij bolesti IIA, proširenost kožnih lezija >10%, gust lihenoidni dermalni infiltrat i >30 limfocita „čuvara“ na 100 keratinocita. Također, rezultati pokazuju da ako je bolesnik imao početni stadij bolesti IIA, rizik da će umrijeti unutar 5 godina je 15 puta veći u odnosu na bolesnike koji su imali početni stadij IA ili IB. U bolesnika u kojeg nije došlo do odgovora na terapiju rizik od smrtnog ishoda unutar 5 godina od postavljanja dijagnoze je 165 puta veći rezik u odnosu na

one s potpunim i djelomičnim odgovorom na terapiju. Bolesnik s prvotno dijagnosticiranom parapsorijazom ima 79% manju šansu da umre unutar 5 godina nego bolesnik u kojeg nije dijagnosticirana parapsorijaza (granice su od 96% manjeg rizika do 3% većeg rizika od onih koji nemaju parapsorijazu). Očito je da parapsorijaza smanjuje rizik, ali budući da njene granice zahvaćaju i malu mogućnost od povećanja rizika, utjecaj tog parametra ne smatra se statistički značajnim.

Rezultati univarijantne logističke regresije za osnovni model progresije bolesti unutar 5 godina od postavljanja dijagnoze za MF pokazuju da samo odgovor na terapiju (bez odgovora na terapiju, potpuni odgovor na terapiju) statistički značajno utječe na progresiju bolesti u prvih 5 godina nakon postavljanja dijagnoze. Ako je bolesnik bez odgovora na terapiju to povećava rizik od progresije bolesti, a ako je odgovor na terapiju potpun, to statistički značajno smanjuje rizik od progresije bolesti. Nalaz limfocita čuvara kao i broj limfocita čuvara veći od 30 na 100 keratinocita, te atipija limfocita >50% povećavaju rizik od progresije bolesti unutar 5 godina od postavljanja dijagnoze, a veliki Pautrierovi mikroapscesi smanjuju taj taj rizik, no ti su rezultati na granici statističke značajnosti, ali ukazuju na povezanost s progresijom.

Ovim istraživanjem ispunjeni su postavljeni specifični ciljevi. Odredili smo koje morfološke značajke u inicijalnoj biopsiji predstavljaju nepovoljne prognostičke čimbenike za preživljenje (gust lihenoidni dermalni infiltrat, velik broj limfocita čuvara) i preživljenje bez progresije (velik broj atipičnih limfocita, gubitak CD7). Odredili smo klinička preterapijska obilježja bolesnika koja predstavljaju nepovoljne prognostičke čimbenike za preživljenje (plakovi u početnoj kliničkoj slici, premikotička faza kraća od 4 godine, povećanje limfnih čvorova) i za preživljenje bez progresije bolesti (stadij bolesti IIA, premikotička faza kraća od 4 godine). Odredili smo učestalost bolesnika s MF u kojih je primarno postavljena dijagnoza parapsorijaze (n=60, 72%) i utvrdili trajanje premikotičkog stadija u bolesnika s MF u kojih je primarno postavljena druga histološka dijagnoza (medijan 48 mjeseci, raspon 0-240).

Nije u potpunosti potvrđena postavljena hipoteza da bolesnici s MF u ranom stadiju koji u prvoj biopsiji imaju gust lihenoidni dermalni infiltrat limfocita, velike PM i gubitak CD2 površinskog biljega imati agresivniji tijek bolesti i lošiju prognozu. Bolesnici s gustim LDI imaju lošiju prognozu, a od onih s velikim PM (n=12) i gubitkom CD2 (n=9) nitko nije umro. Što se tiče progresije bolesti, dokazana je teza da se progresija javlja češće i brže u onih s gustim ili srednje gustim LDI nego u bolesnika s oskudnim LDI dok veliki PM i gubitak CD2 biljega nisu bili povezani s progresijom bolesti.

Zaključno, ovo istraživanje predlaže nove prognostičke faktore za rani stadij MF. Veće studije su potrebne kako bi potvrdile i implementirale ove podatke u histološke kriterije koji bi

postali standard prilikom postavljanja dijagnoze u svrhu identificiranja bolesnika s povećanim rizikom za progresiju bolesti i lošijom prognozom. Identifikacija ovih prognostičkih čimbenika može poslužiti i u stvaranju boljeg prognostičkog indeksa za MF.

7. ZAKLJUČCI

- Bolesnici s početnim stadijem IIA imaju lošije preživljenje od onih s početnim stadijem IA i IB.
- U bolesnika s početnim stadijem bolesti IIA dolazi do brže progresije bolesti u odnosu na one s početnim stadijem bolesti IA i IB.
- Bolesnici u kojih kožne lezije u početnoj kliničkoj slici zahvaćaju više od 10% ukupne površine kože imaju lošije preživljenje od onih u kojih zahvaćaju manje od 10% ukupne površine kože. Nema statistički značajne razlike u progresiji bolesti s obzirom na proširenost kožnih lezija (<10% ukupne površine kože i >10% ukupne površine kože) u početnoj kliničkoj slici.
- Nema statistički značajne razlike u preživljenju bolesnika i u progresiji bolesti s obzirom na prethodno dijagnosticiranu parapsorijazu.
- Lošije preživljenje i bržu progresiju imaju bolesnici u kojih premikotički stadij traje 48 mjeseci i kraće u odnosu na one u kojih traje više od 48 mjeseci.
- Bolesnici s plakovima u početnoj kliničkoj slici su imali lošije preživljenje u odnosu na one s *patchevima*. Nema statistički značajne razlike u progresiji s obzirom na *patcheve* ili plakove u početnoj kliničkoj slici bolesnika
- Bolesnici s povećanim limfnim čvorovima imaju lošije preživljenje u odnosu na one s normalnim limfnim čvorovima. Nema razlike u progresiji bolesti s obzirom na povećane limfne čvorove.
- Bolesnici u kojih je došlo do progresije bolesti imali su lošije preživljenje od onih bez progresije.
- U bolesnika koji su imali samo djelomičan odgovor na terapiju ili ga nisu imali, brže dolazi do progresije bolesti u odnosu na one s potpunim odgovorom na terapiju.
- U bolesnika s gustim lihenoidnim infiltratom bolest češće završava smrtnim ishodom u odnosu na bolesnike sa srednje gustim i oskudnim lihenoidnim dermalnim infiltratom. Nema statistički značajne razlike u pojavi progresije bolesti s obzirom na oskudan, srednje gust i gust lihenoidni dermalni infiltrat.
- Nema statistički značajne razlike u preživljenju i progresiji s obzirom na Pautrierove mikroapscese.
- Bolesnici s više od 30 limfocita „čuvara“ na 100 keratinocita imaju lošije preživljenje od onih s 30 i manje limfocita „čuvara“ na 100 keratinocita.

- Bolesnici s više od 50% atipičnih limfocita imaju bržu progresiju od onih s 50% i manje atipičnih limfocita.
- Nema statistički značajne razlike u preživljenju bolesnika i progresiji bolesti s obzirom na gubitak CD2 i CD5.
- Nema statistički značajne razlike u preživljenju bolesnika s obzirom na gubitak CD7. U bolesnika koji su imali gubitak CD7 došlo je do brže progresije bolesti u odnosu na one bolesnike bez gubitka CD7.
- Početni stadij bolesti IIA, prisutnost plakova u početnoj kliničkoj slici, proširenost kožnih lezija >10%, povećani limfni čvorovi, progresija bolesti, bolest bez odgovora na terapiju, gust lihenoidni dermalni infiltrat i >30 limfocita „čuvara“ na 100 keratinocita povećavaju rizik od smrtnog ishoda u prvih pet godina nakon postavljanja dijagnoze.
- Odgovor na terapiju statistički značajno utječe na progresiju bolesti u prvih 5 godina nakon postavljanja dijagnoze. Bolest bez odgovora na terapiju povećava rizik od progresije bolesti unutar 5 godina od postavljanja dijagnoze dok bolest s potpunim odgovorom na terapiju smanjuje taj rizik.

8. SAŽETAK

Korelacija histoloških i imunohistokemijskih svojstava T-staničnog limfoma kože (*mycosis fungoides*) s kliničkom slikom, stadijem i ishodom bolesti u desetogodišnjem razdoblju

Sandra Jerković Gulin, 2016

Cilj ovog istraživanja bio je odrediti prediktore progresije bolesti i smrtnog ishoda u bolesnika s ranim stadijem *mycosis fungoides* (MF). U ovu retrospektivno-prospektivnu studiju bila su uključena 83 bolesnika kojima je dijagnosticiran rani stadij MF u Klinici za dermatologiju i venerologiju i Klinici za patologiju i citologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb u razdoblju od siječnja 2003. do prosinca 2012. Analizirani su sljedeći parametri: klinička slika, terapijski odgovor, progresija bolesti, lihenoidni dermalni infiltrat limfocita, limfociti „čuvari“, količina atipije limfocita i gubitak površinskih markera T-limfocita CD2, CD3, CD5 i/ili CD7.

Ukupno preživljenje i preživljenje bez progresije bolesti bolesnika s početnim stadijem IIA bilo je lošije, nego onih sa stadijem IB i IA. Bolesnici s plakovima u početnoj kliničkoj slici su također imali lošije preživljenje, nego oni s *patchevima*. Lošije preživljenje i bržu progresiju bolesti su imali bolesnici u kojih je premikotički stadij trajao 48 mjeseci i kraće u odnosu na one u kojih je trajao više od 48 mjeseci. Bolesnici s više od 30 limfocita „čuvara“ na 100 keratinocita imaju lošije preživljenje i bržu progresiju bolesti od onih s 30 i manje limfocita „čuvara“ na 100 keratinocita. Bolesnici s više od 50% atipičnih limfocita imaju bržu progresiju od onih s 50% i manje atipičnih limfocita. Bolesnici koji imaju gubitak CD7 imaju bržu progresiju od onih bez gubitka CD7. Početni stadij bolesti IIA, prisutnost plakova u početnoj kliničkoj slici, proširenost kožnih lezija >10%, povećani limfni čvorovi, progresija bolesti, bolest bez odgovora na terapiju, gust lihenoidni dermalni infiltrat i >30 limfocita „čuvara“ na 100 keratinocita povećavaju rizik od smrtnog ishoda u prvih pet godina nakon postavljanja dijagnoze. Odgovor na terapiju statistički značajno utječe na progresiju bolesti u prvih 5 godina nakon postavljanja dijagnoze. Bolest bez odgovora na terapiju povećava rizik od progresije bolesti unutar 5 godina od postavljanja dijagnoze dok bolest s potpunim odgovorom na terapiju smanjuje taj rizik.

Ovim istraživanjem su otkriveni potencijalni novi prognostički faktori za rani stadij MF. Veće studije su potrebne kako bi potvrdile ove rezultate koji bi mogli pomoći u identificiranju bolesnika s povećanim rizikom za progresiju bolesti i lošijom prognozom.

9. SUMMARY

Correlation of histological and immunohistochemical properties of T-cell skin lymphoma (*mycosis fungoides*) with the clinical picture, stage and patient outcome in ten-year period

Sandra Jerkovic Gulin, 2016

The aim of this study was to identify predictors of disease progression and death in patients with early stage *mycosis fungoides* (MF). Eighty-three patients diagnosed with early-stage MF at the Departments of Dermatovenereology and Pathology, UHC Zagreb between 01/2003 and 12/2012 were included in this retrospective-prospective study. Following parameters were analyzed: clinical picture, response to therapy, disease progression, lichenoid dermal lymphocyte infiltrate, „guardian“ lymphocytes, atypical lymphocytes and loss of surface CD2, CD3, CD5 and/or CD7 markers on T lymphocytes.

Patients with initial stage IIA had inferior overall and progression-free survival than those with initial stage IB and IA. Patients with plaques also had inferior survival than those with patches. Worse overall and progression-free survival was noted in patients with a premycotic stage lasting 48 months or less in comparison to those lasting more than 48 months. The same was seen in patients with more than 30 „guardian“ lymphocytes/100 keratinocytes (compared to those with 30 and less). Patients with more than 50% atypical lymphocytes had a faster progression rate than those with 50% or fewer atypical lymphocytes. Patients with loss of CD7 have faster progression than those without it. Initial disease stage IIA, presence of plaques in the initial clinical presentation, skin lesion encompassing >10% of total body surface, enlarged lymph nodes, disease progression, disease without response to therapy, dense lichenoid dermal infiltrate of lymphocytes and >30 „guardian“ lymphocytes/100 keratinocytes increase the risk for mortality within five years of diagnosis. Response to therapy statistically significantly affects the progression of the disease in the first five years after the diagnosis. Disease unresponsive to therapy increases the risk of progression within five years of diagnosis, while a complete response reduces this risk.

This study identified potential new prognostic factors for early stage MF. Larger studies are needed to confirm these results that could improve our ability to identify patients with increased risk of disease progression and poor prognosis.

10. POPIS LITERATURE

1. Cerroni L. Introduction. U: Cerroni L, ur. Skin Lymphoma: The illustrated Guide. West Sussex: John Wiley & Sons; 2014. str. 1-8.
2. Burg G, Kempf W, Cozzio A, Feit J, Willemze R, S Jaffe E i sur. WHO/EORTC classification of cutaneous lymphomas 2005: histological and molecular aspects. J Cutan Pathol. 2005;32:647–74.
3. Cerroni L. Mycosis fungoides. U: Cerroni L, ur. Skin Lymphoma: The illustrated Guide. West Sussex: John Wiley & Sons; 2014. str. 11–73.
4. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R i sur. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. Blood. 2016;127:2375–90.
5. Willemze R, Jaffe ES, Burg G, Cerroni L, Berti E, Swerdlow SH i sur. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. Blood. 2005;105:3768–85.
6. Cerroni L. Cutaneous NK/T-cell lymphomas. U: Cerroni L, ur. Skin Lymphoma: The illustrated Guide. West Sussex: John Wiley & Sons; 2014. str. 9.
7. Kim YH, Liu HL, Mraz-Gernhard S, Varghese A, Hoppe RT. Long-term outcome of 525 patients with mycosis fungoides and Sezary syndrome: clinical prognostic factors and risk for disease progression. Arch Dermatol. 2003;139:857–66.
8. Zackheim HS, Amin S, Kashani-Sabet M, McMillan A. Prognosis in cutaneous T-cell lymphoma by skin stage: long-term survival in 489 patients. J Am Acad Dermatol. 1999;40:418–25.
9. Fatemi Naeini F, Abtahi-Naeini B, Sadeghiyan H, Nilforoushzadeh MA, Najafian J, Pourazizi M. Mycosis fungoides in Iranian population: an epidemiological and clinicopathological study. J Skin Cancer. 2015;2015:306543.
10. Korgavkar K, Xiong M, Weinstock M. Changing incidence trends of cutaneous T-cell lymphoma. JAMA dermatology. 2013;149:1295–9.
11. Davis TH, Morton CC, Miller-Cassman R, Balk SP, Kadin ME. Hodgkin's disease, lymphomatoid papulosis, and cutaneous T-cell lymphoma derived from a common T-cell clone. N Engl J Med. 1992;326:1115–22.
12. Cerroni L. Cutaneous manifestation of Hodgkin lymphoma. U: Cerroni L, ur. Skin Lymphoma: The illustrated Guide. West Sussex: John Wiley & Sons; 2014. str. 331-337.
13. Ai WZ, Keegan TH, Press DJ, Yang J, Pincus LB, Kim YH i sur. Outcomes after diagnosis of mycosis fungoides and Sézary syndrome before 30 years of age: a

- population-based study. *JAMA dermatology*. 2014;150:709–15.
14. Massone C, Kodama K, Kerl H, Cerroni L. Histopathologic features of early (patch) lesions of mycosis fungoides: a morphologic study on 745 biopsy specimens from 427 patients. *Am J Surg Pathol*. 2005;29:550–60.
 15. Pimpinelli N, Olsen EA, Santucci M, Vonderheid E, Haeffner AC, Stevens S i sur. Defining early mycosis fungoides. *J Am Acad Dermatol*. 2005;53:1053–63.
 16. Cribier BJ. The myth of Pautrier's microabscesses. *J Am Acad Dermatol*. 2003;48:796–7.
 17. Beljaards RC, Meijer CJ, Van der Putte SC, Hollema H, Geerts ML, Bezemer PD i sur. Primary cutaneous T-cell lymphoma: clinicopathological features and prognostic parameters of 35 cases other than mycosis fungoides and CD30-positive large cell lymphoma. *J Pathol*. 1994;172:53–60.
 18. Santucci M, Biggeri A, Feller AC, Massi D, Burg G. Efficacy of histologic criteria for diagnosing early mycosis fungoides: an EORTC cutaneous lymphoma study group investigation. European Organization for Research and Treatment of Cancer. *Am J Surg Pathol*. 2000;24:40–50.
 19. Cerroni L, Rieger E, Hödl S, Kerl H. Clinicopathologic and immunologic features associated with transformation of mycosis fungoides to large-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol*. 1992;16:543–52.
 20. Vergier B, de Muret A, Beylot-Barry M, Vaillant L, Ekouevi D, Chene G i sur. Transformation of mycosis fungoides: clinicopathological and prognostic features of 45 cases. French Study Group of Cutaneous Lymphomas. *Blood*. 2000;95:2212–8.
 21. Diamandidou E, Colome-Grimmer M, Fayad L, Duvic M, Kurzrock R, Rappaport H i sur. Transformation of mycosis fungoides/Sezary syndrome: clinical characteristics and prognosis. *Blood*. 1998;92:1150–9.
 22. Benner MF, Jansen PM, Vermeer MH, Willemze R. Prognostic factors in transformed mycosis fungoides: a retrospective analysis of 100 cases. *Blood*. 2012;119:1643–9.
 23. Howard MS, Smoller BR. Mycosis fungoides: classic disease and variant presentations. *Semin Cutan Med Surg*. 2000;19:91–9.
 24. Wada DA, Law ME, Hsi ED, Dicaudo DJ, Ma L, Lim MS i sur. Specificity of IRF4 translocations for primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma: a multicenter study of 204 skin biopsies. *Mod Pathol*. 2011;24:596–605.
 25. Pham-Ledard A, Prochazkova-Carlotti M, Laharanne E, Vergier B, Jouary T, Beylot-Barry M i sur. IRF4 gene rearrangements define a subgroup of CD30-positive cutaneous

- T-cell lymphoma: a study of 54 cases. *J Invest Dermatol.* 2010;130:816–25.
26. Tosca AD, Varelzidis AG, Economidou J, Stratigos JD. Mycosis fungoides: evaluation of immunohistochemical criteria for the early diagnosis of the disease and differentiation between stages. *J Am Acad Dermatol.* 1986;15:237–45.
 27. Florell SR, Cessna M, Lundell RB, Boucher KM, Bowen GM, Harris RM i sur. Usefulness (or lack thereof) of immunophenotyping in atypical cutaneous T-cell infiltrates. *Am J Clin Pathol.* 2006;125:727–36.
 28. Hodak E, David M, Maron L, Aviram A, Kaganovsky E, Feinmesser M. CD4/CD8 double-negative epidermotropic cutaneous T-cell lymphoma: an immunohistochemical variant of mycosis fungoides. *J Am Acad Dermatol.* 2006;55:276–84.
 29. Kempf W, Kazakov D V, Cipolat C, Kutzner H, Roncador G, Tomasini D. CD4/CD8 double negative mycosis fungoides with PD-1 (CD279) expression--a disease of follicular helper T-cells? *Am J Dermatopathol.* 2012;34:757–61.
 30. Guitart J, Gammon B. The difficulties in defining follicular T helper phenotype in cutaneous lymphomas. *Am J Dermatopathol.* 2013;35:691.
 31. Meyerson HJ, Awadallah A, Pavlidakey P, Cooper K, Honda K, Miedler J. Follicular center helper T-cell (TFH) marker positive mycosis fungoides/Sezary syndrome. *Mod Pathol.* 2013;26:32–43.
 32. Gammon B, Guitart J. Intertriginous mycosis fungoides: a distinct presentation of cutaneous T-cell lymphoma that may be caused by malignant follicular helper T cells. *Arch Dermatol.* 2012;148:1040–4.
 33. Vermeer MH, Geelen FA, Kummer JA, Meijer CJ, Willemze R. Expression of cytotoxic proteins by neoplastic T cells in mycosis fungoides increases with progression from plaque stage to tumor stage disease. *Am J Pathol.* 1999;154:1203–10.
 34. Horst BA, Kasper R, LeBoit PE. CD4+, CD56+ mycosis fungoides: case report and review of the literature. *Am J Dermatopathol.* 2009;31:74–6.
 35. Tiemessen MM, Mitchell TJ, Hendry L, Whittaker SJ, Taams LS, John S. Lack of suppressive CD4+CD25+FOXP3+ T cells in advanced stages of primary cutaneous T-cell lymphoma. *J Invest Dermatol.* 2006;126:2217–23.
 36. Hallermann C, Niermann C, Schulze H-J. Regulatory T-cell phenotype in association with large cell transformation of mycosis fungoides. *Eur J Haematol.* 2007;78:260–3.
 37. Gjerdrum LM, Woetmann A, Odum N, Burton CM, Rossen K, Skovgaard GL i sur. FOXP3+ regulatory T cells in cutaneous T-cell lymphomas: association with disease stage and survival. *Leukemia.* 2007;21:2512–8.

38. Fujimura T, Okuyama R, Ito Y, Aiba S. Profiles of Foxp3⁺ regulatory T cells in eczematous dermatitis, psoriasis vulgaris and mycosis fungoides. *Br J Dermatol*. 2008;158:1256–63.
39. Wada DA, Wilcox RA, Weenig RH, Gibson LE. Paucity of intraepidermal FoxP3-positive T cells in cutaneous T-cell lymphoma in contrast with spongiotic and lichenoid dermatitis. *J Cutan Pathol*. 2010;37:535–41.
40. Massone C, Crisman G, Kerl H, Cerroni L. The prognosis of early mycosis fungoides is not influenced by phenotype and T-cell clonality. *Br J Dermatol*. 2008;159:881–6.
41. Ishida M, Okabe H. Reactive lymphoid follicles with germinal centers in granulomatous mycosis fungoides: a case report with review of the literature. *J Cutan Pathol*. 2013;40:284–5.
42. Schlapbach C, Ochsenbein A, Kaelin U, Hassan AS, Hunger RE, Yawalkar N. High numbers of DC-SIGN⁺ dendritic cells in lesional skin of cutaneous T-cell lymphoma. *J Am Acad Dermatol*. 2010;62:995–1004.
43. Grange F, Avril MF, Esteve E, Joly P, Bosq J, de Murets A i sur. Coexistent cutaneous T-cell lymphoma and B-cell malignancy. French Study Group on Cutaneous Lymphomas. *J Am Acad Dermatol*. 1994;31:724–31.
44. Barzilai A, Trau H, David M, Feinmesser M, Bergman R, Shpiro D i sur. Mycosis fungoides associated with B-cell malignancies. *Br J Dermatol*. 2006;155:379–86.
45. Ferrara G, Chiarelli C, Simonetti S. B-cell lymphofollicular infiltrates in mycosis fungoides. *Tumori*. 2010;96:487–91.
46. Ferrara G, Stefanato CM. Mycosis fungoides with reactive lymphoid follicles may represent an early histopathologic picture of granulomatous slack skin. *J Cutan Pathol*. 2013;40:611–3.
47. Ralfkiaer E, Lange Wantzin G, Mason DY, Stein H, Thomsen K. Characterization of benign cutaneous lymphocytic infiltrates by monoclonal antibodies. *Br J Dermatol*. 1984;111:635–45.
48. Wood GS, Volterra AS, Abel EA, Nickoloff BJ, Adams RM. Allergic contact dermatitis: novel immunohistologic features. *J Invest Dermatol*. 1986;87:688–93.
49. Wood GS, Abel EA, Hoppe RT, Warnke RA. Leu-8 and Leu-9 antigen phenotypes: immunologic criteria for the distinction of mycosis fungoides from cutaneous inflammation. *J Am Acad Dermatol*. 1986;14:1006–13.
50. Ormsby A, Bergfeld WF, Tubbs RR, Hsi ED. Evaluation of a new paraffin-reactive CD7 T-cell deletion marker and a polymerase chain reaction-based T-cell receptor gene

- rearrangement assay: implications for diagnosis of mycosis fungoides in community clinical practice. *J Am Acad Dermatol*. 2001;45:405–13.
51. Payne CM, Grogan TM, Spier CM, Bjore CG, Richter LC, Cromey DW i sur. A multidisciplinary approach to the diagnosis of cutaneous T-cell lymphomas. *Ultrastruct Pathol*. 1992;16:99–125.
 52. Volkenandt M, Soyer HP, Cerroni L, Koch OM, Atzpodien J, Kerl H. Molecular detection of clone-specific DNA in hypopigmented lesions of a patient with early evolving mycosis fungoides. *Br J Dermatol*. 1993;128:423–8.
 53. Delfau-Larue MH, Laroche L, Wechsler J, Lepage E, Lahet C, Asso-Bonnet M i sur. Diagnostic value of dominant T-cell clones in peripheral blood in 363 patients presenting consecutively with a clinical suspicion of cutaneous lymphoma. *Blood*. 2000;96:2987–92.
 54. Kashani-Sabet M, McMillan A, Zackheim HS. A modified staging classification for cutaneous T-cell lymphoma. *J Am Acad Dermatol*. 2001;45:700–6.
 55. Bunn PA, Lamberg SI. Report of the Committee on Staging and Classification of Cutaneous T-Cell Lymphomas. *Cancer Treat Rep*. 1979;63:725–8.
 56. Kuo PH, McClennan BL, Carlson K, Wilson LD, Edelson RL, Heald PW i sur. FDG-PET/CT in the evaluation of cutaneous T-cell lymphoma. *Mol Imaging Biol*. 2008;10:74–81.
 57. Lessin SR, Duvic M, Guitart J, Pandya AG, Strober BE, Olsen EA i sur. Topical chemotherapy in cutaneous T-cell lymphoma: positive results of a randomized, controlled, multicenter trial testing the efficacy and safety of a novel mechlorethamine, 0.02%, gel in mycosis fungoides. *JAMA dermatology*. 2013;149:25–32.
 58. Duvic M, Olsen EA, Omura GA, Maize JC, Vonderheid EC, Elmets CA i sur. A phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled study of peldesine (BCX-34) cream as topical therapy for cutaneous T-cell lymphoma. *J Am Acad Dermatol*. 2001;44:940–7.
 59. Whittaker S, Ortiz P, Dummer R, Ranki A, Hasan B, Meulemans B i sur. Efficacy and safety of bexarotene combined with psoralen-ultraviolet A (PUVA) compared with PUVA treatment alone in stage IB-IIA mycosis fungoides: final results from the EORTC Cutaneous Lymphoma Task Force phase III randomized clinical trial (NCT00056056). *Br J Dermatol*. 2012;167:678–87.
 60. Harrison C, Young J, Navi D, Riaz N, Lingala B, Kim Y i sur. Revisiting low-dose total skin electron beam therapy in mycosis fungoides. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2011;81:651–7.

61. Navi D, Riaz N, Levin YS, Sullivan NC, Kim YH, Hoppe RT. The Stanford University experience with conventional-dose, total skin electron-beam therapy in the treatment of generalized patch or plaque (T2) and tumor (T3) mycosis fungoides. *Arch Dermatol.* 2011;147:561–7.
62. Jones GW, Kacinski BM, Wilson LD, Willemze R, Spittle M, Hohenberg G i sur. Total skin electron radiation in the management of mycosis fungoides: Consensus of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Cutaneous Lymphoma Project Group. *J Am Acad Dermatol.* 2002;47:364–70.
63. Duarte RF, Canals C, Onida F, Gabriel IH, Arranz R, Arcese W i sur. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome: a retrospective analysis of the Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol.* 2010;28:4492–9.
64. Introcaso CE, Leber B, Greene K, Ubriani R, Rook AH, Kim EJ. Stem cell transplantation in advanced cutaneous T-cell lymphoma. *J Am Acad Dermatol.* 2008;58:645–9.
65. Soligo D, Ibatici A, Berti E, Morandi P, Longhi E, Venegoni L i sur. Treatment of advanced mycosis fungoides by allogeneic stem-cell transplantation with a nonmyeloablative regimen. *Bone Marrow Transplant.* 2003;31:663–6.
66. Kim YH, Duvic M, Obitz E, Gniadecki R, Iversen L, Osterborg A i sur. Clinical efficacy of zanolimumab (HuMax-CD4): two phase 2 studies in refractory cutaneous T-cell lymphoma. *Blood.* 2007;109:4655–62.
67. Duvic M, Talpur R, Ni X, Zhang C, Hazarika P, Kelly C i sur. Phase 2 trial of oral vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) for refractory cutaneous T-cell lymphoma (CTCL). *Blood.* 2007;109:31–9.
68. Zinzani PL, Venturini F, Stefoni V, Fina M, Pellegrini C, Derenzini E i sur. Gemcitabine as single agent in pretreated T-cell lymphoma patients: evaluation of the long-term outcome. *Ann Oncol.* 2010;21:860–3.
69. Quereux G, Marques S, Nguyen J-M, Bedane C, D’incan M, Dereure O i sur. Prospective multicenter study of pegylated liposomal doxorubicin treatment in patients with advanced or refractory mycosis fungoides or Sézary syndrome. *Arch Dermatol.* 2008;144:727–33.
70. Enblad G, Hagberg H, Erlanson M, Lundin J, MacDonald AP, Repp R i sur. A pilot study of alemtuzumab (anti-CD52 monoclonal antibody) therapy for patients with relapsed or chemotherapy-refractory peripheral T-cell lymphomas. *Blood.* 2004;103:2920–4.

71. Foss F, Demierre MF, DiVenuti G. A phase-1 trial of bexarotene and denileukin diftitox in patients with relapsed or refractory cutaneous T-cell lymphoma. *Blood*. 2005;106:454–7.
72. Hernandez C, Worobec SM, Gaitonde SS, Kiripolsky ML, Aquino K. Progression of undiagnosed cutaneous T-cell lymphoma during efalizumab therapy. *Arch Dermatol*. 2009;145:92–4.
73. Lafaille P, Bouffard D, Provost N. Exacerbation of undiagnosed mycosis fungoides during treatment with etanercept. *Arch Dermatol*. 2009;145:94–5.
74. Chuang GS, Wasserman DI, Byers HR, Demierre M-F. Hypopigmented T-cell dyscrasia evolving to hypopigmented mycosis fungoides during etanercept therapy. *J Am Acad Dermatol*. 2008;59:121–2.
75. Lourari S, Prey S, Livideanu C, Jamard B, Lamant L, Cantagrel A i sur. Cutaneous T-cell lymphoma following treatment of rheumatoid arthritis with tumour necrosis factor-alpha blocking agents: two cases. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009;23:967–8.
76. Zackheim HS, Amin S, Kashani-Sabet M, McMillan A. Prognosis in cutaneous T-cell lymphoma by skin stage: long-term survival in 489 patients. *J Am Acad Dermatol*. 1999;40:418–25.
77. Quaglino P, Pimpinelli N, Berti E, Calzavara-Pinton P, Alfonso Lombardo G, Rupoli S i sur. Time course, clinical pathways, and long-term hazards risk trends of disease progression in patients with classic mycosis fungoides: a multicenter, retrospective follow-up study from the Italian Group of Cutaneous Lymphomas. *Cancer*. 2012;118:5830–9.
78. de Coninck EC, Kim YH, Varghese A, Hoppe RT. Clinical characteristics and outcome of patients with extracutaneous mycosis fungoides. *J Clin Oncol*. 2001;19:779–84.
79. Benton EC, Crichton S, Talpur R, Agar NS, Fields PA, Wedgeworth E i sur. A cutaneous lymphoma international prognostic index (CLIPi) for mycosis fungoides and Sezary syndrome. *Eur J Cancer*. 2013;49:2859–68.
80. Sanz-Bueno J, Lora D, Monsálvez V, Maroñas-Jiménez L, Postigo C, Rodríguez-Peralto JL i sur. The new Cutaneous Lymphoma International Prognostic index (CLIPi) for early mycosis fungoides failed to identify prognostic groups in a cohort of Spanish patients. *Br J Dermatol*. 2016;175:794–5.
81. Kim YH, Willemze R, Pimpinelli N, Whittaker S, Olsen EA, Ranki A i sur. TNM classification system for primary cutaneous lymphomas other than mycosis fungoides and Sezary syndrome: a proposal of the International Society for Cutaneous Lymphomas

- (ISCL) and the Cutaneous Lymphoma Task Force of the European Organization of Resear. Blood. 2007;110:479–84.
82. van Doorn R, Van Haselen CW, van Voorst Vader PC, Geerts ML, Heule F, de Rie M i sur. Mycosis fungoides: disease evolution and prognosis of 309 Dutch patients. Arch Dermatol. 2000;136:504–10.
 83. Scarisbrick JJ, Kim YH, Whittaker SJ, Wood GS, Vermeer MH, Prince HM i sur. Prognostic factors, prognostic indices and staging in mycosis fungoides and Sézary syndrome: where are we now? Br J Dermatol. 2014;170:1226–36.
 84. Agar NS, Wedgeworth E, Crichton S, Mitchell TJ, Cox M, Ferreira S i sur. Survival outcomes and prognostic factors in mycosis fungoides/Sézary syndrome: validation of the revised International Society for Cutaneous Lymphomas/European Organisation for Research and Treatment of Cancer staging proposal. J Clin Oncol. 2010;28:4730–9.
 85. Martí RM, Estrach T, Reverter JC, Mascaró JM. Prognostic clinicopathologic factors in cutaneous T-cell lymphoma. Arch Dermatol. 1997;127:1511–6.
 86. Nikolaou V, Papadavid E, Patsatsi A, Siakantaris M, Economidi A, Marinos L, i sur. Prognostic indicators for mycosis fungoides in a Greek population. Br J Dermatol. 2017;176:1321–1330.
 87. Tobisawa S, Honma M, Ishida-Yamamoto A, Saijo Y, Iizuka H. Prognostic factors in 105 Japanese cases of mycosis fungoides and Sézary syndrome: clusterin expression as a novel prognostic factor. J Dermatol Sci. 2013;71:160–6.
 88. Talpur R, Singh L, Daulat S, Liu P, Seyfer S, Trynosky T i sur. Long-term outcomes of 1,263 patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome from 1982 to 2009. Clin Cancer Res. 2012;18:5051–60.
 89. Kikuchi A, Naka W, Harada T, Sakuraoka K, Harada R, Nishikawa T. Parapsoriasis en plaques: its potential for progression to malignant lymphoma. J Am Acad Dermatol. 1993;29:419–22.
 90. Ackerman AB. If small plaque (digitate) parapsoriasis is a cutaneous T-cell lymphoma, even an “abortive” one, it must be mycosis fungoides! Arch Dermatol. 1996;132:562–6.
 91. Burg G, Dummer R, Haeffner A, Kempf W, Kadin M. From inflammation to neoplasia: mycosis fungoides evolves from reactive inflammatory conditions (lymphoid infiltrates) transforming into neoplastic plaques and tumors. Arch Dermatol. 2001;137:949–52.
 92. Vonderheid EC, Pavlov I, Delgado JC, Martins TB, Telang GH, Hess AD i sur. Prognostic factors and risk stratification in early mycosis fungoides. Leuk Lymphoma. 2014;55:44–50.

93. Grange F, Bagot M. Prognosis of primary cutaneous lymphomas. *Ann dermatologie vénéréologie*. 2002;129:30–40.

11. BIOGRAFIJA

Sandra Jerković Gulin rođena je 29. kolovoza 1986. godine u Zagrebu. Udana je i majka dvoje djece, sedmogodišnje Aurore i četverogodišnjeg Marka Rafaela. Osnovnu školu je pohađala u Ivanić Gradu, a dvojezični hrvatsko-engleski gimnazijski program u XVI. gimnaziji u Zagrebu. Akademske godine 2005./2006. godine upisala je Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu i diplomirala 2011. godine s prosječnom ocjenom 4.9. Za vrijeme studija dobila je Dekanovu nagradu 2007. godine za najbolju studenticu druge godine medicine te Top stipendiju 2011. godine kao jedna od četrdeset najboljih studenata Republike Hrvatske.

Liječnički staž odradila je 2011./2012. godine u Općoj bolnici Šibenik. Specijalizaciju iz dermatologije i venerologije započela je 2013. godine kada je upisala i doktorski studij. U razdoblju od 2013. do 2018. godine dobitnica je brojnih stipendija i nagrada uključujući stipendiju za Internacionalnu ljetnu školu praktične dermatologije u Munchenu 2013. godine, stipendiju i nagradu za izvrsnost u znanju iz dermatologije Otvorenog medicinskog instituta u Salzburgu 2015. godine, jednomjesečni program razmjene u Klinici za dermatologiju i venerologiju u Općoj bolnici grada Beča i Medicinskom sveučilišnom kampusu u Beču 2018. godine, nagradu Europskog alergološkog i imunološkog društva za program mentorstva i razmjene u Rumunjskoj, jednogodišnji program razmjene Europskog dermato-onkološkog društva u Klinici za dermatovenerologiju i Institutu za melanom Sveučilišne bolnice u Barceloni 2018. godine, te brojne druge stipendije.

Autorica je i koautorica sedamnaest znanstvenih radova od kojih je šest indeksirano u *Current Contents*-u, dok su ostali indeksirani u drugim međunarodnim indeksim publikacijama (*Science Citation Index, Index medicus...*). Također je autorica i koautorica više od dvadeset priopćenja na domaćim i međunarodnim znanstvenim skupovima. Član je nekoliko domaćih i internacionalnih znanstvenih i liječničkih društava.